

**Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ - Скопје**  
**Медицински факултет**



**Даниела Ристиќ**

**КОРЕЛАЦИЈА МЕЃУ ПЛАЗМА-КОНЦЕНТРАЦИЈЕ НА  
ТУМОР-НЕКРОТИЧНИОТ ФАКТОР АЛФА И СТЕПЕНОТ НА  
ОШТЕТУВАЊЕ НА ПЕРИФЕРНИТЕ НЕРВИ КАЈ ДИЈАБЕТЕС  
МЕЛИТУС ТИП 2**

**Докторска дисертација**

**Скопје, 2018 година**

**Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ - Скопје**

**Медицински факултет**



**Даниела Ристик**

**КОРЕЛАЦИЈА МЕЃУ ПЛАЗМА-КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА  
ТУМОР-НЕКРОТИЧНИОТ ФАКТОР АЛФА И СТЕПЕНОТ НА  
ОШТЕТУВАЊЕ НА ПЕРИФЕРНИТЕ НЕРВИ КАЈ ДИЈАБЕТЕС  
МЕЛИТУС ТИП 2**

**Докторска дисертација**

**Ментор**

**Проф. д-р Марија Папазова**

**Скопје, 2018 година**

**Ментор:** Проф. д-р Марија Папазова, Институт за Анатомија, Медицински факултет, Скопје

***Комисија за рецензија:***

***Проф. д-р Анита Арсовска, претседател***

Универзитетска Клиника за Неврологија, редовен професор на Катедрата по неврологија, Медицински факултет, Скопје

***Проф. д-р Марија Папазова, ментор***

Институт за Анатомија, редовен професор на Катедрата по анатомија, Медицински факултет, Скопје

***Проф. д-р Наталија Долнец-Банева, член***

Универзитетска Клиника за Неврологија, редовен професор на Катедрата по неврологија, Медицински факултет, Скопје

***Проф. д-р Јулија Живадиновиќ-Богдановска, член***

Институт за Анатомија, редовен професор на Катедрата по анатомија, Медицински факултет, Скопје

***Проф. д-р Лилјана Илиевска, член***

Редовен професор на Факултетот за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, Штип

### **Благодарност:**

- до мојот ментор, *проф. д-р Марија Папазова*, за несебичната ангажираност, посветеност и стручност, која секогаш отворено, систематично и добронамерно ме водеше низ процесот на создавање на докторската теза;
- до *науч. сор. д-р Аце Додевски*, кој со своите совети, пријателска наклонетост и безрезервна соработка ми помагаше во целиот процес на изработка на тезата и учествуваше во финалниот изглед на оваа докторска дисертација;
- до останатите членови на Комисијата за рецензија: *проф. д-р Анита Арсовска*, *проф. д-р Наталија Долненец-Банева*, *проф. д-р Јулија Живадиновиќ-Богдановска* и *проф. д-р Лилјана Илиевска*, кои со својот стручен и професионален пристап дадоа огромна поддршка во изготвувањето на трудот;
- до Деканот на Природно-математичкиот факултет-Скопје, *проф. д-р Ицко Ѓорѓоски*, за исклучителната соработка, мотивираност и прецизност при реализација на проектот ;
- до моите колеги и соработници од одделот за неврологија, ендокринологија, трансфузиологија и биохемиска лабораторија при Градската општа болница „8<sup>ми</sup> Септември“ , кои дадоа придонес за собирање, обработка и соодветно чување на материјалот кој беше користен за изработка на докторската дисертација;
- до сите пријатели, пациенти и добри луѓе кои со својата добронамерност беа дополнителен стимулус за достигнување на целта.

Мал е бројот на луѓето кои успеваат да ја запознаат суштината на животот и да го достигнат совршенството- но затоа вреди да се живее и трага. Причината поради која се посветив на изучувањето и истражувањето на неврологијата беа двајца луѓе-мојот татко Трајче и едно храбро момче Александар С.

Мислев, верував и знаев дека можам да докторирам. Вербата ми беше поголема од мојот страв, а патот до успехот секогаш ќе ми биде во изградба.

Благодарение на Бога, упорноста на мојот сопруг, помошта на мојата мајка, безусловната љубов на мојата ќерка и мајчинското чувство за плодот кој го носам во мојата утроба ми дадоа ветар во грб.

***Затоа мојот докторат го посветувам на моето семејство  
Венко, Јана и Гордана.***

## **СОДРЖИНА**

### **ЛИСТА НА КРАТЕНКИ**

<b>ИЗВАДОК.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>1. ВОВЕД.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1 Дефиниција и класификација на дијабетес мелитус.....</b>	<b>5</b>
<b>1. 2 Епидемиолошки податоци.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3 Историски податоци .....</b>	<b>7</b>
<b>1.4 Дефиниција за дијабетична периферна невропатија.....</b>	<b>10</b>
<b>1. 5 Класификација на дијабетична периферна невропатија.....</b>	<b>11</b>
<b>1.6 Анатомија на периферниот нервен систем.....</b>	<b>13</b>
<b>1.7 Патофизиолошки карактеристики на оштетување на периферните нерви.....</b>	<b>18</b>
<b>1.8 Клиничка презентација и форми на дијабетична периферна невропатија.....</b>	<b>19</b>
<b>1.8.1 Хронична сензомоторна дијабетична невропатија.....</b>	<b>19</b>
<b>1.8.2 Дијабетична автономна невропатија.....</b>	<b>20</b>
<b>А) Кардиоваскуларна автономна невропатија (кардијална дизавтономија).....</b>	<b>20</b>
<b>Б) Гастроинтестинална автономна невропатија.....</b>	<b>21</b>
<b>В) Генитоуринарна автономна невропатија.....</b>	<b>22</b>
<b>Г) Садомоторна дијабетична автономна невропатија.....</b>	<b>23</b>
<b>Д) Вазомоторна дијабетична невропатија.....</b>	<b>23</b>
<b>Ѓ) Пупиларна дисфункција.....</b>	<b>23</b>

1.8.3 Акутни дијабетични невропатии.....	23
А) Акутна болна невропатија.....	24
Б) Дијабетична невропатска кахексија.....	24
В) Дијабетична лумбосакрална радикулоплексопатија.....	24
1.8.4 Хронична инфламаторна демиелинизирачка полирадикулоневропатија (CIDP).....	24
1.8.5 Кранијални мононевропатии.....	25
1.8.6 Трункална радикулопатија.....	25
1.8.7 Компресивните невропатии.....	25
1.9 Механизми на оштетување на периферните нерви кај дијабетес мелитус.....	26
А) Метаболна дисрегулација–активирање на алтернативни метаболни патишта.....	26
Б) Ковалентна модификација.....	28
В) Оксидативен стрес и улога на реактивните кислородни радикали.....	29
Г) Дефицит на фактори на раст.....	31
Д) Инфламација.....	31
1. Улога на проинфламаторните цитокини во патогенеза на дијабетичната периферна невропатија.....	31
2. Улога на TNF- $\alpha$ во периферни механизми на невропатската болка.....	34
3. Улога на TNF- $\alpha$ во инсулинска резистенција.....	35
4. Улога на TNF- $\alpha$ во настанување на хронични компликации кај дијабетес мелитус.....	36

5. Полиморфизам на промоторен ген за TNF- $\alpha$ и дијабетична периферна невропатија.....	36
2. МОТИВ ЗА ИЗРАБОТКА НА СТУДИЈАТА.....	38
3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО.....	39
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ.....	40
4.1 Материјал .....	40
4.2 Методи.....	41
4.2.1 Клинички преглед.....	41
4.2.2 Невролошки преглед.....	42
4.2.3 Скала на симптоми на дијабетична невропатија.....	42
4.2.4 Електромионеврографија (опис на методот).....	42
4.2.5 Одредување на концентрација на TNF- $\alpha$ во крвна плазма.....	47
4.3 СТАТИСТИЧКИ МЕТОДИ.....	48
5. РЕЗУЛТАТИ.....	49
5.1 Дистрибуција на испитаниците според пол.....	49
5.2 Дистрибуција на испитаниците според возраст .....	50
5.3 Дистрибуција на испитаниците според вредности на TNF- $\alpha$ .....	51
5.4 Дистрибуција на испитаниците според пол во зависност од постигнатите бодови на DNS скалата.....	52
5.5 Дистрибуција на испитаниците според клиничката презентација на дијабетичната периферна невропатија во зависност од DNS скорот.....	53
5.6 Дистрибуција на испитаниците според типот на лезија во зависност од DNS скорот.....	55



5.7 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на TNF- $\alpha$ во зависност на DNS скорот.....	56
5.8 Дистрибуција на испитаниците според просечното времетраење на дијабетес мелитус во зависност од DNS скорот.....	57
5.9 Дистрибуција на испитаниците според просечната возраст во зависност од DNS скорот кај испитуваната група.....	58
5.10 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на моторната брзина на спроведување на n.medianus во зависност од DNS скорот.....	59
5.11 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на моторната брзина на спроведување на n.ulnaris во зависност од DNS скорот.....	60
5.12 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на моторната брзина на спроведување на n.peroneus profundus во зависност од DNS скорот.....	61
5.13 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на сензорната брзина на спроведување на n.medianus во зависност од DNS скорот.....	62
5.14 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на сензорната брзина на спроведување на n.ulnaris во зависност од DNS скорот.....	63
5.15 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на сензорната брзина на спроведување на n.suralis во зависност од DNS скорот.....	64
5.16 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на TNF- $\alpha$ во зависност од полот.....	65

5.17 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на TNF- $\alpha$ во зависност од типот на дијабетична периферна невропатија.....	66
5.18 Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на TNF- $\alpha$ во зависност од типот на неврогена лезија.....	67
5.19 Линеарна поврзаност на вредностите на TNF- $\alpha$ со брзините на спроведување на испитаните нерви.....	68
<b>6. ДИСКУСИЈА.....</b>	<b>69</b>
6.1 Улогата на TNF- $\alpha$ во патогенезата на дијабетичната периферна невропатија.....	69
6.2 Критериуми за процена на тежината на клиничка слика на дијабетичната периферна невропатија.....	81
6.3 Дефиниција и минимални критериуми за типична дијабетична периферна невропатија.....	83
6.4 Скали за бодирање и скрининг на дијабетична периферна невропатија.....	84
6.5 Препораки за скрининг на дијабетична периферна невропатија според Американското здружение за Дијабетес.....	86
6.6 Сегашни и идни терапевски пристапи во третман на дијабетичната периферна невропатија.....	87
<b>7. ЗАКЛУЧОЦИ.....</b>	<b>90</b>
<b>8. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>92</b>

## ***ЛИСТА НА КРАТЕНКИ***

ADA	Американско здружение за дијабетес
AGEs-	Крајни продукти на напредната гликација
BDNF	Мозочен неуротрофичен фактор
CIDP	Хронична инфламаторна демиелинизирачка полиневропатија
CMAP	Збирни акциони потенцијали на мускулот
CNE	Клиничка невролошка егзаминација
CRP	Ц-реактивен протеин
DNS	Скала на симптоми на дијабетична невропатија
ДПН	Дијабетична периферна невропатија
ДСМПН	Дијабетична сензомоторна периферна невропатија
G6P	Глукоза 6 фосфат
G6PD	Глукоза -6 фосфат дехидрогеназа
IL	Интерлеукини
ICAM-1	Интерцелуларен адхезионен молекул-1
IRS-1	Инсулин рецепторен супстрат 1
ЕКГ	Електрокардиограм
ЕМНГ	Електромионеврографија
ЕМГ	Електромиографија
ЕНГ	Електроневрографија
FGF2	Фибробластен фактор на раст
ФЕТ	Фишер Егзакт Тест
КАН	Кардио-васкуларната автономна невропатија
MBS	Моторни брзини на спроведување
MNSI	Michigan neuropathy screening instrument
MSGA- $\alpha$	Стимулатор на раст на меланомот-алфа

NADPH	Nikotinamid-adenin-dinukleotid phosphate
NAP-3	Неутрофилен активирачки протеин 3
NDS	Скалата за онеспособеност кај невропатии
NGF	Нервен фактор на раст
NF- $\kappa$ B	Нуклеарен фактор капа B
NSS	Скала на невропатски симптоми
NSP	Профил на невропатски симптоми
ОГТТ	Орален глюкоза толеранс тест
ПНС	Периферен нервен систем
PAI-1	Инхибитор на плазминоген активатор- 1
p38-MAPK	Mitogen-activated protein kinase
PCR	Полимераза верижна реакција
PAT	Рефлекс на Ахиловата тетива
ROS	Реактивни кислородни радикали
SBS	Сензорни брзини на спроведување
SNAP	Акциони потенцијали на сензитивниот нерв
TCSS	Toronto clinical scoring system
TGF- $\beta$ 1	Трансформирачкиот фактор на раст- $\beta$ 1
TNF- $\alpha$	Тумор некротичен фактор- алфа
TNFR	Тумор некротичен фактор рецептор
VEGF	Васкуларен ендотелијален фактор на раст
VCAM-1	Васкуларен клеточен адхезионен молекула -1
UDPGlcNAc	Уридин дифосфат-N-ацетил глюкозамин

## **ИЗВАДОК**

**Даниела Ристиќ, оддел за неврологија, Градска општа болница „8<sup>ми</sup> Септември“, Скопје**

**Вовед:** Дијабетична периферна невропатија (ДПН) претставува една од најчестите микроваскуларни компликација на дијабетес мелитус. ДПН означува присуство на симптоми и/или знаци на оштетување на периферните нерви кај лица заболени од дијабетес, со исклучување на сите останати причинители за невропатија. Во првите години од дијабетот невропатија се развива кај околу 5-10% од заболените, а после 20 години траење на дијабетесот се смета дека околу 60-70% од заболените развиваат некоја од формите на дијабетична периферна невропатија. Патофизиологијата на ДПН се уште не е во целост разјаснета, со оглед дека дијабетот предизвикува функционален дефицит на азотен моноксид, активирање на алтернативни метаболни патишта, акумулација на крајни продукти на гликација, оксидативен стрес и инфламација преку активирање на про-инфламаторни молекули. Хроничната хипергликемија доведува до зголемена секреција на тумор некротичен фактор –алфа (TNF- $\alpha$ ), со последично развивање на микро и макроангиопатија, оштетување на нервните влакна и локалната демиелинизација.

**Цели на истражувањето:** Основната цел на истражувањето е да се утврди поврзаноста на TNF- $\alpha$  со степенот и тежината на неврогена лезија кај дијабетична периферна невропатија.

**Материјал и методи:** Во студијата беа вклучени вкупно 80 испитаници, мажи и жени, поделени во две групи: испитувана група (n=50) составена од испитаници со симптоматологија на ДПН, на возраст од 30 до 80 години и контролна група (n=30) составена од здрави испитаници, на возраст од 18 до 45 години. Кај испитаниците од испитуваната група беа направени клинички и невролошки преглед, а тежината на клиничката слика и степенот на оштетување на периферните нерви се проценети со употреба на Скала на симптоми за дијабетична невропатија (DNS скала) и електрофизиолошки иследувања-електроневрографија и електромиографија.

Кај сите испитаници во истражувачката студија (n=80) беа земени примероци крв за одредување на концентрацијата на TNF- $\alpha$  со помош на ELISA методата.

**Резултати:** Средната вредност на TNF- $\alpha$  од примерокот крвна плазма кај испитуваната група (n=50) изнесуваше  $8,24 \pm 2,899$  pg/ml, додека кај контролната група (n=30) изнесуваше  $4,36 \pm 2,622$  pg/ml ( $p < 0,0001$ ). Врз основа на клиничката презентација кај испитуваната група (n=50) беа регистрирани четири форми на ДПН и тоа: 29 испитаници (58%) имаа сензомоторна периферна невропатија, сензорна невропатија имаа 11 испитаници (22%), сензо-моторна и автономна невропатија манифестираа 6 испитаници (12%), додека 4 испитаници (8%) имаа кранијален невритис. Во однос на поврзаноста на DNS скорот со типот на ДПН беше најдена статички сигнификантна разлика на ниво  $p = 0.0244$ . Средната вредност на TNF- $\alpha$  беше во корелација со постигнатите бодови на DNS скалата кај испитуваната група ( $p = 0.005$ ). Што се однесува до линеарната поврзаност на концентрацијата на TNF- $\alpha$  со брзините на спроведување на периферните нерви кај испитуваната група, не беше детектирана статистичка значајност на Пирсоновиот корелациски коефициент  $r$  кај ниту една од моторните и сензорните брзини на спроведување.

**Заклучок:** Кај испитаниците со ДПН беа детектирани повисоки концентрации на TNF- $\alpha$  во однос на здравите испитаници. Клиничкиот тип на ДПН влијаеше врз концентрациите на TNF- $\alpha$  во примерок крвна плазма, особено кај испитаниците со афекција на автономниот нервен систем и кранијалните нерви. Овие испитаници имаа и повисоки вредности на DNS скорот. DNS скорот, а со тоа и клиничката слика не зависат од средните вредности на моторните и сензорните брзини на спроведување на периферните нерви, ниту од типот на неврогена лезија. Исто така не беше најдена поврзаност на DNS скорот со просечното време на траење на дијабетес мелитус, ниту со полот и возраста на испитаниците.

**Клучни зборови:** дијабетична периферна невропатија, тумор некротичен фактор –алфа, ДНС скор.

## **ABSTRACT**

**Daniela Ristikj, Department of neurology, General city hospital „8<sup>th</sup> September“, Skopje**

**Introduction:** Diabetic peripheral neuropathy (DPN) is one of the most common microvascular complications of diabetes mellitus. DPN denotes that presences of people with diabetes have symptoms and / or signs of peripheral nerve damage, excluding all other causes of neuropathy. In the first years of diabetes, neuropathies develops about 5-10% of the patients, and after 20 years the duration of diabetes is thought to be about 60-70% of the patients develop some of the forms of diabetic peripheral neuropathy.

The pathophysiology of DPN has not been fully clarified yet, since diabetes causes a functional deficiency of nitric monoxide, the activation of alternative metabolic pathways, the accumulation of end products of glycation, oxidative stress, and inflammation by activating pro-inflammatory molecules. Chronic hyperglycaemia leads to increased secretion of tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), with consequent development of micro and macroangiopathy, damage of nerve fibers and local demyelination.

**Research goals:** The main goal of the study is to determine the connection of TNF- $\alpha$  with the degree and severity of a neurogenic lesion in diabetic peripheral neuropathy.

**Material and Methods:** In the study, the total number of 80 examinees, men and women, were divided into two groups: an examined group (n = 50) consisting of subjects with symptomatology of DPN, between the ages from 30 to 80 and a control group (n = 30 ) of healthy subjects, aged from 18 to 45 years. It was performed a clinical and neurological examination for the examinees from the investigated group, and the severity of the clinical picture and the degree of damage to the peripheral nerves were assessed using the Diabetic neuropathy symptom score (DNS scale) and electrophysiological investigations-electroneurography and electromyography.

From all subjects in the study (n = 80) blood samples were taken to determine the concentration of TNF- $\alpha$  by the ELISA method.

**Results:** The average value of the TNF- $\alpha$  blood plasma sample of the test group (n = 50) was  $8.24 \pm 2.899$  pg / ml, while the control group (n = 30) was  $4.36 \pm 2.622$  pg /ml  $<0.0001$ ). Based on the clinical presentation in the investigated group (n = 50), four forms of DPN were registered: 29 examinees (58%) had sensorimotor peripheral neuropathy, sensory neuropathy had 11 examinees (22%), sensorimotor and autonomic neuropathy manifested 6 subjects (12%), while 4 subjects (8%) had cranial neuritis. Regarding the DNS connection, the score with the type of DPN found a statically significant difference at the level  $p = 0.0244$ . Regarding the DNS connection, the score with the type of DPN found a statically significant difference at the level  $p = 0.0244$ . Regarding the linear association of the concentration of TNF- $\alpha$  with the peripheral nerve conduction velocity in the investigated group, no statistical significance of the Pearson correlation coefficient  $r$  was detected in any of the motor and sensory nerves conduction velocity.

**Conclusion:** Higher concentrations of TNF- $\alpha$  were detected in patients with DPN compared to healthy subjects. The clinical type of DPN influenced the concentrations of TNF- $\alpha$  in a sample of blood plasma, especially in the subjects with autonomic nervous system and cranial nerve involvement. These respondents also had higher DNS score values. DNS score, and thus the clinical picture does not depend on the average values of the motor and sensory velocities of peripheral nerve conduction, nor of the type of neurogenic lesion. Also, no DNS score was found with the average duration of diabetes mellitus, nor with the sex and age of the examinees.

**Key words:** diabetic peripheral neuropathy, tumor necrosis factor-alpha, DNS score.



## **1. ВОВЕД**

### ***1.1. Дефиниција и класификација на Diabetes mellitus***

Шеќерната болест - Diabetes mellitus претставува хронично метаболно заболување чија главна карактеристика е состојба на хронична хипергликемија. Според Американското здружение за дијабетес (American Diabetes Association-ADA) постојат 4 категории на дијабетес мелитус :

- *Тип 1 дијабетес* кој се должи на автоимуна деструкција на бета (b) клетките на панкреасот со последична состојба на абсолютен дефицит на Инсулинот. Се јавува кај деца, адолесценти и млади луѓе, а симптомите се развиваат многу брзо.

- *Тип 2 дијабетесот* е најчестата форма на дијабетес мелитус, во чија патогенеза лежи прогресивниот губиток на секретирачките панкреатични бета клетки. Хипергликемијата се должи на инсулинска резистенција, несоодветна инсулинска секреција и прекумерна или несоодветна секреција на глукагон.

- *Гестациски дијабетес* е форма на дијабетес дијагностициран во вториот или третиот триместар од бременоста.

- *Специфични типови на дијабетес* кои се должат на други причини како што се Моногенски дијабетичен синдром-неонатален дијабетес и дијабетес на почеток на зрелост кај младите (maturity-onset diabetes of the young [MODY]), болести на егзокриниот панкреас (како што е цистичната фиброза), дијабетес индуциран од лекови или хемиски агенси (употреба на кортикостероиди, третман на HIV/сида или после трансплантација на органи) [1].

Во Октомври 2015 година бил одржан истражувачки Симпозиум кој се однесувал на патофизиологијата, текот и прогнозата на дијабетес мелитус, а во организација на Американското здружение за дијабетес, Американското здружение на клинички ендокринолози и Европското здружение за студии за дијабетес.

Целта на симпозиумот била разјаснување на улогата на генетските фактори и факторите на околината во патогенезата на тип 1 и тип 2 дијабетес, со осврт на ризикот и прогресијата на болеста и изнаоѓање на индивидуална терапевска стратегија [2].

Она што било донесено како експертски заклучок е дека и во двата случаи, односно и кај тип 1 и кај тип 2 дијабетес, различни генетски фактори и фактори на околината придонесуваат до прогресивна загуба на масата и/или функцијата на бета клетките од панкреасот, која клинички се манифестира со хронична хипергликемија. Со самото јавување на хипергликемијата кај сите типови на дијабетес можат да се развијат компликации со различна стапка на прогресија.

Врз основа на студиите изведени на пациенти со тип 1 дијабетес било најдено присуство на две или повеќе авто-противтела кај роднини од прва линија на сродство, што претставува предиктор за хипергликемија и дијабетес. Стапката на прогресија на болеста зависела од возраста на испитаниците кога биле детектирани авто-противтелата, но и од бројот, титарот и специфичноста на истите. Начинот на загуба и деструкција на бета клетките од панкреасот е помалку разјаснет кај тип 2 дијабетес, но се чини дека недоволната секреција на инсулин (односно релативниот инсулински дефицит) се должи на инсулинска резистенција [1, 2].

### ***1.2 .Епидемиолошки податоци***

Според Центарот за контрола и превенција на болести на САД во 2011 година биле регистрирани еден милион лица заболени од тип 1 дијабетес, повеќето од нив биле деца до десет годишна возраст. Во просек едно на секои 400-600 деца и адолесценти заболува од тип 1 дијабетес, додека меѓу адултите оваа форма на дијабетес е застапена во 5% [3].

Во Европа, Блискиот Исток и Австралија, стапката на тип 1 дијабетес се зголемува за 2-5% годишно.

Највисока стапка на заболени има во Скандинавските земји, каде околу 20% од сите заболени имаат дијагностициран тип 1 дијабетес [4].

Извештајот на Центарот за контрола и превенција на болести на САД во 2017 година, говори дека во 2015 година во САД кај 30,3 милиони лица (односно 9,4% од вкупното население) бил дијагностициран тип 2 дијабетес. Уште поголема е бројката на лица со предијабетес, која изнесувала 84,1 милион адулти (односно 33,9% од адултната популација) [5, 6].

Бројот на заболени од тип 2 дијабетес е помал во останатите делови од светот во однос на САД, меѓутоа истиот е застапен во средини каде се негува западниот стил на живеење.

На глобално ниво, во 2011 година, 366 милиони лица биле заболени од шеќерна болест, а се смета дека бројот на заболени во 2030 година би достигнал до 552 милиони лица. Што се однесува до морталитетот, во 2011 година биле регистрирани 4,6 милиони смртни случаи како последица на компликации од дијабетесот, бројката на починати лица до 2030 година би достигнала 439 милиони [7]. Земји со најголем број заболени од дијабетес во моментот се Индија, Кина, САД, Индонезија, Јапонија, Пакистан, Русија, Бразил, Италија и Бангладеш.

### ***1.3. Историски податоци***

Првиот опис за дијабетесот датира од античкиот период и истиот е хиероглифски запис на папирус пронајден во античка гробница во Теба, именувана според Египтологот Еберс. Точното време на записот не е познато, но се смета дека датира околу 1550 п.н.е. Во овој хиероглифски запис била опишана состојба на полиурија, која наликувала на дијабетес, а за чие лекување се користеле лушпа од коски, пченица, жито, песок, зелено олово и земја [8].

Терминот "дијабетес" прв пат го користел Аретеј од Кападокија во II век од н.е. Тој доаѓа од грчкиот префикс "*дија*" што значи "*да помине низ*" и зборот "*бетес*" што значи и "*цевка вода*" [9].

Античките Грци и Римјаните дијабетесот го опишувале како болест на бубрезите. "Дијабетес е страшна болка, не многу честа меѓу мажите, која се должи на топење на телото и екстремитетите во урината.

Пациентите никогаш не престануваат да создаваат вода и протокот е непрекинат, како што е отворањето на аквадуктите. Животот е краток, непријатен и болен, со жед, пие прекумерно вода и создава непропорционално големото количество на урина. Никој не може да ги спречи да пијат вода. Ако некое време се воздржат од пиење, устата им се суши и нивните тела се сушат; органите изгледаат истрошени, пациентите имаат гадење, немир и жарење и за кратко време згаснуваат" [8].

Во 5-тиот век од н.е. била опишана ретка состојба на полиурија, со урина со сладок вкус. Чен Чуан во Кина го нарекол "хсиао ко пинг" и направил забелешка дека урината на заболените е слатка и привлекува кучиња. Тој препорачал апстиненција од вино, сол и сексуални односи како третман на оваа состојба [8, 10].

Индискиот лекар Сусрута напишал запис во кој навел дека урината на пациентите е како "мадумеха", односно со вкус на мед, леплива на допир и силно привлекува мравки [11]. Неговите препораки за лекување биле живописно опишани со зборовите: "Еден вид на желатиозна супстанција се излачува од страните на планините, кога тие се загреани од сончевите зраци во месеците Jyaisitha и Ашада. Го лекува телото и му овозможува на корисникот да сведочи сто лета на земјата" [12].

Токму Сусрута го дал првиот опис за дијабетична невропатија со следниот запис: „Нивните премониторни симптоми се чувство на горење на дланките и стапалата, телото (кожата) стануваат бескорисни, лигави и тешки, урината е слатка, со лош мирис и бела боја, чувствуваат жед... Компликациите вклучуваат дијареја, запек и несвестица " [13].

Сусрута, исто така, направил мошне важен заклучок дека болеста се јавува на два типа на луѓе: постарите и потешките како и слаби кои не преживеале долго.

Во древен јапонски текст содржан е детален опис на автономна невропатија за "болеста за пиење во вода", која ја претрпел благородникот Фуџивара Не Микинага од Хејан Ера [14].

Во средниот век постојат бројни записи кои се однесуваат на дијабетесот, меѓутоа во ниту еден од нив не биле спомнати и опишани својствата на урината, се до почетокот на 17<sup>от</sup> век кога *Thomas Willis* дал опис на слатките својства на урината. Во 1775 година *Dobson* докажал дека слаткиот вкус на дијабетичната урина зависи од шеќерот, а тоа го докажал со создавањето на кристали од шеќер по испарување на урината [15].

Во текот на 19<sup>от</sup> век се следи поголем осврт на компликациите од дијабетесот. Првиот опис за гангрена предизвикана од дијабетес бил даден од францускиот лекар *Marchal de Calvi* во книгата *Recherches sur les accidents diabetiques et essai d'une theorie generale du diabète le docteur Marchal (de Calvi)* 1864 [16].

Во 1884 година *Bouchardt* забележал дека кај 19 од 66 испитаници кои боледувале од дијабетес имало отсуство на рефлексот на ахилова тетива [17].

*Kraus* (1922 година) реферира за присуство на патолошки рефлекси кај 40% од испитаниците, со губиток на осетот за вибрации на долните екстремитети кај 15 од 45 пациенти [17].

Во 1924 година *Williamson* наоѓа дека 49% од пациентите со дијабетес мелитус имаат послаб до отсутен одговор на мускуло-тетивните рефлекси [17].

Првиот опис за невропатска болка кај лица од дијабетес бил даден од страна на *Woltman* и *Wilder* во 1929 година, со истражување кое покажало дека 10% од лицата со дијабетес имаат парестезии и невралгија [17].

*Gerland H* во 1955 година дава опис за дијабетична амиотрофија, со приказ на 12 случаи на лица со дијабетес мелитус, во чија клиничка презентација доминирале моторни симптоми [18].

Огромен напредок во областа на дијабетологијата и особено во полето на дијабетичната невропатија, како една од клучните микроваскуларни компликации од дијабетесот, со бројни клинички истражувања, се бележи во текот на 20<sup>от</sup> и 21<sup>от</sup> век.

#### **1.4. Дефиниција за дијабетична периферна невропатија**

Дијабетична периферна невропатија (ДПН) претставува една од најчестите периферни невропатии и воедно најчеста и најтешка компликација на дијабетесот. Како што претходно беше наведено, дијабетес мелитус е едно од најчестите хронични заболувања и една од водечките причини за морбидитет и морталитет на глобално ниво. Со порастот на бројот на заболени од дијабетес мелитус расте и бројот на лица кои страдаат од дијабетична периферна невропатија.

Во првите години од дијабетот невропатија се развива кај околу 5-10% од заболените; после 20 години траење на дијабетесот се смета дека околу 60-70% од заболените развиваат некоја од формите на дијабетична периферна невропатија или во просек 50% од целокупната популација на лица заболени од дијабетес мелитус имаат периферна невропатија [19].

Лицата кои боледуваат од дијабетична сензорна периферна невропатија имаат за 25% поголем ризик за развивање на улкус на стапалата и ампутација на екстремитетите. Тригодишното преживување на лицата со дијабетична невропатија е за околу 20% помало во споредба со лицата кои боледуваат од дијабетес мелитус, но немаат периферна невропатија [20].

Од друга страна, кардиоваскуларната автономна невропатија (КАН) која честопати останува непрепознаена, доведува до настанување на срцеви аритмии, тивки миокардни инфаркти и миокардиопатии, а со тоа се зголемува и морталитетот на лицата со дијабетес мелитус.

По дефиниција, дијабетичната невропатија означува присуство на симптоми и/или знаци на оштетување на периферните нерви кај лица заболени од дијабетес, со исклучување на сите останати причинители за невропатија [21]. Дијабетична периферна невропатија претставува доста хетероген ентитет, како по типот на симптоми, невролошкото оштетување, текот на заболувањето така и по пато-хистолошкиот наод и патогенетските механизми за нејзиното настанување.

### **1. 5. Класификација на дијабетичната периферна невропатија**

Постојат повеќе класификации на дијабетична невропатија од кои најприфатени се онаа на Thomas [22] и подоцна на Boulton со соработниците [23]. Према оваа класификација, која се базира на анатомските карактеристики, дијабетичната периферна невропатија се дели на *дифузна* односно *генерализирана* и *фокална* невропатија.

-Групата на дифузни (генерализирани) невропатии ги опфаќа: дистална симетрична сензомоторна полиневропатија, автономна невропатија, симетрична проксимална моторна невропатија на долните екстремитети (амиотрофија).

-Во групата на фокални невропатии спаѓаат: кранијална невропатија, радикулопатии/плексопатии, компресивна (entrapment) невропатија и асиметрична моторна невропатија на долните екстремитети (амиотрофија).

Често користена е адаптираната класификација на Американското здружение за дијабетес, према која дијабетичната невропатија се дели на следните групи:

-*Генерализирани симетрични полиневропатии* каде спаѓаат: акутна сензорна, хронична сензо-моторна и автономна невропатија.

-*Фокални и мултифокални невропатии* каде спаѓаат: кранијална, трункална, фокална екстремитетна невропатија, проксимална моторна невропатија (дијабетична амиотрофија) и ко-егзистирачка хронична инфламаторна демиелинизирачка полиневропатија (CIDP).

Према препораките на Американското Здружение за дијабетес кај пациенти со дијабетес мелитус, особено оние кои користат Метформин или инхибитори на протонска пумпа, мора да се исклучи невропатија поради дефицит на витамин Б12; Хронична инфламаторна демиелинизирачка полиневропатија и моноклонална гамапатија.

Класификацијата на Торонто Експертскиот панел разликува две основни подгрупи на дијабетична невропатија.

- *Типична дијабетична периферна невропатија* –дефинирана како хронична, симетрична, зависна од должина сензомоторна полиневропатија, со оглед дека првично во патолошкиот процес се афектирани дисталните сегменти од долгите периферни нерви.

Типичните форми на дијабетична периферна невропатија главно се развиваат после долг период на хипергликемија, со консекутивни метаболни и васкуларни нарушувања. Истите се хронични, дистални, симетрични, доминантно сензорни и во голем број од случаите болни невропатии. Овие форми често се асоцирани со другите микроваскуларни компликации, како што се дијабетична ретинопатија или нефропатија со исклучување на сите останати причини за истите.

- *Атипична дијабетична периферна невропатија* - форма која може да се развие во било кој стадиум на дијабетесот. Почетокот на симптомите може да биде акутен, субакутен или хроничен, со инволвирање на проксималните мускулни групи и дизавтономија. Текот на болеста е монофазен или флукутирачки, со тенденција за зафаќање на малите сензорни или автономни нервни влакна, а се смета дека во основа на патогенезата лежат имунолошките механизми [24, 25].

<b>Дефиниција и минимални критериуми за ДСМПН</b>	<b>Клиничка презентација</b>
<b>Можна</b>	Намален сензибилитет, позитивни сензорни невропатски симптоми(во дистални делови на долни екстремитети), симетрична редукција на сензибилитетот, ослабен/отсутен РАТ
<b>веројатна</b>	Присуство на два или повеќе симптоми или знаци: невропатски симптоми, дистална хипестезија, ослабен/отсутен РАТ
<b>субклиничка</b>	Намалена спроводливост на испитуваните нерви без присуство на симптоми и знаци за невропатија
<b>потврдена</b>	Намалена спроводливост на испитуваните нерви со присуство на симптоми и знаци за невропатија.

**Табела 1.** Торонто класификација на дијабетична сензомоторна периферна невропатија (ДСМПН ); Рефлекс на Ахилова тетива-РАТ.



### **1.6. Анатомија на периферниот нервен систем**

За да можеме да ги разјасниме патогенетските механизми, пато-анатомските промени и клиничката презентација на дијабетичната периферна невропатија, најпрво треба да се осврнеме на анатомијата на периферниот и автономниот нервен систем.

*Периферниот нервен систем (ПНС)* го сочинуваат кранијалните нерви, спиналните корени, нервните сплетови (плексуси), индивидуалните периферни нерви и невро-мускулната врска.

Моторната единица ја сочинуваат клетки локализирани во сивата маса од предните рогови на медула спиналис, нивните моторни аксони, мускулните влакна кои тие ги инервираат и невро-мускулната врска.

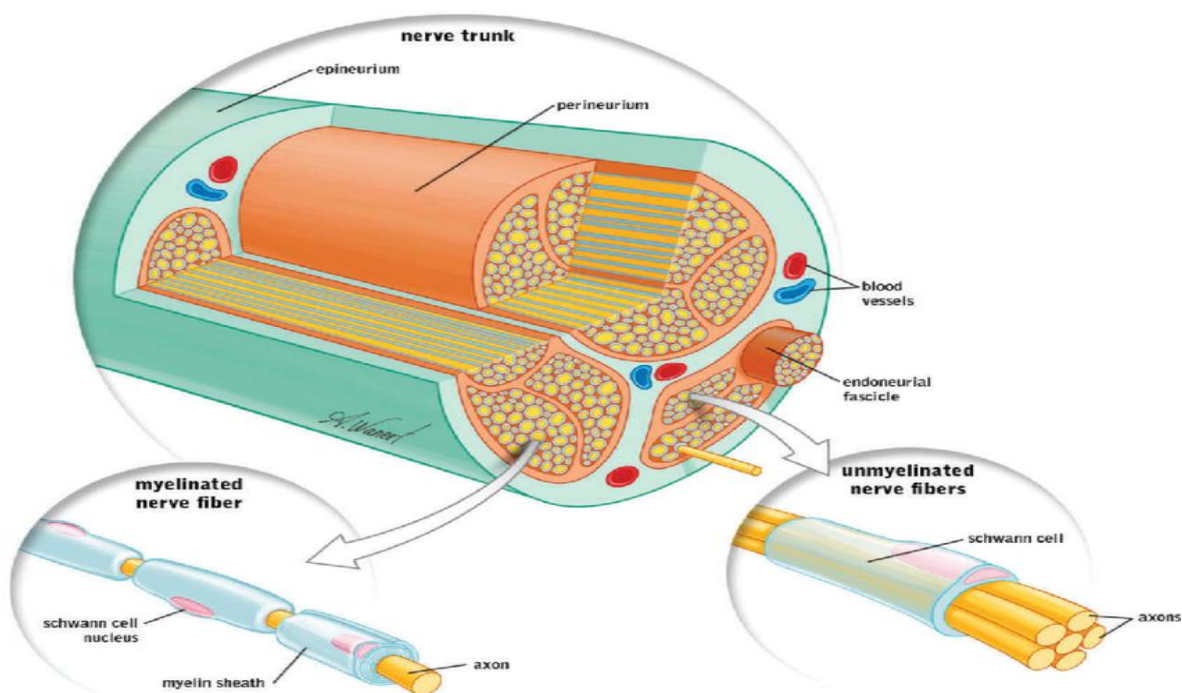
Нервните влакна по напуштање на рбетниот мозок се организираат во вентрални (предни) моторни корени, кои заедно со задните сензитивни корени формираат 31 пар на спинални нерви.

Спиналните нерви го напуштаат рбетниот столб преку меѓупрешленскиот отвор. Гранките на цервикалните и лумбо-сакралните спинални нерви се анастомозираат и формираат нервни сплетови (плексуси), додека интеркосталните нерви се сегментални.

Дисталните сегменти од спиналните нерви (односно сегментите дистално од роговите) претставуваат индивидуални периферни нерви. Тие се составени од снопови на нерви влакна и истите се со дијаметар од 0.3-22  $\mu\text{m}$ . Нервните влакна се разликуваат по својот дијаметар во зависност од тоа дали се миелинизирани (поседуваат миелинска обвивка) или немиелинизирани влакна (без миелинска обвивка). Тоа значи дека во рамки на периферните нерви има моторни, сензорни и вегетативни (автономни) аксони [26].

Периферните нерви имаат повеќе слоеви од сврзно ткиво и тоа: ендонеуриум како слој на сврзно ткиво кој се наоѓа околу секој индивидуален аксон; перинеуриум кој ги обвиткува аксоните формирајќи фасцикли, додека надворешната обвивка или епинеуриум ги поврзува фасциклите во рамки на нервот. Нервното стебло содржи крвни садови (vasa nervorum) и нерви (nervi nervorum).

За разлика од моторните (еферентни) влакна, клеточните тела на сензорниот (аферентен) систем се наоѓаат надвор од медула спиналис, односно се сместени во задните (дорзални) ганглии од задните корени на медула спиналис. Сензорните неврони се состојат од аксон (периферен аксон) кој се протега на периферијата и друг аксон (т.н централен аксон) кој го напушта задниот корен и се протега во централниот нервен систем. Телото на овој неврон се наоѓа во дорзалниот ганглион или во сензорните ганглии на сензорните кранијални нерви. И периферните и централните аксони се врзуваат за невронот во истата точка преку т.н "псевдоуниполарни" неврони.



**Слика 1.** Анатомија на периферниот нерв

Автономниот нервен систем ја има централната улога во одржување на хомеостазата на организмот. Тој ги регулира артерискиот крвен притисок, регионалниот крвоток како одговор на метаболните промени во ткивото, одговорен е за терморегулација, а ги регулира и функциите на гастроинтестиналниот, респираторниот и генито-уринарниот систем.

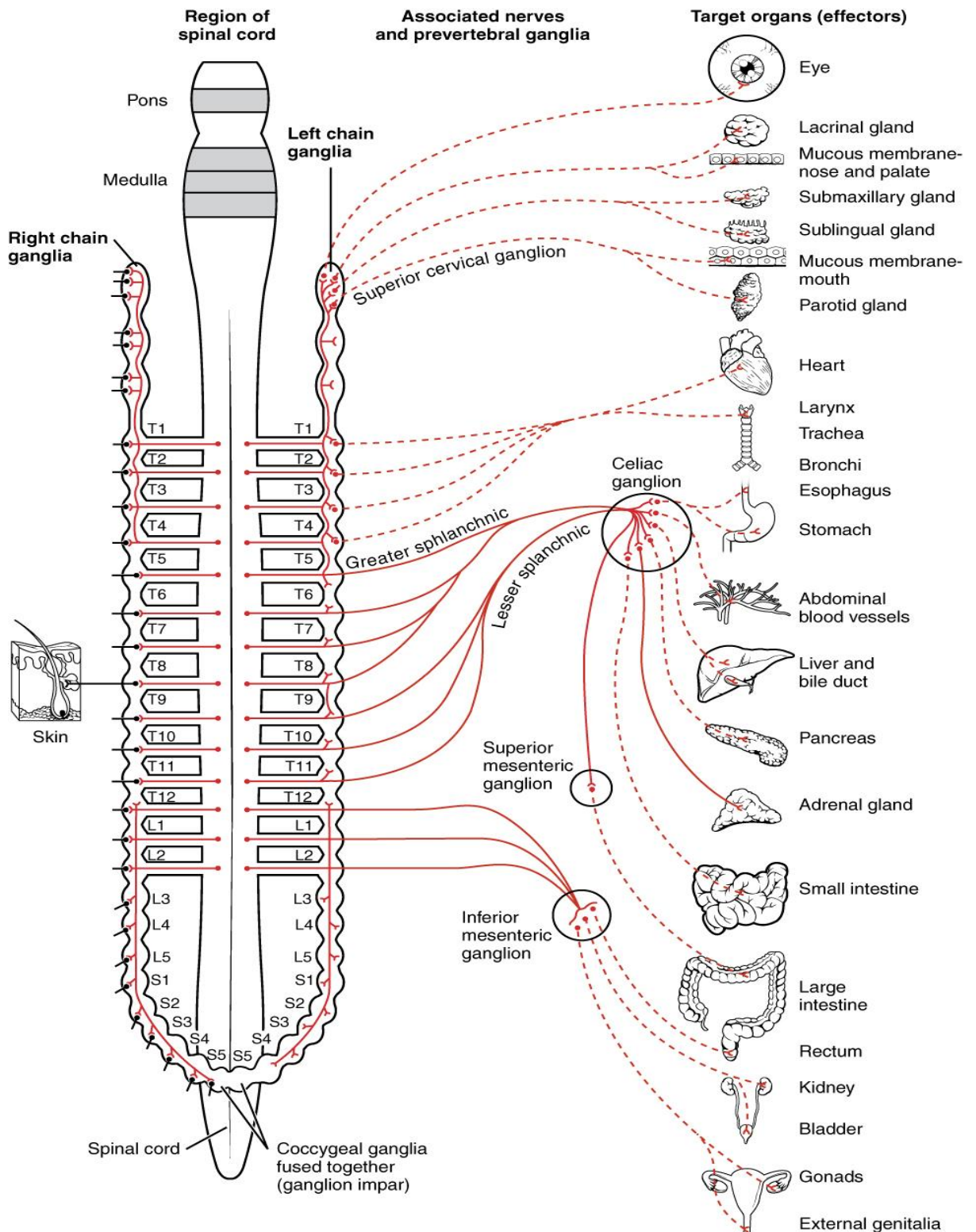
Преганглиските неврони (сместени во мозочното стебло и рбетниот мозок) праќаат мали миелински аксони до периферните автономни ганглии и до ентеричниот нервен систем. Од автономните ганглии излегуваат постганглиски (немиелинизирани) аксони, кои ги инервираат целните органи (срце, мазни мускули, егзокрини жлезди).

Преганглиските симпатички неврони се локализирани во интермедиолатералните јадра на медула спиналис и тоа од првиот торакален (Т1) до вториот лумбален (Л2) сегмент. Примарни релејни станици на преганглискиот инпут се паравертебралните и превертебралните симпатички ганглиони [27].

Преганглиските парасимпатички неврони се локализирани во јадрата на мозочното стебло и вториот и третиот сакрален сегмент од медула спиналис (С2-С3). Кранијални преганглиски парасимпатички јадра се: Westphal-Edinger-ово јадро на n. oculomotorius (n. III), горното саливарно јадро на n. facialis (n. VII), долното саливарно јадро на n. glossopharyngeus (n. IX) и nucleus ambiguus, nucleus tracti solitarii и дорзално моторно јадро на n. vagus (n. X) [28, 29].

Ентеричкиот нервен систем го сочинуваат неколку типови сензорни неврони, интерневрони и моторни неврони. Тие се локализирани во сидот на цревата формирајќи миентеричен и субмукозен сплет (плексус). Овој систем е одговорен за регулација на мотилитетот, секрецијата и крвотокот во тенкото и дебелото црево.

**Корелација меѓу плазма-концентрациите на тумор-некротичниот фактор алфа и степенот на оштетување на периферните нерви кај дијабетес мелитус тип 2**



**Слика 2.** Анатомија на автономен (симпатички) нервен систем

### ***1.7. Патофизиолошки карактеристики на оштетување на периферните нерви***

При оштетување на миелинската обвивка односно демиелинизација, доаѓа до успорување на брзината на спроведување на импулси низ нервите. Процесот на демиелинизација првично ги напаѓа дебелие миелинизирани нерви влакна, што резултира со нарушувања на длабокиот сензибилитет, моторна слабост и ослабени до угаснати мускулнотетивни рефлекси, со минимална мускулна атрофија.

Од друга страна, при лезија на аксоните, првично се погодени помалите влакна во најоддалечените делови од нервот. Со текот на времето аксонската дегенерација напредува кон проксимално, создавајќи карактеристичен дистално-проксимален модел на симптоми (сензорна загуба по типот на чорапи-ракавица) и мускулна слабост.

Централно локализираните фасцикли често се оштетуваат при васкуларни заболувања (како што се васкулити или други причинители на исхемија на нервот), затоа што *vasa nervorum* не успеваат да ги васкуларизираат овие централни структури. Ова резултира со т.н дисфункција на тенки влакна (*small-fiber sensory dysfunction*), која се презентира со сензации на жарење и боцкање, моторна слабост пропорционална на степенот на мускулна атрофија и во помал обем абнормалности на миотатските рефлекси.

Реакцијата на периферните нерви на оштетувањето, а следствено на тоа и физиолошките промени кои се јавуваат, во прв ред зависи од степенот на неврогена лезија. Имено, минорните локални лезии на периферниот нерв резултираат со транзиторен фокален кондуктивен блок. Најчесто истите се должат на фокална исхемија или блага компресија, а електрофизиолошки се регистрира фокален кондуктивен блок. Умерени лезии на периферниот нерв, можат да предизвикаат фокална демиелинизација со подолг период на регенерација. Електрофизиолошки, покрај кондуктивен блок, се регистрира и намалување на брзината на спроведување на засегнатиот периферен нерв.

Лезии од тежок степен на периферниот нерв резултираат со дизрупција на нервното влакно (т.н Wallerian-ова дегенерација), со оштетување не само на миелинската обвивка, туку и на аксонот. Дисталниот дегенериран дел од аксонот претрпува морфолошки промени, кои го одложуваат отпочнувањето на процесот на регенерација од проксималните порции. Електрофизиолошки овие лезии се одликуваат со отсуство на одговор.

После трансекција на нервот, уште во тек на првите 48 часа, се случуваат микроструктурни промени во дисталните сегменти на аксонот. Во овој период, со електрофизиолошките студии се регистрира лесно намалување на амплитудата на акционите потенцијали, со релативно очувана брзина на спроведување низ нервот. Во периодот од 48 до 72 часа од повредата започнува процесот на фрагментирање на аксоните, со формирање на спирални сегменти (при биопсија на нервот овие фрагменти се гледаат како „миелински овоиди“). После 7 дена од трансекцијата настанува целосно губење на органелите во аксонот. Во овој период, со електрофизиолошките испитувања се воочува намалување и/или отсуство на брзините на спроведување низ зафатените нерви.

Процесот на регенерација започнува во дисталните делови на проксималниот сегмент. Во првите 48 часа само некои од колатералите стигнуваат до зоната на повредата. Во наредните денови (од 3-от до 8-от ден) се забележуваат гранчиња во вид на проширување на терминалните аксони т.н „конуси за раст“. Вообичаено, во оптимални услови, поминуваат до 15 денови за растење на аксонот во дисталните партии, а брзината на раст зависи од близина на лезијата до клеточното тело (побрза стапка на раст имаат лезии локализирани близу сомата). Во просек после три седмици (9 до 20 дена) од повредата, настанува ремиелинизација на регенираниот аксон, меѓутоа истата е некомплетна, со пократки интернодални растојанија и задоцнета трансмисија на акционите потенцијали.

## **1.8. Клиничка презентација и форми на дијабетична периферна невропатија**

Во клиничката пракса најчесто дијабетичната невропатија ја делиме на генерализирана и фокална периферна невропатија.

### **Генерализирани дијабетични невропатии**

**1.8.1. Хронична сензомоторна дијабетична невропатија** - претставува типична дистална, симетрична сензомоторна невропатија, која е застапена во околу 80% од сите форми на дијабетична невропатија. Во патогенезата на овој тип невропатија клучна улога играат хроничната хипергликемија, придружниот метаболички дисбаланс, кардиоваскуларните фактори на ризик и микроваскуларните промени, кои се многу слични на оние детектирани кај дијабетична ретинопатија или нефропатија. Кај оваа форма на невропатија можат да бидат зафатени и тенките и дебелиите нервни влакна.

При доминантно зафаќање на тенките влакна се јавува синдромот на тип на оштетување; при засегање на дебелиите нервни влакна поради ледираност на длабокиот сензибилитет се јавува атаксија, а можно е истовремено оштетување на двата типа влакна. Клинички се презентира со испади на сензибилитетот по периферен тип на дистрибуција (т.н. length dependent "stocking glove" distribution), со тоа што вообичаено стапалата се многу почесто и порано афектирани во однос на шаките.

Испадите на сензибилитетот можат да бидат презентирани како позитивни сензитивни симптоми во вид на боцкање, пецкање или жарење или негативни сензитивни симптоми како отрпнатост и намален осет за допир што може да доведе до безболни повреди на стапалата.

Оштетувањето на моторните влакна се случува во подоцните стадиуми на болеста, а можно е и зафаќање на автономниот нервен систем односно автономните влакна, кое клинички се презентира со сува и тенка кожа, трофички промени на ноктите, губиток на влакна во одредени регии, едем на стапала итн.

Поради доминантното оштетување на сензитивните нервни влакна, комбинирано со послаба васкуларизација на истите и побавното зараснување на рани кај овој тип невропатија постои најголем ризик за развивање на улкус на стапалата [30].

**1.8.2. Дијабетична автономна невропатија-** Спаѓа во групата на генерализирани, атипични дијабетични невропатии, каде во патолошкиот процес доминантно се оштетени автономните нервни влакна, во отсуство на сензитивни или моторни испади. Она што е карактеристично за овој тип на невропатија е што во многу случаи останува непрепознаена, што на некој начин го зголемува ризикот од нагла срцева смртност или доведува до функционална онеспособеност поради ортостаза, ерекtilна дисфункција, гастропареза и хипогликемија [30, 31].

**А) Кардиоваскуларна автономна невропатија (кардијална дизаутономија)** претставува нарушување на автономната контрола на кардио-васкуларниот систем. Преваленцата се движи во просек од 2,5-50%, зависно од времетраење на дијабетесот, а истата корелира и со гликемиската контрола, присуството на други микроваскуларни компликации, регулирањето на крвниот притисок, нивото на холестерол и триглицериди во крвта, обезноста и пушењето, како фактори кои го зголемуваат ризикот од настанување на кардијална дизаутономија [30, 32].

Таа се должи на оштетена инервација на срцето како и нарушената централна контрола на срцевата работа и регулација на крвниот притисок, особено преку нарушениот кардијален input и output, контролирани од барорецепторите на каротидните артерии посредувани преку n vagus.



Најчесто клинички се презентира со тахикардија во мир, постурална тахикардија, отсуство на промени на срцева фреквенција при промена на активност, постурална (ортостатска) хипотензија која претставува еден од првите знаци. На електрокардиограм (ЕКГ) кај овие пациенти најчесто се гледа продолжен QT интервал или знаци за исхемично страдање на миокардот, без податок за градна болка- т.н тивки миокардни инфаркти [30].

Лицата со дијабетес мелитус кои имаат необјаснета тахикардија, ортостатска хипотензија или нетолеранција на напор мора да се тестираат за постоење на кардиоваскуларна автономна невропатија.

Најчесто користени тестови со кои се проценува парасимпатичката функција се: одредување на срцева фреквенција како одговор на длабоко дишење, Валсалва маневар и тестирање за ортостатска хипотензија.

Кај лицата со дијабетес мелитус тип 2 тестовите за процена на автономната функција треба да се направат од самиот момент на поставување на дијагнозата, додека кај лицата со тип 1 дијабетес мелитус скринингот за детекција на евентуално постоење на кардиоваскуларна автономна невропатија се прави по пет години од дијагностицирање на дијабетесот.

**Б) Гастроинтестинална автономна невропатија** - Моторната, сензитивната и секреторна функција на гастроинтестиналниот систем се модулирани со интеракција помеѓу автономниот симпатички и парасимпатички систем и ентеричниот нервен систем, посредуван од интерстицијалните клетки на Кајал (Cajal) кои се сместени во мазните мускули. Како резултат на оштетување на автономните влакна се јавуваат бројни нарушувања на гастроинтестиналниот мотилитет [33] и тоа:

- Успорување на езофагеалниот транзит, кое се детектира кај околу 50% од лицата кои боледуваат од дијабетес мелитус и истиот клинички се презентира со регургитација на храна, дисфагија и склоност кон настанување на езофагеални стриктури и ерозии индуцирани од лекови.

- Гастропареза која се јавува кај околу 40% од лицата кои имаат повеќегодишен дијабетес мелитус.

- Постпрандијална хипотензија е чест наод кај лица со дијабетес мелитус.

- Промени во цревната пасажа, кои клинички се презентираат како констипација или дијареа, честопати комплицирана со нарушена интестинална секреција и претеран раст на бактерии во цревата.

- Фекалната инконтиненција е поретка манифестација која се должи на намален тонус на внатрешниот анален сфинктер и нарушена ректална комплијанса и сензација.

***В) Генитоуринарна автономна невропатија*** - настанува како последица на оштетување на постганглиските парасимпатички влакна на карличниот нервен сплет. *Уринарните симптоми* се должат на оштетување на musculus detrusor vesicae, невронална и уротелијална дисфункција. Најчести симптоми кои упатуваат на дисфункција на урорезиката се ургентност и фреквентност во мокрење, ноктурија, нецелосно испразнет мочен меур, подоцна може да се јави уринарна ретенција или уринарна инконтиненција, а зголемен е и ризикот од уринарни инфекции [30].

Најчесто користени тестови за проценка на функцијата на уринарниот систем, а при сомнение за постоење на симптоми на т.н „неврогена везика“ се мерење на пик уринарниот проток и одредување на количина на рест урина. Уродинамските наоди вклучуваат нарушена сензација на мочниот меур, зголемен цистометричен капацитет, намалена контрактилност на musculus detrusor vesicae (понекогаш и необјаснето зголемена контрактилност) и зголемен волумен на рест-урина [34].

*Еректилна дисфункција*- Кај мажите може да се јави и еректилна дисфункција која е застапена кај дури 35-75% од заболените со дијабетес мелитус тип 2. Невропатијата е една од водечките причини за настанување на еректилна дисфункција, но тука се вклучени и други фактори како што се: гликација на еластичните влакна, периферна васкуларопатија, ендотелна дисфункција.

Секако дека не треба да се исклучат и психолошките фактори, лековите и хормонскиот дисбаланс. Еректилната дисфункција е предиктор за кардио-васкуларни збиднувања и исхемично страдање на миокардот кај пациенти со дијабетес мелитус тип 2 [30, 31, 35].

**Г) Садомоторна дијабетична автономна невропатија** Потните жлезди се инервирани од судомоторни, постганглиски, холинергични, немиелинизирани тенки – „тип С“ влакна. Симптоми и знаци кои упатуваат на судомоторна автономна невропатија се хиперхидроза посебно во горните делови на торзото, прекумерно потење во тек на јадење, анхидроза на долни екстремитети со сува тенка кожа, чешање, трофички изменети нокти [30].

**Д) Вазомоторна дијабетична невропатија** се јавува како последица на оштетување на тенките нерви кои ги инервираат крвните садови, што резултира со отсуство на симпатички тонус и прекумерна вазодилатација. Клинички се презентира со хиперемија, периферни едеми особено во подколеници и стапала, а поради непропорционалното зголемување на протокот на крв низ коските од стапалата доаѓа до зголемена коскена деминерализација и настанување на Charcot артропатија [30].

**Ѓ) Пупиларна дисфункција** се јавува како резултат на оштетување на симпатички или парасимпатички влакна кои ја инервираат зеницата. Се презентира со анизокорија, бавна реакција на пупили на светлина или Argyll-Robertsonova зеница со обострано миотични пупули, кои се стеснуваат при гледање на блиски предмети, но не и при изложеност на директна светлина [30].

**1.8.3. Акутни дијабетични невропатии** - се јавуваат акутно или субакутно и често пати остануваат непознаени. За разлика од дисталните симетрични полиневропатии, акутните не се должат на хронична хипергликемија.

**А) Акутна болна невропатија** („третман индуцирана невропатија“) се јавува непосредно по периодот на метаболичка нестабилност, најчесто по нагол пораст, но и нагло корегирање на гликемијата. Болката најчесто ги зафаќа дисталните делови, но може да биде и генерализирана и со голем интензитет, а доста чести се и знаци за автономна дисфункција. Често пати се јавува при воведување на Инсулинска терапија кај дијабетес мелитус тип 1, но и кај дијабетес тип 2. Оваа патолошка состојба е самолимитирачка и вообичаено симптоматологијата се повлекува за неколку месеци [36].

**Б) Дијабетична невропатска кахексија** - клинички се презентира со прогресивен губиток на телесна тежина и генерализирана болка. Често пати се јавува кај лица со дијабетес мелитус тип 2 и истата е самолимитирачка, со спонтано подобрување за неколку месеци.

**В) Дијабетична лумбосакрална радикулоплексопатија** (дијабетична амиотрофија, проксимална дијабетична невропатија) вообичаено се јавува кај постари машки лица заболени од дијабетес [30]. Се карактеризира со нагло јавување на болка, по која набрзо се надоврзува мускулна слабост и хипотрофија на мускулите флексори и аддуктори на надколеница, вообичаено прво на едниот, а по неколку месеци со зафаќање и на другиот долен екстремитет. Не ретко има инволвираност и на горните екстремитети, со полесна клиничка симптоматологија. Се смета дека во основа на овој тип невропатија, која е самолимитирачка и со можност за постепено опоравување, лежат инфламаторни механизми со оштетување на нервните радикаси и плексуси. Истата не зависи од гликемиската контрола, ниту од траењето на дијабетесот.

**1.8.4. Хронична инфламаторна демиелинизирачка полирадикулоневропатија (CIDP)** - кај лица со дијабетес мелитус постои зголемен ризик од развивање на CIDP, иако досега во потполност не е разјаснета поврзаноста на дијабетесот со овој тип на инфламаторна периферна невропатија.

Имено, според некои истражувања најдено е дека лицата со дијабетес мелитус тип 1 и 2 имаат 11 пати поголем ризик од јавување на CIDP во однос на недијабетични пациенти [37]. Во последните години постојат бројни епидемиолошки студии кои ја негираат поврзаноста на дијабетес мелитус со зголемениот ризик за инфламаторни невропатии [38].

### **Фокални дијабетични невропатии**

**1.8.5. Кранијални мононевропатии** се јавуваат околу 1% кај лицата со дијабетес; во патолошкиот процес може да биде зафатен било кој нерв, но најчесто се афектирани булбомоторните нерви и тоа п oculomotorius. Во патогенезата на овој тип невропатија лежи васкуларна патологија (исхемично оштетување на нервите).

**1.8.6. Трункална радикулопатија** клинички се презентира како акутно јавена болка во торакалните дерматоми со слична клиничка манифестација на пост-херпетична невралгија.

**1.8.7. Компресивните невропатии** се чести кај пациенти со дијабетес и тоа компресивна невропатија на п medianus во предел на рачен зглоб (carpal tunnel syndrome) или улнарна мононевропатија во предел на лакот (cubital tunnel syndrome). Пациенти кои имаат знаци за компресивна невропатија и кај кои со електрофизиолошките иследувања ќе се потврди активна денервација, потребно е да направат оперативна интервенција-декомпресија на п. medianus или транспозиција на п. ulnaris, која е ефективна кај лица со добро регулиран дијабетес [39].

Во две студии правени на пациенти со тип 1 дијабетес мелитус е докажано дека интензивна контрола на гликемијата го намалува ризикот од развивање на периферна невропатија за околу 60%.

Овие податоци укажуваат на фактот дека покаченото ниво на глукоза во телото може да биде патогено, односно дека хипергликемијата има голема улога во патогенезата на дијабетичната невропатија [40]. Меѓутоа не треба да се занемарат и не-хипергликемиските ефекти од дијабетот, како што се намалена трофичка функција (хипоинсулинемијата кај тип 1 дијабетес и напреднат тип 2 дијабетес) или нарушената митохондријална функција.

### ***1.9. Механизми на оштетување на периферните нерви кај дијабетес мелитус***

Патофизиологијата на дијабетичната невропатија е се уште недоволно разјаснета, со оглед на бројните фактори кои се вклучени во настанување на истата. Се чини дека невропатијата е резултат на директно оштетување на аксоните како последица на хипергликемија, инсулинска резистенција и исхемија на нервното влакно поради оштетување на ендотелот и микроваскуларна дисфункција. Дијабетесот предизвикува функционален дефицит на азотен моноксид, активирање на алтернативни метаболички патишта, акумулација на крајни продукти на гликација, оксидативен стрес и секако инфламација преку активирање на инфламаторни молекули.

#### ***A) Метаболичка дисрегулација – активирање на алтернативни метаболички патишта***

Хипергликемијата доведува до дисрегулација на полиолскиот, хексозаминскиот и пентоза фосфатниот пат, со што индиректно е одговорна за оштетување на аксоните и Швановите клетки. На овој начин, преку активирање на алтернативните метаболички патишта глукозата делува токсично.

Глукоза 6 фосфат (Glucose-6-phosphate-G6P), под дејство на ензимот глукоза -6 фосфат дехидрогеназа (G6PD), со гликолиза во анаеробниот пентоза фосфатен пат, се разградува на 6 фосфо-глуколактон со продукција на Nikotinamid-adenin-dinukleotid phosphate (NADPH).

Во услови на високи интрацелуларни концентрации на глукоза, а со тоа и на глукоза-6 фосфат, доаѓа до инхибиција на G6P дехидрогеназата, што доведува до активација на полиолскиот пат, каде под дејство на ензимот алдоза редуктаза се конвертира во сорбитол, а потоа во фруктоза.

Наталожените сорбитол и фруктоза од една страна доведуваат до хиперосмоларно оштетување на нервните клетки, а од друга страна се јавува намалена активност на Na/K ATP-аза, со што се намалува интрацелуларната концентрација на NADPH.

NADPH е интрацелуларен антиоксиданс неопходен за регенерација на глутатион, така што неговата намалена продукција доведува до намалена заштита на клетките од оксидативно оштетување, што понатаму води до нивна апоптоза.

Пентоза фосфатниот пат е анаеробен метаболички пат во кој се создава NADPH, со вклучување на ензимот G6PD, меѓутоа високите концентрации на глукоза доведуваат до негова инхибиција, што е втора линија против создавање на антиоксиданси и повторно, го зголемува ризикот од апоптоза.

Значи, со дисрегулација на полиолскиот пат (условена од хипергликемија), доаѓа до оштетување на периферните нерви со следните механизми: намалено ниво на миоинозитол, со што се оштетува клеточната мембрана и пораст на слободните радикали како последица на намалениот антиоксидативен капацитет [41].

Сорбитолот и останатите полиоли се акумулираат во разни ткива, доведувајќи до намалување на нивото на мембранската компонента миоинозитол, со што настанува дизрупција на аксонската мембрана и нарушување на аксоналниот транспорт (ширење на акциони потенцијали) или ја намалува можноста за регенерација по повреда, со оглед дека липогенезата е клучна во процесите на регенерација [42].

Кај анимални експериментални модели на стаорци со тип 2 дијабетес, деплецијата на миоинозитол е асоцирана со намалување на активноста на Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>ATP-аза, а со тоа настануваат и дефекти во нервната кондукција [43].

Активацијата на хексозаминскиот метаболички пат е еден од клучните фактори во развивање на Инсулинската резистенција. Фруктоза-6 фосфатот се претвора во уридин дифосфат-N-ацетилглюкозамин (UDPGlcNAc), кој се прикачува на серинските и треонинските делови од транскрипциските фактори. Хипергликемијата доведува до зголемена активација на Sp1, фактор на транскрипција вклучен во дијабетични компликации. Активирањето на Sp1 води до прекумерна експресија на трансформирачкиот фактор на раст- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) и инхибитор на плазминоген активатор -1 (PAI-1) [44].

### ***Б) Ковалентна модификација***

Токсичното влијание на хипергликемијата кај дијабетесот не се должи само на активирање на алтернативните метаболички патишта, туку и на не-ензимското врзување на глюкозата со протеини, поточно со аминокиселините. На овој начин се создаваат модифицирани протеини (т.н крајни продукти на напредната гликација (англ. advanced glycation end products –AGEs), кои се детектираат и кај аксоните и кај Швановите клетки.

Во услови на хипергликемија, наталожените завршни продукти на гликација доведуваат до врзување на реактивните карбонхидратни групи за протеините, липидите или нуклеинските киселини, што доведува до нарушување на функцијата на протеините, како и менување на клеточната функција [45].

Помеѓу структурно модифицираните протеини е *колагенот*, кој во вакви услови има поголема дебелина; на него полесно се таложат имуни комплекси и се „заробува“ LDL холестеролот со што се објаснува зголеменото создавање на атеросклеротични плаки кај лица со дијабетес мелитус. Во вакви услови се намалува и протокот на крв низ крвните садови кои ги исхрануваат периферните нерви, доведувајќи до состојба на хипоксија.

AGEs го зголемуваат ризикот од хипоксија преку намалување на вазодилататорното дејство на азотниот моноксид ослободен од ендотелните клетки [46].



Друг модифициран протеин е *ламининот*, кој има големо значење во развојот на неврните и Швановите клетки. Модифицираниот ламинин го инхибира растот на неврните. Ова укажува на фактот дека AGEs, преку модификација на два клучни протеини, доведуваат до директно оштетување на аксоните и тоа со поттикнување на хипоксични услови, спречување на аксонскиот раст и лимитираната способност за регенерација на периферните нерви [47].

Покрај протеините и останатите биомолекули можат да претрпат модификација посредувана со крајните продукти на напредната гликолизација (AGEs). Тука во прв ред се мисли на плазмидната ДНК [48].

Не треба да се занемари и улогата на метаболните патишта во модификација на биомолекулите. Имено, зголемената активност на хексозаминскиот пат, преку модификација на бројни транскрипциски фактори како што е трансформиращкиот фактор на раст-бета (TGF- $\beta$ ), придонесува до големи промени на состојбата на клетката и пренесувањето на сигнали [49].

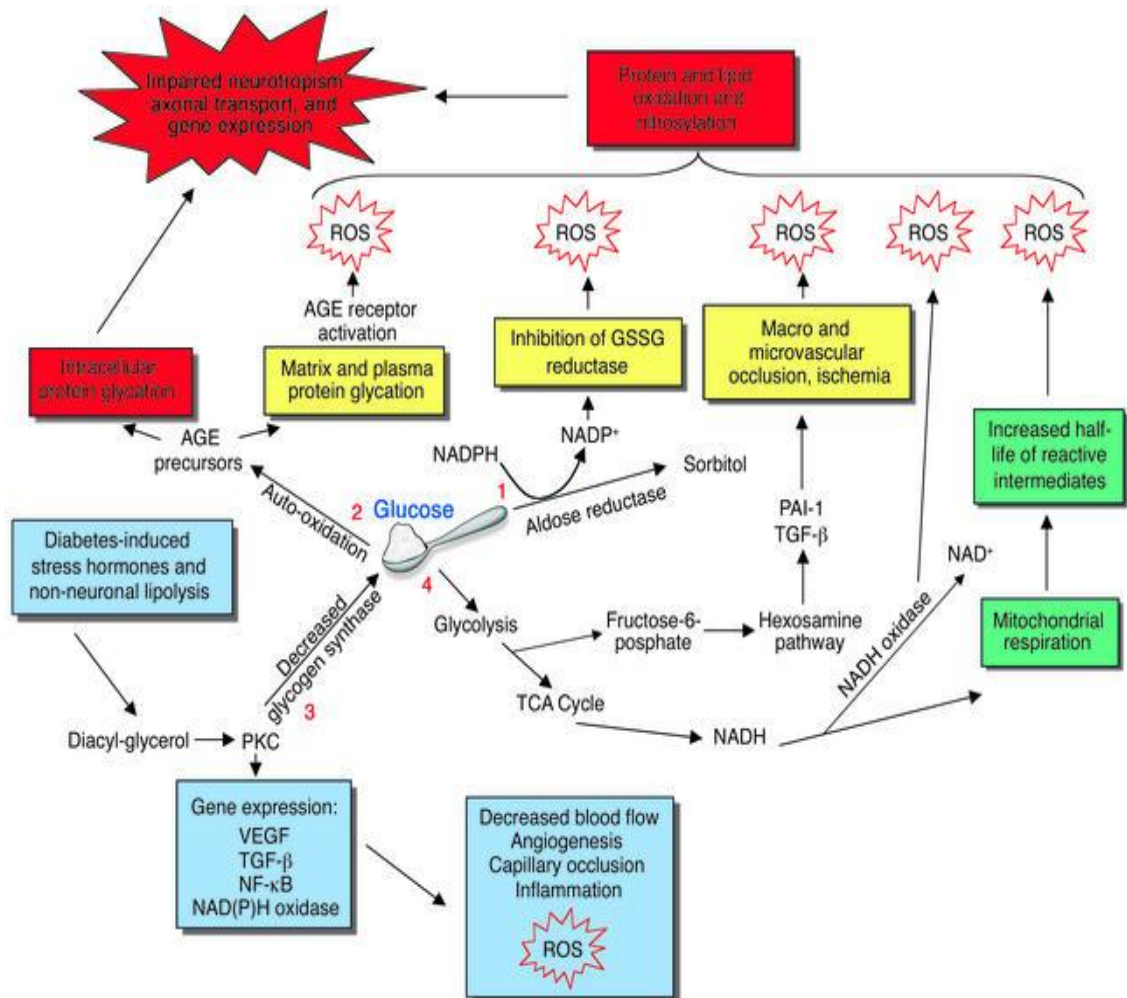
### ***В) Оксидативен стрес и улога на реактивните кислородни радикали***

Митохондријалната дисфункција има една од клучните улоги во патогенезата на периферните невропатии, со оглед дека митохондриите се органели во кои се одвиваат процесите на оксидативна фосфорилација, каде се создаваат и реактивни кислородни радикали. Морфолошки промени на митохондриите биле детектирани во анимални експериментални модели со тип 2 дијабетес [50].

Хипергликемијата преку активација на полиолскиот пат доведува до намалена продукција на NADPH, а со самото тоа и намален антиоксидативен капацитет на клетките.

Од друга страна со неензимското врзување на глюкозата со протеините настанува структурна модификација на интрацелуларните протеини, а со самото тоа се нарушува и нивната функција.

Парцијалната гликолиза доведува до активирање на хексозаминскиот пат, со што дополнително се создаваат слободни кислородни радикали.



**Слика 3.** Механизми на аксонска дегенерација на периферните нерви со посредување на реактивни кислородни радикали (англ. ROS-reactive oxygen species)

### ***Г) Дефицит на фактори на раст***

Покрај метаболичките и васкуларните фактори, во патогенезата на невропатијата значајна патофизиолошка улога играат и невротрофичките фактори, како што се васкуларен ендотелијален фактор на раст-VEGF, Инсулин сличен фактор на раст-Insulin-like Growth factor, нервен фактор на раст (NGF), мозочен невротрофичен фактор (BDNF), фибробластен фактор на раст (FGF2), кои покрај невротрофична имаат улога и во ангиогенезата.

Васкуларниот ендотелен фактор на раст претставува моќен селективен митоген цитокин, кој во исхемични услови индуцира ангиогенеза преку стимулација на процесот на миграција на ендотелните клетки; истиот влијае врз миграција и пролиферација на швановите клетки. Во бројни експерименти е докажано дека VEGF го стимулира аксоналниот раст и го продолжува преживувањето на неврните и Швановите клетки во сензитивните ганглиони од задните корени.

### ***Д) Инфламација***

#### ***1. Улога на проинфламаторните цитокини во патогенеза на дијабетичната периферна невропатија***

Дијабетичната периферна невропатија во основа се должи на тивка, субклиничка инфламација. Проинфламаторните цитокини како што се тумор некротичен фактор алфа (TNF- $\alpha$ ), Интерлеукини (IL) IL-1,6,8, Ц-реактивниот протеин (CRP) ги синтетизираат не само имуните клетки, туку и адипоцитите и макрофагите, со што ја засилуваат воспалителната реакција.

Хемокините кои се ослободуваат при оштетување на ткивото, ја зголемуваат експресијата на адхезионите молекули, како што се циркулирачкиот или локално продуцираниот интерцелуларен адхезионен молекул-1 (ICAM-1), Васкуларен клеточен адхезионен молекул-1 (VCAM-1), Е-селектин, со што се поттикнува инфламаторната каскада. Токму овие молекули се вклучени во патогенезата на хроничните компликации од дијабетесот [51].

TNF- $\alpha$  (познат како кахектин) е проинфламаторен цитокин кој игра голема улога во настанување на дијабетична невропатија; за разлика од другите микроваскуларни компликации како што се ретинопатија или нефропатија (каде доминантна улога играт IL-6 и CRP). Кај анимални модели е докажана улогата на TNF- $\alpha$  во механизмите на периферна и централна сензитизација, а со тоа и јавување на невропатска болка [52, 53].

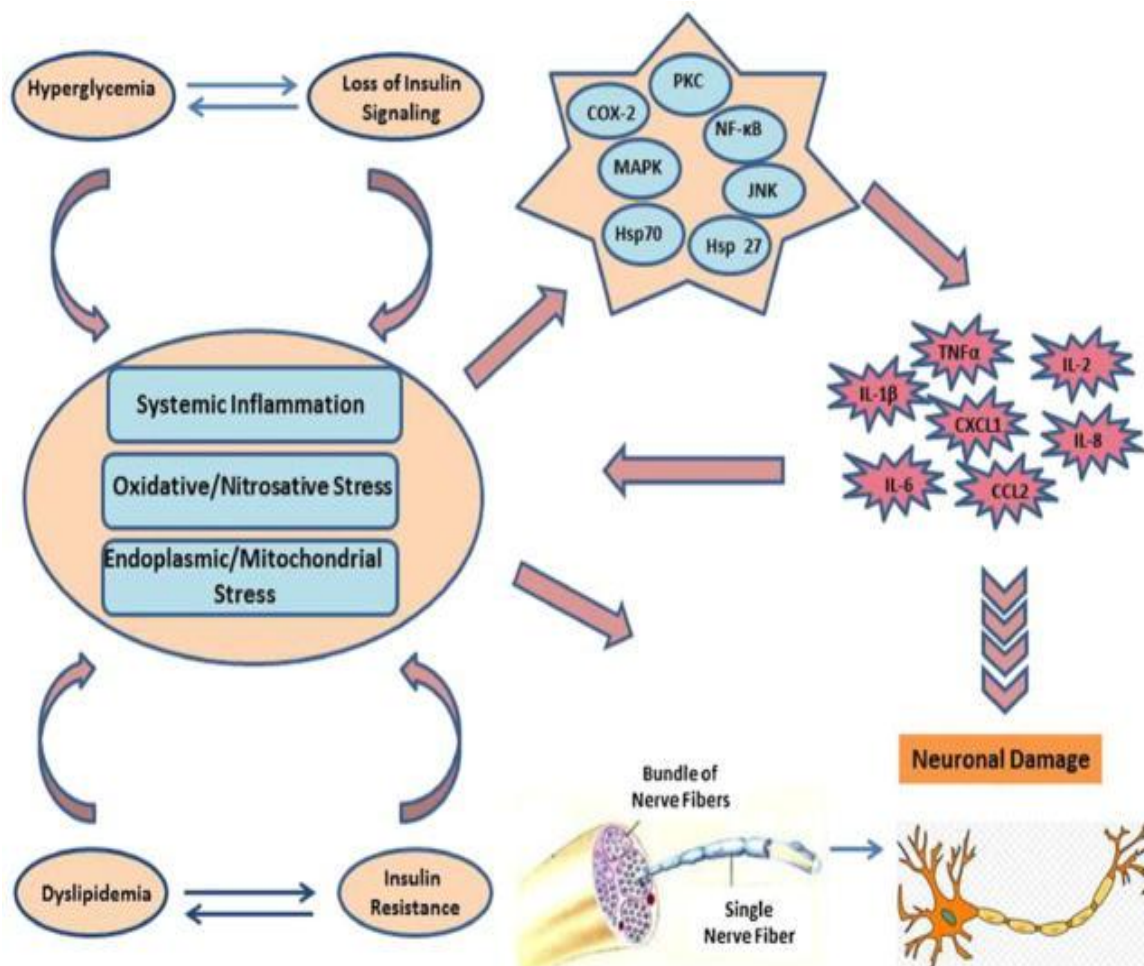
TNF- $\alpha$  е плеотропна молекула која игра централна улога во процесите на инфламација, развивање на имунолошкиот систем, апоптоза и липиден метаболизам. Тој е вклучен во патогенезата на бројни патолошки состојби како што се: бронхијална астма, Кронова болест, ревматоиден артритис, невропатска болка, обезност, дијабетес мелитус тип 2, септичен шок, автоимуни и малигни заболувања.

Хуманиот TNF- $\alpha$  се синтетизира како 26 kDa type II трансмембрански протеин кој се состои од 35 аминокиселини во цитоплазматскиот домен, од 21 аминокиселина во трансмембранскиот сегмент и од 177 аминокиселини во екстрацелуларниот домен.

Во екстрацелуларниот домен хуманиот TNF - $\alpha$  поседува аминокиселински секвенци кои во 97% се идентични со оние на резус мајмуните; 71-92% идентични со аминокиселините детектирани кај TNF -  $\alpha$  кај крави, кучиња, коњи, глупци, стаорци. Го создаваат разни типови на клетки и тоа имуни, епителијални, ендотелијални и туморски клетки.

TNF- $\alpha$  е составен интрацелуларно во форма на нековалентно врзан хомотример кој се експресира на клеточната површина и истиот може да индуцира лиза на туморски и со вирус инфицирани клетки и да генерира нивна сопствена клеточна надолна сигнализација (downstream) со врзување со солубилан рецептор- TNFR.

На слика 4 е прикажана улогата на инфламацијата во оштетувањето на периферните нерви кај дијабетес мелитус. Хипергликемијата преку активација на алтернативните метаболни патишта го намалува антиоксидативниот капацитет на клетките, доведувајќи до создавање на слободни кислородни радикали кои се основата на митохондријалната дисфункција.



Слика 4. Улога на инфламацијата во оштетување на периферните нерви

Дополнително, дислипидемијата ја поттикнува инфламаторната каскада и на тој начин доведува до зголемено ослободување на проинфламаторни цитокини : TNF- α, Interleukini (IL-2, IL-6, IL-8), CXCL1 -мал цитокин кој припаѓа на фамилијата CXC хемокини (порано нарекуван GRO1 неутрофилен активирачки протеин 3 (NAP-3) и стимулатор на раст на меланомот-алфа (MSGA-α). Сите овие цитокини доведуваат до оштетување на периферните нерви.

## ***2. Улога на TNF- $\alpha$ во периферните механизми на невропатската болка***

Невропатската болка претставува патолошка болка каде ноцицептивните одговори перзистираат надвор од доменот на оштетениот нерв или околното ткиво. Може да се манифестира како хипералгезија, хиперпатија или алодинија несразмерно со обемот на дразбата. Кога станува збор за механизмите на невропатската болка се смета дека подеднакво е значењето на периферната и централната сензитизација на нервниот систем во одговор на ноцицептивните стимулуси. Клинички најчести типови на невропатска болка се постхерпетична невралгија, тригеминална невралгија и дијабетична периферна невропатија [54]. Цитокините се ниско молекуларни гликопротеини кои главно ги секретираат имунолошки клетки како што се Т-лимфоцити, макрофаги и неутрофили. Меѓутоа има и други клетки кои секретираат цитокини, а тоа се кератиноцити и дендритични клетки во кожата, Шванови клетки и глија во централниот нервен систем [55].

Цитокините се интерцелуларни медијатори, кои се синтетизираат брзо како одговор на воспаление, болест или оштетување на ткивото; нивното дејство (за разлика од хормоните) е краткотрајно и локализирано. Постојат неколку групи на цитокини и тоа: интерлеукини, интерферони, тумор некротични фактори, фактори на раст и хемокини. Меѓу нив најголем удел во настанување на невропатската болка имаат TNF- $\alpha$  и интерлеукини 1 и 6 (IL-1, IL-6) [56].

Во експериментални анимални модели на стаорци каде било направено директно оштетување на ишијадичен нерв било најдено покачено ниво на TNF- $\alpha$  во дорзалните ганглии (и на оштетениот и контралатералниот нерв-што може да се објасни со ретроградниот аксонален транспорт) и индивидуалните нерви како и зголемена експресија на рецептори за TNF- $\alpha$ . Овој цитокин го засилува транспортот низ натриумовите (Na<sup>+</sup>) канали на ноцицептивните неврони, како и транспортот на калиумот (K<sup>+</sup>) низ волтажно не зависни калиумови канали, доведувајќи до хиперекситабилност на невроните [57].

Што се однесува до централната невропатска болка, во анимални модели на стаорци најдена е зголемена концентрација на TNF- $\alpha$  во *hypocampus*, *locus coeruleus* и *nucleus ruber*. TNF- $\alpha$  овде посредува преку глијалните клетки, чиј број е 50 пати поголем од неврните и тоа: астроцити, олгодендроцити и микроглија. Астроцитите се најзастапени глијални клетки кои посредуваат во модулирање на синаптичката функција преку формирање на трипартитни синапси меѓу пре-синаптички, пост синаптички и екстра-синаптички контакти на астроцити со до 10.000 други неврони, користејќи ги глутаматот и аденозинот како трансмитери [58]. Токму спиналните астроцити учествуваат во механизмот на хронична болка со активација на *mitogen-activated protein kinase* (p38-MAPK) системот. Микроглијата сочинува 15-20% од популацијата на глија клетки; во одговор на оштетување на нервното ткиво или инфламација тие се трансформираат во клетки слични на макрофаги преку експресија на антигени на Главниот хистокомпатибилен комплекс и секреција на проинфламаторни цитокини (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 ) [59].

### ***3. Улога на TNF- $\alpha$ во инсулинската резистенција***

Зголемената продукција на TNF- $\alpha$  секундарна на хипергликемијата е фактор на егзацербација на инсулинска резистенција кај лошо контролиран дијабетес. TNF- $\alpha$  врзувајќи се за својот рецептор доведува до активирање на ензимот сфингомиелиназа кој пак, од своја страна, го разградува сфингомиелинот во церамид. Церамидот ја зголемува серинската фосфорилација на инсулин рецепторен супстрат 1 (IRS-1), ја инхибира инсулин рецептор тирозинска фосфорилација, што води до слабеење на сигналот, намалување на глукоза транспортер 4 транслокација а со тоа и намалено превземање на глукоза. Висцералните масти се извор на голем број на супстанции кои би можеле да играат улога во развојот на инсулинската резистенција. Меѓу нив TNF- $\alpha$ , адипонектин, IL-6 и слободните масни киселини. Обезноста, како еден од клучните фактори за настанување на тип 2 дијабетес мелитус има голем удел во развивање на инсулинската резистенција токму поради зголемената експресија на TNF- $\alpha$  [60].

#### ***4. Улога на TNF- $\alpha$ во настанување на хронични компликации кај дијабетес мелитус***

Хроничната хипергликемија доведува до стимулација на макрофагите како клетки кои доминантно го секретираат TNF- $\alpha$  и зголемена секреција на овој цитокин, кој од своја страна доведува до оштетување на малите и големите крвни садови, односно до развивање на микро и макроангиопатија. TNF- $\alpha$  ја зголемува пермеабилноста на васкуларниот ендотел преку ослободување на азотен оксид. Потоа, овој цитокин ја зголемува тромбогенезата преку зголемена експресија на инхибитор на плазминогениот активатор 1 (PAI-1).

TNF- $\alpha$  ја зголемува експресијата на адхезионите молекули на ендотелните клетки и на тој начин ја забрзува атеросклерозата. Најдена е корелација меѓу покачената серумска концентрација на VCAM -1 и дебелината на интима-медија комплексот на каротидните артерии [61]. TNF- $\alpha$  ја зголемува експресијата и на специфичните протеини кои посредуваат во клеточното оштетување, како што се алдоза редуктаза, протеин киназа Ц, митоген активиран протеин киназа (МАП). Микроваскуларното оштетување доведува до исхемија и зголемена васкуларна пермеабилност и тој начин го овозможува навлегувањето на штетните супстанции во нервното влакно. Освен тоа, не треба да се занемари и влијанието на TNF- $\alpha$  врз Швановите клетки, со што се објаснува и локалната демиелинизација во склоп на патолошкиот процес при периферната невропатија.

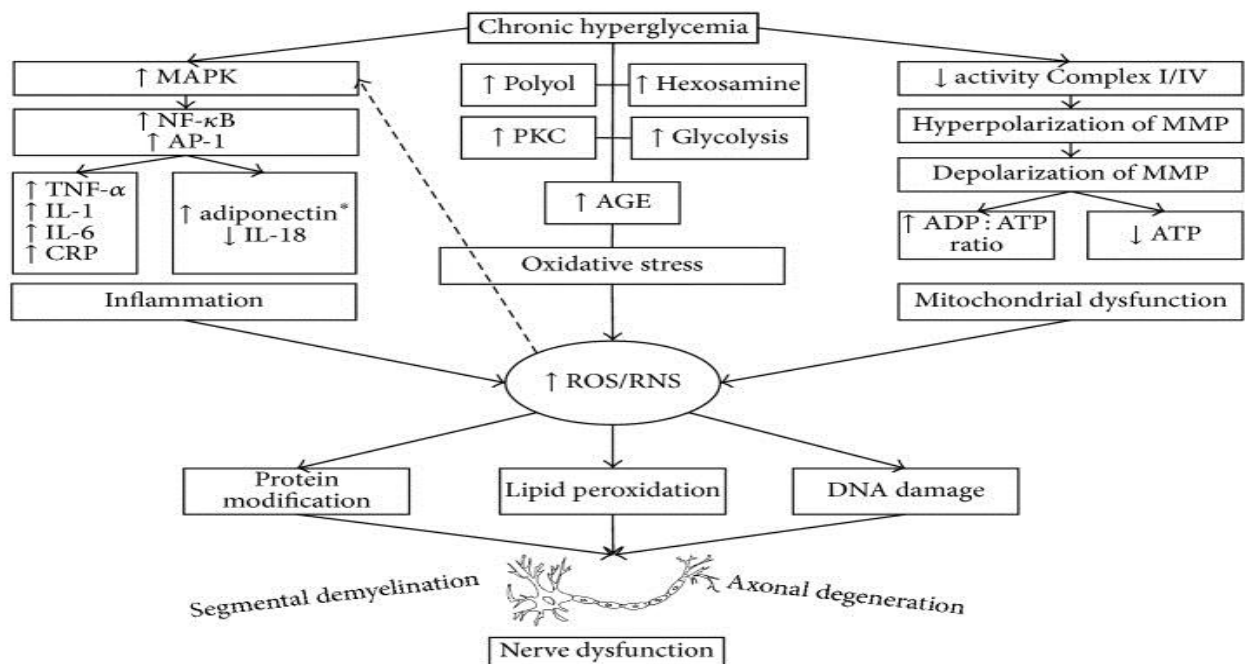
#### ***5. Полиморфизам на промоторен ген за TNF- $\alpha$ и дијабетична периферна невропатија***

Познато е дека генот за TNF- $\alpha$  е локализиран на кусиот крак од шестиот хромозом. Полиморфизмот на генот-промотор за TNF- $\alpha$  го објаснува и настанувањето на инсулинска резистенција, автоимуни заболувања како и приемчивоста на разни инфекции, како и тежина на клиничка презентација на дијабетична ретинопатија [62].



Докажана е поврзаноста меѓу полиморфизмот на промотерен ген за TNF- $\alpha$  C(-857)T и продолжена латенца на Ф бранот за n medianus како сензитивен маркер за афекција на периферните нерви кај тип 2 дијабетес мелитус [63].

Сознанието за улогата на инфламацијата во патогенезата на дијабетична периферна невропатија дава можности за рано воведување на анти-инфламаторни лекови, покрај интензивна контрола на дијабетесот, за спречување на невропатијата. Засега, речиси сите информации се добиени врз основа на студии изведени врз анимални модели.



**Слика 5.** Механизми на оштетување на периферните нерви индуцирани со хипергликемија

## **2. МОТИВ ЗА ИЗРАБОТКА НА СТУДИЈАТА**

Мотивот за отпочнување и спроведување на истражувањето е повеќекратен. Секојдневно во нашата лекарска пракса се среќаваме со пациенти кои имаат бројни хронични заболувања меѓу кои и шеќерна болест, особено ако се земе во предвид дека дијабетесот е во постојана експанзија, не само во Република Македонија туку и пошироко.

Дијабетес мелитус претставува една од водечките причини за инвалидитет и смртност на глобално ниво. Дијабетичната периферна невропатија е можеби најтешката хронична компликација од дијабетесот, со оглед на тоа дека може да доведе до сериозни нетрауматски повреди на стапалата, а во најтешки случаи и до ампутација на екстремитетите.

Микроваскуларните и макроваскуларните компликации од нерегулиран или лошо контролиран дијабетес мелитус претставуваат социјален и економски проблем во едно општество, ако се земе во предвид дека расте бројот на лица со прележан мозочен удар, акутен миокарден инфаркт, лица со дијабетична нефропатија и хронична ренална инсуфициенција и секако заболени од некоја од формите на дијабетична периферна невропатија.

Ова е прво истражување кое ќе биде спроведено во Република Македонија.

Објавувањето на резултатите од истражувањето во медицинските списанија ќе даде придонес за запознавање на домашната и светската медицинска јавност за овој тип на проблематика, со можност за понатамошна меѓународна соработка околу современите принципи на лекување на дијабетичната периферна невропатија.

### **3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО**

Целите на истражувањето произлегуваат од хипотезата за потенцијалната улога на тумор-некротичниот фактор алфа (TNF- $\alpha$ ) во оштетувањето на периферните нерви кај лицата со тип 2 дијабетес мелитус . Тоа би ја потврдило улогата на инфламацијата во патогенезата на дијабетичната периферна невропатија.

Основната цел на истражувањето е да се утврди поврзаноста на TNF- $\alpha$  со степенот и тежината на неврогена лезија кај дијабетична периферна невропатија.

Останати цели се:

- одредување на концентрацијата на TNF- $\alpha$  од примерок крвна плазма кај испитаници кои боледуваат од дијабетес мелитус тип 2 (испитувана група) и здрави испитаници (контролна група).

- утврдување на клиничкиот стадиум на периферната невропатија со користење на системот за бодување на симптоми т.н Скала на симптоми на дијабетична невропатија.

- објективна електрофизиолошка процена на степенот и типот на оштетување на периферните нерви со користење на електрофизиолошки иследувања електрмиографија и електроневрографија.

## **4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ**

Истражувањето е спроведено во согласност со Хелсиншката декларација по претходно добиено одобрение од Етичката комисија за истражување на луѓе при Медицинскиот факултет-Скопје. Истражувачката студија е дизајнирана како проспективна студија и истата е работена во Градската општа болница „8-ми Септември“-Скопје и на Природно-математичкиот факултет при Универзитетот „Св Кирил и Методиј“ во Скопје, во периодот од октомври 2016 до октомври 2017 година.

### **4.1. Материјал**

Во истражувачката студијата беа вклучени вкупно 80 испитаници, мажи и жени поделени во две групи: *испитувана група* составена од 50 испитаници кои боледуваа од шеќерна болест и имаа симптоматологија на дијабетична периферна невропатија и *контролна група* составена од 30 здрави испитаници, односно лица кои не боледуваат од шеќерна болест, ниту од друго познато акутно или хронично заболување. Возраста на испитаниците со дијагностициран дијабетес беше од 30 до 80 години, додека кај испитаниците од контролната група истата се движеше во ранг од 18 до 45 години.

#### **Критериуми за вклучување во истражувањето** беа:

- испитаници со дијагностициран дијабетес мелитус тип 2, во траење од една до 40 години;
- испитаници кои беа на редовна терапија со орални антидијабетици и/или Инсулин;
- испитаници кај кои беа регистрирани симптоми и знаци за дијабетична периферна невропатија.

### **Критериуми за исклучување од истражувањето беа:**

- претходно дијагностицирана дијабетична ретинопатија и нефропатија;
- прележан исхемичен/хеморагичен мозочен удар или акутен миокарден инфаркт во последните 12 месеци;
- акутна и/или хронична инфекција на кожата, респираторниот, гастроинтестиналниот систем, познато малигно заболување, автоимуни заболувања каде може да се очекуваат повисоки плазма концентрации на TNF- $\alpha$ ;
- Постоене на дијабетично стапало или гангрена.

### **4.2. Методи**

Сите испитаници кои учествуваа во ова истражување најпрво беа детално усно и писмено запознаени со целите на истражувањето и истите потпишаа **информирана согласност**.

Кај испитаниците од *испитуваната група* беа направени клинички и невролошки преглед со цел да се утврди постоење на симптоми и знаци кои упатуваат на дијабетична периферна невропатија. Тежината на клиничката слика и степенот на оштетување на периферните нерви се проценети со употреба на Скала на симптоми за дијабетична невропатија (DNS скала) и електрофизиолошки иследувања.

**4.2.1. Клиничкиот преглед** имаше за цел анализа на симптоми и знаци кои упатуваат на можно оштетување на периферните нерви. Анамнестички најчесто се земаа податоци околу присуство/отсуство на спонтани субјективни сензации (парестезии, дизестезии, чувство на жарење, пецкање, мравулкање, доминантно на прстите од шаките и стапалата, болки кои наликуваат на лумбо-ишијалгија или цервико брахијалгија, појава на грчеви во мускулите итн); губење на мускулна маса, слабост во шаките, стапалата, малаксаност, потешкотии во одењето, ортостатска хипотензија, варијации на вредностите на артерискиот крвен притисок, констипација, дизурични тегоби.

**4.2.2. Невролошкиот преглед** имаше за цел да го одреди клиничкиот тип на периферна невропатија. Истиот опфаќаше: испитување на функцијата на кранијалните нерви, мотилитетот со анализа на грубата моторна сила, тонус, трофика на скелетната мускулатура, позициони, координациони проби, присуство на неволни движења; испитување на површинскиот и длабокиот сензибилитет; одговор на мускулно-тетивните рефлекси, контрола и функција на сфинктери и присуство на знаци кои упатуваат на афекција на вегетативниот нервен систем.

**4.2.3. Скала на симптоми на дијабетична невропатија** - Diabetic neuropathy symptom score (DNS) е симплифициран систем за бодување во кој се проценува болка, вкочанетост, пецкање и присуство на атаксија. Максималниот скор е 4 бодови; еден или повеќе бодови упатува на невролошка абнормалност.

#### **4.2.4. Електромионеврографија (опис на методот)**

Електромионеврографија (ЕМНГ) е неврофизиолошка метода за испитување на периферните нерви. Со електрофизиолошкиот преглед може да се утврди типот на нерви кои се зафатени во патолошкиот процес (моторни, сензитивни), степенот на оштетување (благ, умерен, тежок), типот на патолошки процес (демиелинизирачка, аксонална или мешовита лезија) и текот на болеста (акутен или хроничен).

**Електроневрографија (ЕНГ)** подразбира стимулација на нервите и регистрирање на акционите потенцијали над одговарачкиот нерв или мускул најчесто со користење на површински електроди. Со регистрирање над сензитивните нерви се добиваат акциони потенцијали на сензитивниот нерв (SNAP), додека со регистрирање над мускулот се добиваат збирни акциони потенцијали на мускулот (CMAP). Се анализираат латенцата, аплитудата, траењето, изгледот на потенцијалот и брзината на спроведување низ периферните нерви.

Електронеурографскиот преглед на сензитивните нерви најпрво се изведува на најдолгиот сензитивен нерв -n. suralis.

Доколку не можат да се добијат SNAP на нозете се испитуваат сензитивни нерви на рацете и тоа n. ulnaris и n. medianus.

Електронеурографскиот преглед на моторните нерви најпрво се изведува на најдолгите моторни нерви-n. peroneus profundus и n. tibialis. Доколку се отсутни СМАР на нозете се испитуваат моторни нерви на рацете и тоа n. ulnaris и n medianus.

**Електромиографија (ЕМГ)** е испитување на електричната активност на скелетните мускули. Вообичаено кај пациенти со невропатија ЕМГ прегледот е нормален, освен во случаи на аксонална моторна невропатија, каде се регистрира спонтанa денервациона активност. При волева активација на мускулите се анализираат морфологијата на потенцијалите на моторните единици (амплитуда, времетраење, полифазија), интерферентен или интермедијарен образец и брзината на избивање на потенцијалите.

Во истражувачката студија иницијално се работеше електронеурографско иследување со користење на површински електроди. Беа испитани следните нерви: n. peroneus profundus (моторен нерв), n. medianus (сензитивни и моторни влакна), n. ulnaris (сензитивни и моторни влакна) и n. suralis (сензитивен нерв). Во случај на присутни технички проблеми во изведување на ЕНГ испитувањето со површински електроди се пристапуваше кон електромиографија со помош на концентрични иглени електроди. Истражувањето се изведуваше на аналоген ЕМНГ апарат од производителот DANTEC.

***Електронеурографско испитување на моторни нерви со површински електроди***

***Испитување на неврографски параметри на *n peroneus profundus****

Дисталната точка на стимулација е на 80 mm од положбата на активната електрода (пласирана на *m extensor digitorum braevis*), додека проксималната точка на стимулација е во предел на главата на фибулата. Референтната електрода е поставена на ниво на проксимална фаланга од петтиот прст на стапалото. За стимулација се користи електрода со два пола во која се наоѓаат сунѓерчиња навлажнети со физиолошки раствор. Се стимулира со супрамаксимална стимулација од 99mA за да се добие M бранот на испитуваниот нерв. Се мери растојанието помеѓу двете точки на стимулација и се пресметува дисталната латенца изразена во милисекунди.

Измереното растојание се внесува и апаратот автоматски ја пресметува брзината на спроведување изразена во метри во секунда (m/sec). Доколку од технички причини испитувањето не може да се изведе со површински електроди се применуваат иглени електроди кои се инсертираат во *m extensor digitorum braevis*. Останатите чекори во испитувањето се идентични со претходно опишаните со површински електроди. Во двата случаи се поставува електрода-земја околу скочниот зглоб, навлажнета со физиолошки раствор.

***Испитување на неврографски параметри на *n medianus****

При испитување на моторниот дел од *n. medianus* дисталната точка на стимулација е на 80 mm од активната електрода (поставена во регија на тенар-над *m oropens pollicis*), во предел околу рачниот зглоб, а проксимална точка на стимулација е во предел на внатрешна страна од кубитална регија. Референтната електрода се поставува во висина на проксимална фаланга од вториот прст на шаката. Кожата претходно треба да биде сува, а доколку истата е масна, се брише со ацетон или 70% алкохол и се чека да се исуши. Во двете точки се стимулира со супрамаксимална стимулација од 99mA.



Се мери растојанието помеѓу проксималната и дисталната стимулација во милиметри и се внесува во апаратот, кој на истиот принцип ги пресметува дисталната латенца (изразена во милисекунди) и моторната брзина на спроведување (изразена во m/sec). Доколку од технички причини испитувањето не може да се изведе со површински електроди, се пристапува кон иглена техника, со инсерција на иглената електрода во *m oropens pollicis*. Останатите постапки на испитување се идентични со претходно опишаната техника со површински електроди. При испитување на сензитивната порција од *n.medianus* се користат две прстенести електроди, кои се поставуваат околу проксималната и средна фаланга од вториот и третиот прст од шаката, на растојание од 15 mm. На електродите се нанесува гел, со кој се овозможува подобар контакт со кожата.

Се стимулира со електрода која има два пола со вдлабнатинки во кои се наоѓаат сунѓерчиња навлажнети во физиолошки раствор во предел на медијална страна од рачен зглоб. Стимулацијата постепено се зголемува до 20 mA, а во одредени случаи и до 30mA. Откако на екранот од ЕМНГ апаратот ќе се прикаже М-бранот се мери растојанието од дисталниот пол на електродата за стимулација и прстенестата електрода поставена околу проксималната фаланга на прстот и се внесува во милиметри. На тој начин апаратот ја пресметува сензорната брзина на спроведување (изразена во m/sec).

### ***Испитување на неврографски параметри на *n ulnaris****

При испитување на моторната порција од *n.ulnaris* дисталната точка на стимулација е на 80 mm од активната електрода поставена во регија на хипотенар-над *m abductor digiti minimi* во предел на рачниот зглоб, додека проксимална точка на стимулација е во предел над медијалната страна од лакотот над *sulcus ulnaris*. Референтната електрода се поставува во висина на проксималната фаланга од петтиот прст на шаката. Се стимулира со супрамаксимална стимулација и се мери растојанието меѓу двете точки на стимулација.

Вредностите изразени во милиметри се внесуваат во апаратот и се пресметуваат дисталната латенца изразена во ms и моторната брзина на спроведување изразена во m/s. Доколку од технички причини не може да се изведе испитувањето со површински електроди се пристапува кон иглена техника, со инсерција на иглената електрода во m abductor digiti minimi. Останатите постапки се идентични со претходно опишаните за изведување со површински електроди.

При испитување на сензитивната порција од n.ulnaris прстенестите електроди се поставуваат околу проксимална и средна фаланга од четвртиот или петтиот прст, на нив се нанесува гел или се навлажнуваат со физиолошки раствор. Стимулацијата се врши во предел на медијална површина од рачен зглоб или медијална површина од дистален дел на подлактица.

Кога се испитува сензитивната брзина на спроведување на n. ulnaris се користи помала стимулација, односно максимално до 20mA. Се регистрира SNAP од нервот, со анализа на дисталната латенца, амплитудата, морфологијата на бранот и се пресметува сензорната брзина на спроведување на нервот (изразена во m/sec).

### ***Испитување на неврографски параметри на n. suralis***

Активната електрода во вид на лепенка се поставува околу скочниот зглоб, во близина на латералниот малеолус, додека референтната електрода се поставува во предел на задната третина од латералниот раб од стапалото. Стимулацијата се изведува во предел на долна третина од задната ложа на подколеницата, на растојание од 140 mm од активната електрода.

Јачината на стимулусот постепено се зголемува до 30-40mA. Пресметана брзина на спроведување, со претходно опишаните постапки за испитување на сензитивните нерви се изразува во m/sec.

Кај сите испитаници во истражувачката студија (n=80) беа земени примероци крв за одредување на концентрацијата на тумор-некротичниот фактор алфа. Примероците крв најпрво се центрифугираа во биохемиската лабораторија во рамки на Градската општа болница „8-ми Септември“-Скопје, со цел раздвојување на крвна плазма од клеточните елементи.

Издвоената крвна плазма (околу 1-2 ml) беше замрзнувана на температура од -70 степени целзиусови. Кога беа собрани предвидените 80 примероци крвна плазма истите беа однесени на Природно-математичкиот факултет во Скопје, каде се изврши одредувањето на плазма концентрацијата на тумор-некротичниот фактор алфа со помош на ELISA-техника.

#### **4.2.5. Одредување на концентрација на TNF- $\alpha$ во крвна плазма**

##### *Принцип на методот*

Концентрацијата на TNF- $\alpha$  се определува со ELISA-техника.

Анти-TNF- $\alpha$  антителата кои се апсорбирани во бунарчињата се врзуваат со TNF- $\alpha$ , кој е присутен во примерокот или стандардите. Потоа следи додавање на секундарни биотинизирани анти-TNF- $\alpha$  антитела, кои се врзуваат за TNF- $\alpha$  кој е врзан за примарното антитело. После инкубација, неврзаните биотинизирани анти-TNF- $\alpha$  антитела се отстрануваат со испирање.

Следниот чекор вклучува додавање на пероксидаза (horse radish peroxidase, HRP), која е конјугирана со стрептавидин и која се врзува за биотин конјугираните анти-TNF- $\alpha$  антитела. После инкубација, неврзаниот стрептавидин HRP се остранува со испирање и се додава супстратен раствор за пероксидазата, тетраметилбензидин (TMB), кој формира обоен продукт и чие обојување е пропорционално на концентрацијата на TNF- $\alpha$  во примерокот или стандардниот раствор. Реакцијата се стопира со 1 M фосфорна киселина и се мери апсорбанцата на 450 nm. Се формира стандардна крива од 7 стандардни раствори на TNF- $\alpha$ . Добиените вредности се изразуваат во pg/ml.

### **4.3 СТАТИСТИЧКИ МЕТОДИ**

За анализа на материјалот беа искористени статистичките методи: фреквенција, процент, табела на контингенција,  $\chi^2$  (хи квадрат) тест, Фишер егзакт тест (ФЕТ), р-индекс на статистичка значајност, средна вредност, стандардна девијација, Студентов t-тест, Фишеров F-тест и Пирсонов коефициент на корелација r [64][65][66].

Фреквенциите во табелите на контингенција се прикажани во апсолутни вредности и проценти. Столбчести дијаграми се искористени за графички приказ на распределбата на фреквенциите и процентите по одредени групи и категории.

Хи квадрат тестот ( $\chi^2$ ) е искористен за одредување на значајноста во разликите на дистрибуциите во ќелиите на табелите на контингенција. Во случај кога некои од фреквенциите во табелата на контингенција се помали или еднакви на 5, со помош на Фишер егзакт тестот е направена корекција на вредноста на р-индексот. Во зависност од тоа во табелите се појавува вредноста на хи квадрат статистиката ( $\chi^2$ ), бројот на степени на слобода (с.с.) и р-индексот на значајност или само р-индексот на значајност пресметан со Фишер егзакт тест (ФЕТ).

За некатегоризираните променливи беа пресметувани средни вредности и Студент-овиот тест (t-статистиката) за споредба на 2 средни вредности кај независни примероци, како и F-тестот за споредба на повеќе средни вредности кај независни примероци.

Пирсонов коефициент на корелација (r) е пресметан за одредување на степенот на линерна корелација (поврзаност) на две некатегоризирани променливи, а статистичката значајност е проценета со t-статистиката.

Статистичките анализи се направени со NCSS статистичкиот пакет на PCWindows компјутер [67].

## 5. РЕЗУЛТАТИ

Обработениот материјал опфаќа резултати добиени од истражување спроведено на 80 испитаници поделени во две групи: испитувана група (n=50) и контролна група (n=30).

Добиените резултати од спроведената статистичка анализа се прикажани во продолжение во табели и графикони.

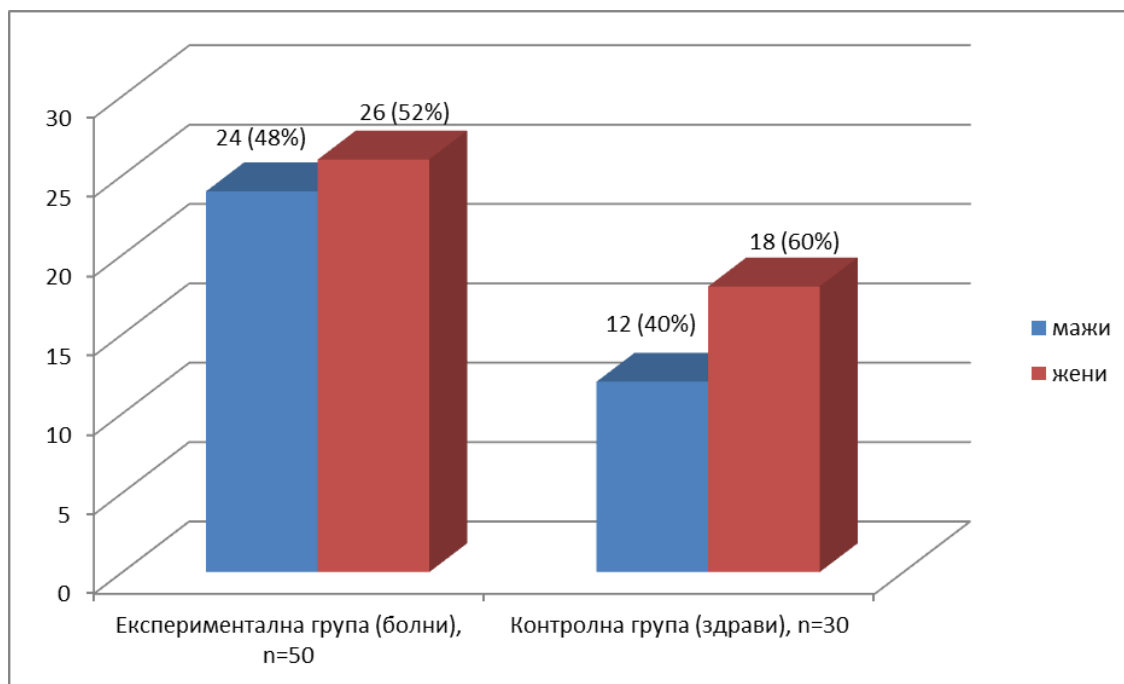
### **5.1 Дистрибуција на испитаниците според пол**

На табела 2 е прикажана дистрибуцијата според пол кај испитаниците од испитуваната (n=50) и контролната група (n=30). Меѓу испитаниците од испитуваната група 24 (48%) беа мажи, додека 26 (52%) беа жени. Во рамки на контролната група 12 (40%) беа мажи и 18 (60%) беа жени. Врз основа на статистичката анализа се забележува дека не постои статистички значајна разлика во половата застапеност во испитуваната и контролната група (p=0.487).

пол	Испитувана група (n=50)	Контролна група (n=30)	$\chi^2$ (p)
мажи	24 (48%)	12 (40%)	0,48 (с.с.=1) p=0,487
жени	26 (52%)	18 (60%)	

**Табела 2.** Дистрибуција според пол кај испитуваната група (n=50) и контролната група (n=30) и статистичка значајност

Дистрибуцијата според пол кај испитуваната и контролната група е прикажана со столбчест дијаграм на слика 6.



**Слика 6.** Графички приказ на дистрибуцијата според пол кај испитуваната група (n=50) и контролната група (n=30).

### **5.2. Дистрибуција на испитаниците според возраст**

Возраста на испитаниците од испитуваната група се движеше во ранг од 30 до 80 години, додека контролната група ја сочинуваа испитаници на возраст помеѓу 18 до 45 години. Контролната група беше составена од помлади испитаници поради помалата веројатност за присуство на други хронични заболувања, кои би дале повисоки вредности на испитуваниот проинфламаторен маркер TNF- $\alpha$ .

На табела 3 е прикажана средната возраст на испитаниците од испитуваната и контролната група. Просечната возраст на испитаниците од испитуваната група изнесуваше  $65,5 \pm 9,487$  години, а на здравите испитаници  $33,6 \pm 8,783$  години. Врз основа на статистичката анализа се забележува дека постои статистички значајна разлика меѓу средната возраст на испитаниците кај испитуваната и контролната група на ниво  $p < 0,0001$  ( $t = -14,69$ , с.с.=78)

<b>Возраст (години)</b>	<b>Испитувана група (n=50)</b>	<b>Контролна група (n=30)</b>	<b>t (p)</b>
<b>с.в. ± с.д.</b>	65,5 ± 9,487	33,6 ± 8,783	t=-14,69 (с.с.=78) <b>p&lt;0,0001</b>

**Табела 3.** Средна возраст кај испитуваната група (n=50) и контролната група (n=30) и статистичка значајност.

### ***5.3. Дистрибуција на испитаниците според вредности на TNF-α***

На табела 4 е прикажана средната вредност на TNF-α кај испитуваната и контролната група. Средната вредност на TNF-α кај испитаниците од испитуваната група изнесуваше 8,24±2,899 pg/ml, додека кај испитаници од контролната група истата изнесуваше 4,36±2,622 pg/ml. Се забележува дека постои статистички значајна разлика помеѓу овие две средни вредности кај испитуваната група и контролната група на ниво p<0,0001 (t=-6,00, с.с.=78)

<b>TNF-α (pg/ml)</b>	<b>Испитувана група (n=50)</b>	<b>Контролна група (n=30)</b>	<b>t (p)</b>
<b>с.в. ± с.д.</b>	8,24 ± 2,899	4,36 ± 2,622	t=-6,00(с.с.=78) <b>p&lt;0,0001</b>

**Табела 4.** Средна вредност на TNF-α кај испитуваната група (n=50) и контролната група (n=30) и статистичка значајност.

#### 5.4. Дистрибуција на испитаниците според пол во зависност од постигнатите бодови на DNS скалата

На табела 5 е прикажана дистрибуцијата според пол во зависност од DNS скорот кај испитуваната група (n=50). Испитаниците од испитуваната група беа поделени во четири подгрупи врз основа на постигнатиот број поени на DNS скалата: со 1 поен беа 13 испитаници, од нив 6 (12 %) беа мажи, а 7 (14%) беа жени. Со 2 поена беа 17 испитаници и тоа 7 (14 %) беа мажи, 10 (20%) беа жени. Со 3 поени на DNS скалата беа 10 испитаници и тоа 6 (12%) беа мажи, а 4 (8%) беа жени. Десет испитаници имаа 4 поени на DNS скалата со еднаква застапеност на мажите и жените односно по 5 (10%).

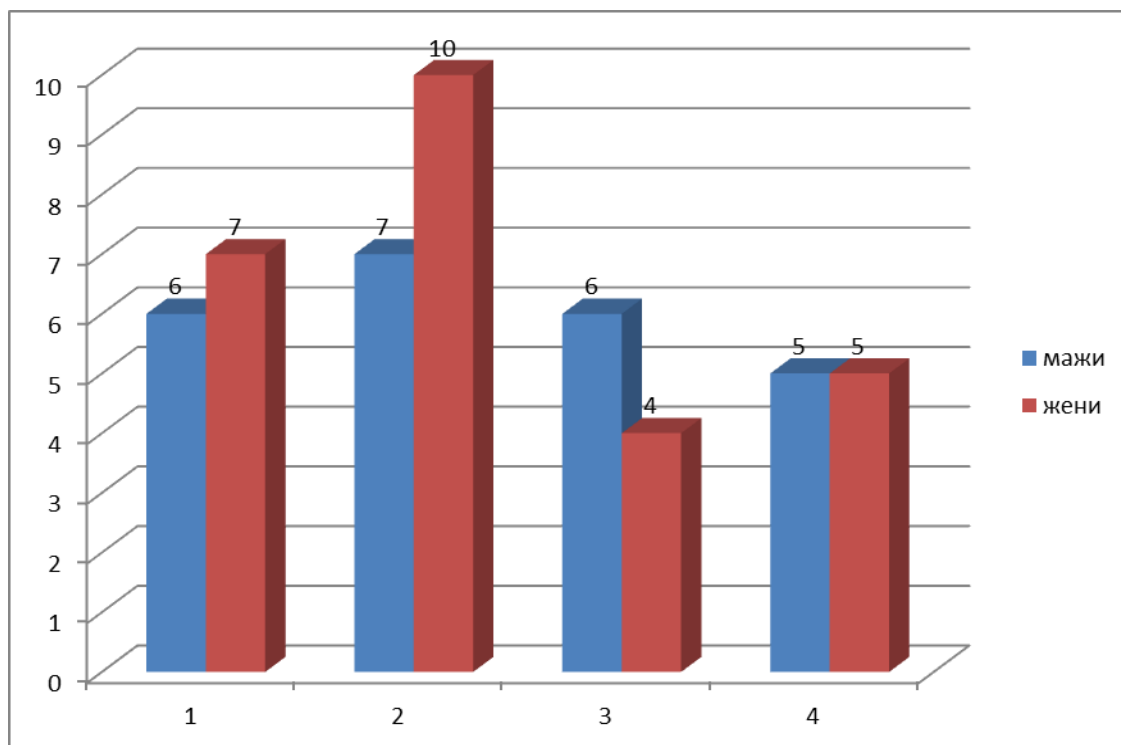
Спроведените статистички анализи покажаа дека не е детектирана статистички значајна разлика ( $p=0.826$ ) во дистрибуцијата на испитаниците според пол во зависност од постигнатите бодови на DNS скалата, односно DNS скорот не зависи од полот.

Пол	DNS score				ФЕТ p
	1	2	3	4	
Мажи	6 (12%)	7 (14 %)	6 (12 %)	5 (10 %)	p=0,826
Жени	7 (14 %)	10 (20 %)	4 (8 %)	5 (10 %)	

**Табела 5.** Дистрибуција по пол во зависност од Diabetic neuropathy symptom score-DNS кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.

Дистрибуцијата според пол во зависност од DNS скорот кај испитуваната група е прикажана со столбчест дијаграм на слика 7.





**Слика 7.** Дистрибуција по пол во зависност од Diabetic neuropathy symptom score- DNS кај испитуваната група (n=50)

### ***5.5 . Дистрибуција на испитаниците според клиничката презентација на дијабетичната периферна невропатија во зависност од DNS скорот***

На табела 6 е прикажана дистрибуцијата според клинички тип на Дијабетична периферна невропатија (ДПН) во зависност од DNS скорот кај испитуваната група (n=50). Дистрибуцијата според клинички тип на ДПН во зависност од DNS скорот кај испитуваната група е прикажана со столбчест дијаграм на слика 8.

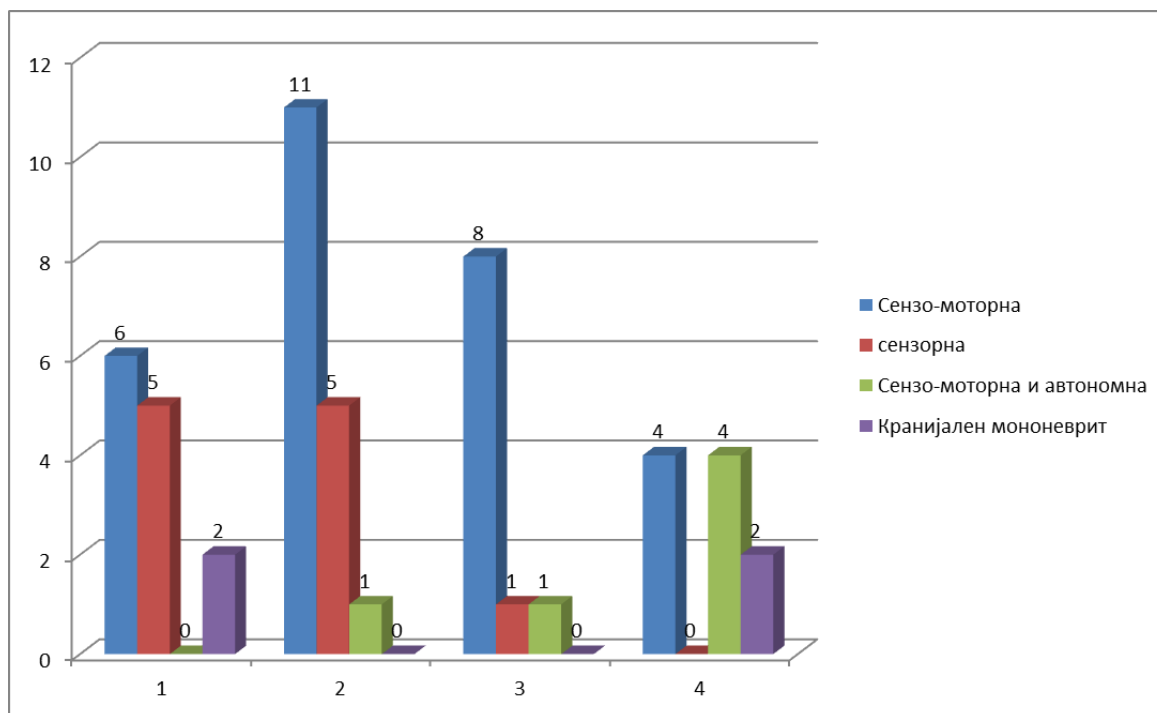
Врз основа на клиничката презентација и присуството на клинички знаци регистрирани при невролошки преглед кај испитаниците од испитуваната група (n=50) беа регистрирани четири форми на дијабетична периферна невропатија (ДПН) и тоа: дијабетична сензомоторна, дијабетична сензорна, дијабетична сензо-моторна и автономна невропатија и кранијален мононевритис.

**Корелација меѓу плазма-концентрациите на тумор-некротичниот фактор алфа и степенот на оштетување на периферните нерви кај дијабетес мелитус тип 2**

Сензомоторна периферна невропатија беше регистрирана кај 29 испитаници (58%), сензорна невропатија имаа 11 испитаници (22%), сензомоторна и автономна невропатија манифестираа 6 испитаници (12%), додека 4 испитаници (8%) имаа кранијален невритис. Врз основа на статистичката анализа се забележува дека постои статистички значајна разлика на ниво  $p=0.0244$ .

Тип на ДПН	DNS score				ФЕТ p
	1	2	3	4	
Сензомоторна	6 (12 %)	11 (22 %)	8 (16 %)	4 (8 %)	<b>p=0,0244</b>
Сензорна	5 (10 %)	5 (10 %)	1 (2 %)	0 (0 %)	
Сензомоторна и автономна	0 (0 %)	1 (2 %)	1 (2%)	4 (8 %)	
Кранијален мононеврит	2 (4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4 %)	

**Табела 6.** Дистрибуција по клинички тип на Дијабетична периферна невропатија во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност



**Слика 8.** Дистрибуција по клинички тип на Дијабетична периферна невропатија во зависност од DNS скорот кај испитуваната група (n=50)

### **5.6. Дистрибуција на испитаниците според типот на лезија во зависност од DNS скорот**

На табела 7 е прикажана дистрибуцијата според типот на лезија во зависност од DNS скорот кај испитуваната група (n=50).

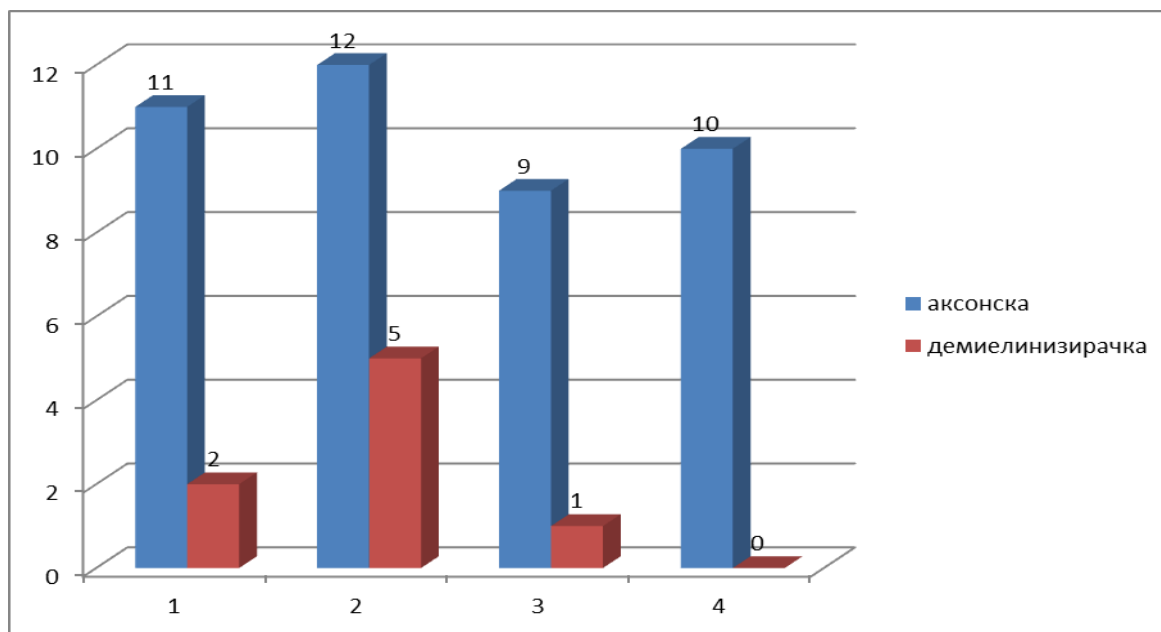
Врз основа на електрофизиолошките испитувања кај 42 (84%) испитаници беше регистрирана примарно аксонска дегенерација на периферните нерви, додека кај 8 (16%) испитаници неврогената лезија беше од доминантно демиелинизирачка природа.

Спроведената статистичка анализа на дистрибуцијата според тип на лезија во зависност од DNS скорот кај испитуваната група забележува дека не постои статистички значајна разлика ( $p=0.276$ ). Тоа значи дека типот на лезија не влијае врз DNS скорот, односно врз тежината на клиничката слика на дијабетичната периферна невропатија.

Тип на лезија	DNS score				ФЕТ p
	1	2	3	4	
Аксонска	11(22 %)	12(24 %)	9(18 %)	10(20 %)	p=0,276
демиелинизирачка	2(4 %)	5(10 %)	1(2%)	0(0 %)	

**Табела 7.** Дистрибуција по тип на лезија во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност

Дистрибуцијата според типот на лезија во зависност од DNS скорот кај испитуваната група е прикажана со столбчест дијаграм на слика 9.



**Слика 9.** Дистрибуција по тип на лезија во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50).

### **5.7. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на TNF- $\alpha$ во зависност на DNS скорот**

На табела 8 е прикажана средната вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од постигнатите бодови на DNS скалата кај испитуваната група (n=50). Врз основа на статистичката анализа детектирана е статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на TNF- $\alpha$  за различен DNS скор на ниво  $p=0.005$  ( $F=4,84$ , c.c.=49).

DNS score	TNF- $\alpha$ (pg/ml) средна вредност $\pm$ с.д.	n	F (p)
1	6,138 $\pm$ 1,975	13	<b>4,84(c.c.=49)</b>  <b>p=0,005</b>
2	8,352 $\pm$ 3,058	17	
3	8,83 $\pm$ 3,27	10	
4	10,18 $\pm$ 1,503	10	

**Табела 8.** Средна вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.

### 5.8. Дистрибуција на испитаниците според просечното времетраење на дијабетес мелитус во зависност од DNS скорот

На табела 9 е прикажано просечното време на траење на дијабетес во зависност на DNS скорот кај испитуваната група.

Времетраење на дијабетесот кај испитаниците од испитуваната група се движеше во ранг од една до 40 години. Просечното времетраење на дијабетесот кај испитаници кои имаа еден бод (n=13) на DNS скалата изнесуваше 15,92 години; за испитаниците со DNS скор 2 (n=17) беше 13,88 години. Кај испитаниците кои имаа 3 бодови на DNS скорот (n=10) дијабетесот траеше просечно 16,5 години, додека кај оние со 4 бодови (n=10) на DNS скорот просечното траење на дијабетот беше 21 година.

Што се однесува до влијанието на времетраењето на дијабетесот врз DNS скорот, статистичките анализи покажаа дека не постои статистички значајна разлика помеѓу просечното време на траење на дијабетес за различен DNS скор (p=0,151). DNS скорот не зависи од просечното времетраење на дијабетесот.

DNS score	Траење на дијабетес (години) средна вредност $\pm$ с.д.	n	F (p)
1	15,92 $\pm$ 8,067	13	1,80(с.с.=49) p=0,161
2	13,88 $\pm$ 7,034	17	
3	16,5 $\pm$ 3,922	10	
4	21 $\pm$ 10,749	10	

**Табела 9.** Средна вредност на траење на дијабетес во години во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.

### 5.9. Дистрибуција на испитаниците според просечната возраст во зависност од DNS скорот кај испитуваната група

На табела 10 е прикажана просечната возраст во зависност од DNS скорот кај испитуваната група (n=50).

Просечната возраст на испитаниците од испитуваната група кои имаа еден бод на DNS скалата (n=13) беше 65,8 години, на испитаниците со скор 2 (n=17) изнесуваше 64,7 години; 67,6 години беше просечната возраст на испитаниците кои имаа 3 бодови на DNS скалата (n=10) и 64,3 години беше просечната возраст на испитаниците кои имаа 4 бодови на DNS скалата (n=10).

Спроведените статистички анализи покажаа дека не е детектирана статистички значајна разлика помеѓу просечната возраст за различен DNS скор (p=0,861), односно DNS скорот не зависи од возраста на испитаниците.

DNS score	Возраст (години) средна вредност $\pm$ с.д.	n	F (p)
1	65,846 $\pm$ 12,528	13	0,25(с.с.=49) p=0,861
2	64,705 $\pm$ 10,492	17	
3	67,6 $\pm$ 4,903	10	
4	64,3 $\pm$ 7,288	10	

**Табела 10.** Средна возраст во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.

### 5.10 . Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на моторната брзина на спроведување на *n.medianus* во зависност од DNS скорот

На табела 11 е прикажана средната вредност на моторни брзини на спроведување за *n. medianus* во зависност од DNS скорот кај испитуваната група. Кај испитаниците кои постигнаа еден бод на DNS скалата просечната моторна брзина на спроведување на *n. medianus* изнесуваше 49,23 m/sec. Испитаниците со 2 бодови на DNS скалата имаа просечна брзина на спроведување на *n.medianus* од 47,13 m/sec; 51,81 m/sec беше просечната брзина на спроведување за испитаниците кои имаа 3 бодови, а оние кои имаа 4 бодови на DNS скалата имаа просечни брзини на спроведување за *n.medianus* од 44,21 m/sec.

Статистичките анализи покажаа дека не е детектирана статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на моторни брзини на спроведување за *n. medianus* за различен DNS скор ( $p=0,356$ ). Ова укажува дека моторната брзина на спроведување на испитуваниот нерв не влијае врз DNS скорот.

DNS score	<i>n. medianus</i> (MBS-m/sec) средна вредност $\pm$ с.д.	n	F (p)
1	49,23 $\pm$ 8,34	13	1,11 (с.с.=49)  p=0,356
2	47,13 $\pm$ 7,80	17	
3	51,81 $\pm$ 4,04	10	
4	44,21 $\pm$ 16,64	10	

**Табела 11.** Средна вредност на моторни брзини на спроведување (MBS) на *n medianus* во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50)и статистичка значајност.

### 5.11. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на моторната брзина на спроведување на *n.ulnaris* во зависност од DNS скорот

На табела 12 е прикажана средната вредност на моторните брзини на спроведување за *n. ulnaris* во зависност од DNS скорот кај испитуваната група.

Просечната моторна брзина на спроведување на *n.ulnaris* кај испитаниците со постигнат еден бод на DNS скалата изнесуваше 51,18 m/sec; за оние кои имаа два бода истата изнесуваше 47,50 m/sec. Испитаниците со 3 бода на DNS скалата имаа просечни вредности на спроводната брзина од 49,29 m/sec, додека кај оние со 4 бода просечната моторна брзина на спроведување изнесуваше 52,13 m/sec.

Спроведените статистички анализи покажаа дека не е детектирана статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на моторните брзини на спроведување за *n.ulnaris* за различен DNS скор ( $p=0,952$ ), што укажува дека моторната брзина на спроведување на испитуваниот нерв не влијае врз DNS скорот.

DNS score	<i>n.ulnaris</i> (MBS-m/sec) средна вредност $\pm$ с.д.	N	F (p)
1	51,18 $\pm$ 10,31	13	1,63 (с.с.=49)  p=0,196
2	47,50 $\pm$ 5,61	17	
3	46,29 $\pm$ 7,06	10	
4	52,13 $\pm$ 5,94	10	

**Табела 12.** Средна вредност на моторни брзини на спроведување (MBS) на *n. ulnaris* во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.



**5.12. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на моторната брзина на спроведување на n.peroneus profundus во зависност од DNS скорот**

На табела 13 е прикажана средната вредност на моторни брзини на спроведување за n.peroneus profundus во зависност од DNS скорот кај испитуваната група. Кај испитаниците со еден бод на DNS скалата просечната моторна брзина на спроведување на n. peroneus profundus изнесуваше 42,21 m/sec. Оние кои постигнаат 2 бода на DNS скалата имаа просечна спроводна брзина од 37,32 m/sec; 37,22 m/sec беше просечната брзина на спроведување кај испитаниците со 3 бода на DNS скалата. Испитаниците кои имаа 4 бодови имаа просечна брзина на спроведување од 35,33 m/sec.

Врз основа на спроведените статистички анализи не беше детектирана статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на моторни брзини на спроведување за n.peroneus за различен DNS скор ( $p=0,434$ ). Моторната брзина на спроведување на испитаниот нерв не влијае врз DNS скорот.

DNS score	n.peroneus (MBS-m/sec) средна вредност $\pm$ с.д.	N	F (p)
1	42,21 $\pm$ 8,21	13	0,93 (с.с.=49)  p=0,434
2	37,32 $\pm$ 4,95	17	
3	37,22 $\pm$ 13,73	10	
4	35,33 $\pm$ 15,92	10	

**Табела 13.** Средна вредност на моторни брзини на спроведување (MBS) на n. peroneus profundus во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност

**5.13. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на сензорната брзина на спроведување на n.medianus во зависност од DNS скорот**

На табела 14 е прикажана средната вредност на сензорните брзини на спроведување за n.medianus во зависност од DNS скорот кај испитуваната група. Кај испитаниците со еден бод на DNS скалата просечната сензорна брзина на спроведување на n.medianus изнесуваше 35,13 m/sec. Кај оние со 2 бода просечната брзина изнесуваше 34,34 m/sec. Испитаниците со постигнати 3 бодови на DNS скалата имаа просечна брзина од 44,50 m/sec, 47,86 m/sec беше спроводната брзина за испитаниците со 4 бодови на DNS скалата.

Статистичките анализи покажаа дека не е детектирана статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на сензорните брзини на спроведување за n.medianus за различен DNS скор ( $p=0,223$ ). Резултатите укажуваат дека сензорната брзина на спроведување на испитуваниот нерв не влијае врз DNS скорот.

DNS score	n.medianus (SBS-m/sec) средна вредност $\pm$ с.д.	n	F (p)
1	35,13 $\pm$ 23,36	13	1,51 (с.с.=49) $p=0,223$
2	34,34 $\pm$ 20,67	17	
3	44,50 $\pm$ 17,55	10	
4	47,86 $\pm$ 7,93	10	

**Табела 14.** Средна вредност на сензорните брзини на спроведување (SBS) на n.medianus во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.

#### **5.14. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на сензорната брзина на спроведување на n.ulnaris во зависност од DNS скорот**

На табела 15 е прикажана средната вредност на сензорните брзини на спроведување за n.ulnaris во зависност од DNS скорот кај испитуваната група.

Кај испитаниците со еден бод на DNS скалата просечната сензорна брзина на спроведување на n.ulnaris изнесуваше 39,24 m/sec; кај оние со 2 бода истата беше 40,21 m/sec. Испитаниците со 3 бода на DNS скалата имаа просечна спроводна брзина од 36,15 m/sec, додека регистрираната сензорна брзина за n ulnaris за оние со 4 бода изнесуваше 36,29 m/sec.

Врз основа на спроведените статистички анализи може да се заклучи дека не постои статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на сензорните брзини на спроведување за n.ulnaris за различен DNS скор ( $p=0,952$ ). Сензорната брзина на спроведување на испитуваниот нерв не влијае врз DNS скорот.

<b>DNS score</b>	<b>n.ulnaris (SBS-m/sec) средна вредност <math>\pm</math> с.д.</b>	<b>n</b>	<b>F (p)</b>
1	39,24 $\pm$ 21,73	13	0,11 (с.с.=49)  p=0,952
2	40,21 $\pm$ 19,47	17	
3	36,15 $\pm$ 20,80	10	
4	36,29 $\pm$ 25,64	10	

**Табела 15.** Средна вредност на сензорните брзини на спроведување (SBS) на n. ulnaris во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.

### 5.15. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на сензорната брзина на спроведување на n.suralis во зависност од DNS скорот

На табела 16 е прикажана средната вредност на сензорните брзини на спроведување за n.suralis во зависност од DNS скорот кај испитуваната група.

Просечната сензорна брзина на спроведување на n. suralis кај испитаниците со постигнат еден бод на DNS скалата изнесуваше 19,46 m/sec. Кај оние со два бода истата беше 23 m/sec. Испитаниците со 3 бода на DNS скалата постигнаа просечна спроводна брзина од 13,32 m/sec, додека регистрираната сензорна брзина на спроведување кај испитаниците со 4 бода изнесуваше 19,62 m/sec.

Спроведените статистички анализи покажаа дека нема статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на сензорните брзини на спроведување на n.suralis за различен DNS скор ( $p=0,580$ ), односно сензорната брзина на спроведување на испитуваниот нерв не влијае врз DNS скорот.

DNS score	n.suralis (SBS-m/sec) средна вредност $\pm$ с.д.	n	F (p)
1	19,46 $\pm$ 18,87	13	0,66 (с.с.=49)  $p=0,580$
2	23,00 $\pm$ 15,87	17	
3	13,32 $\pm$ 17,35	10	
4	19,62 $\pm$ 17,22	10	

**Табела 16.** Средна вредност на сензорните брзини на спроведување (SBS) на n. suralis во зависност од DNS скор кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.

**5.16. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од полот**

На табела 17 е прикажана средната вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од полот кај испитуваната група. Средната вредност на TNF- $\alpha$  од примерокот крвна плазма кај испитаниците од испитуваната група (n=50) изнесуваше 8,24 pg/ml и тоа 8,05 pg/ml за мажи и 8,40 pg/ml за жени.

Спроведените статистички анализи покажаа дека не постои статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на TNF- $\alpha$  кај мажите и жените (p=0.671). Концентрацијата на TNF- $\alpha$  во крвната плазма не зависи од полот на испитаниците.

Пол	TNF- $\alpha$ (pg/ml) средна вредност $\pm$ с.д.	N	T (p)
Мажи	8,05 $\pm$ 3,27	24	0,43 (с.с.=48) p=0,671
Жени	8,40 $\pm$ 2,56	26	

**Табела 17.** Средна вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од полот кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност

### 5.17. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на TNF- $\alpha$ во зависност од типот на дијабетична периферна невропатија

Просечна вредност на плазма концентрацијата на TNF- $\alpha$  кај испитаниците кои имаа дијабетична сензо-моторна периферна невропатија (n=29) изнесуваше 8,08 pg/ml, кај испитаниците кои имаа дијабетична сензорна периферна невропатија (n=11) изнесуваше 6,81 pg/ml.

Просечната концентрација на TNF- $\alpha$  кај испитаниците со сензомоторна и автономна дијабетична невропатија (n=6) беше 11,2 pg/ml, додека кај оние со кранијален мононевритис (n=4) изнесуваше 8,85 pg/ml.

На табела 18 е прикажана средната вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од типот на дијабетична невропатија кај испитуваната група.

Што се однесува до влијанието на типот на дијабетична периферна невропатија (ДПН) врз средната вредност на TNF- $\alpha$  спроведените статистички анализи покажаа дека постои статистички значајна разлика меѓу средните вредности на TNF- $\alpha$  кај различни типови на дијабетична невропатија на ниво  $p=0.022$  ( $F=3.54$ , c.c.=49)

Тип на дијабетична невропатија	TNF- $\alpha$ (pg/ml) средна вредност $\pm$ с.д.	N	F (p)
Сензомоторна	8,08 $\pm$ 2,67	29	3,54 (c.c.=49) <b>p=0,022</b>
Сензорна	6,81 $\pm$ 2,87	11	
Сензомоторна и автономна	11,2 $\pm$ 1,31	6	
Кранијален мононеврит	8,85 $\pm$ 3,82	4	

**Табела 18.** Средна вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од тип на дијабетична невропатија кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност

### 5.18. Дистрибуција на испитаниците според средната вредност на TNF- $\alpha$ во зависност од типот на неврогена лезија

Испитувано беше и влијанието на типот на неврогена лезија (аксонска или демиелинизирачка) врз концентрациите на TNF- $\alpha$  во примерок крвна плазма.

Просечната концентрација на TNF- $\alpha$  кај испитаниците кај кои со електрофизиолошките иследувања беше регистрирана примарно аксонска лезија (n=42) изнесуваше 8,39 pg/ml, додека концентрацијата на TNF- $\alpha$  кај испитаници со примарно демиелинизирачка лезија (n=8) изнесуваше 7,44 pg/ml.

На табела 19 е прикажана средната вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од типот на неврогена лезија кај испитуваната група. Спроведените статистички анализи покажаа дека не постои статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на TNF- $\alpha$  кај различни типови на лезија (p=0,400).

Тип на лезија	TNF- $\alpha$ (pg/ml) средна вредност $\pm$ с.д.	N	t (p)
Аксонска	8,39 $\pm$ 2,92	42	-0,85 (с.с.=48) p=0,400
Демиелинизирачка	7,44 $\pm$ 2,82	8	

**Табела 19.** Средна вредност на TNF- $\alpha$  во зависност од тип на лезија кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност

**5.19. Линеарна поврзаност на вредностите на TNF-α со брзините на спроведување на испитаните нерви**

На табела 20 е прикажана линеарната поврзаност на вредноста на TNF-α со моторните и сензорните брзини на спроведување на испитаните нерви кај испитуваната група. Статистичката анализа покажа дека не е детектирана статистичка значајност на Пирсоновиот корелациски коефициент  $r$  кај ниту една од моторните и сензорните брзини на спроведување.

	<b>Пирсон корелациски коэф. <math>r</math></b>	<b>Релација</b>	<b>t (p)</b>
n. medianus	-0,103	TNF-α= 9,699 – 0,030 • n medianus	-0,721 (с.с.=48) P=0,474
n. ulnaris	-0,1	TNF-α= 10,125 – 3,841 • n ulnaris	-0,699 (с.с.=48) P=0,488
n. peroneus	-0,178	TNF-α= 10,103 – 4,887 • n peroneus	-1,257 (с.с.=48) P=0,215
n. medianus	0,009	TNF-α= 8,182 + 1,419 • n medianus	6,559 (с.с.=48) P=0,948
n. ulnaris	-0,093	TNF-α= 8,734 – 0,0129 • n ulnaris	0,653 (с.с.=48) P=0,516
n. suralis	0,058	TNF-α= 8,044 + 9.932 • n suralis	0,405 (с.с.=48) P=0,687

**Табела 20.** Корелација меѓу TNF-α и брзините на спроведување на испитаните нерви кај испитуваната група (n=50) и статистичка значајност.



## **6. ДИСКУСИЈА**

### **6.1. Улогата на *TNF- $\alpha$* во патогенезата на дијабетичната периферна невропатија**

Дијабетичната периферна невропатија е најчеста микроваскуларна компликација како кај тип 1 така и кај тип 2 дијабетес мелитус, со тоа што во просек во 30 % од случаите клинички се манифестира како болна невропатија [68]. Дијабетичната невропатија претставува доста хетероген ентитет, не само според клиничката манифестација туку и според пато-хистолошките и патогенетските механизми за нејзиното настанување.

Постојат повеќе различни механизми кои се вклучени во оштетување на периферните нерви кај дијабетичната периферна невропатија, од кои клучната улога ја имаат оксидативниот стрес, инфламацијата и митохондријалната дисфункција. Имено кај лица кои боледуваат од дијабетес мелитус има зголемена експресија на проинфламаторните цитокини како што се С-реактивен протеин, *TNF- $\alpha$*  и *IL-6*.

Хроничната хипергликемија доведува до инфилтрација на цитокини во васкуларното ткиво и на тој начин ја намалува способноста за репарација. Обезноста го зголемува ризикот од развивање на невропатија токму поради фактот што во масното ткиво има зголемена експресија на *TNF- $\alpha$* , кој од своја страна е вклучен во механизмите на инсулинска резистенција.

Во мојата истражувачка студија учествуваа 80 испитаници, поделени во две групи: испитувана група составена од 50 испитаници кои боледуваа од дијабетес мелитус тип 2 и имаа некоја од формите на дијабетична периферна невропатија и контролна група составена од 30 здрави испитаници. Во однос на половата дистрибуција, во испитуваната група ( $n=50$ ) 24 испитаници (односно 48%) беа мажи, 26 испитаници (52%) беа жени.

Возраста на сите испитаници (n=80) изнесуваше од 18 до 80 години и тоа во испитуваната група се движеше во ранг од 30 до 80 години, додека во контролната група се движеше во ранг од 18 до 45 години.

Средната вредност на TNF- $\alpha$  од примерокот крвна плазма кај испитаниците од испитуваната група (n=50) изнесуваше 8,24 pg/ml, додека кај здравите испитаници односно контролната група (n=30) истата изнесуваше 4,36 pg/ml. Резултатите од моето истражување покажуваат дека лицата кои боледуваат од дијабетична периферна невропатија имаат повисоки концентрации на TNF- $\alpha$  во крвната плазма во однос на здравите субјекти односно лицата без дијабетична невропатија.

Наодите од истражувањето се совпаѓаат со оние добиени во другите истражувачки студии.

Имено, во студијата реализирана од страна на Hussain со соработниците во 2013 година биле споредувани серумските концентрации на TNF- $\alpha$  кај испитаниците со и без дијабетична невропатија. Испитаниците биле поделени во три групи. Првата група од 37 испитаници ја чинеле субјекти кои имале дијабетична периферна невропатија со краток период на траење. Втората група од 27 испитаници биле субјекти кај кои дијабетичната периферна невропатија траела подолг период, додека третата група ја чинеле 22 субјекти без периферна невропатија. За дијагностицирање на невропатијата биле користени Скалата на симптоми на невропатија и Скалата за инвалидитет кај невропатии. Со електрофизиолошки иследувања биле опфатени: n.medianus, n. ulnaris, n. peroneus profundus, n. tibialis posterior (од моторните нерви) и n.medianus, n.suralis (од сензитивните нерви).

Резултатите од истражувањето покажале дека испитаниците кои имале дијабетична невропатија имале повисоки серумски концентрации на TNF- $\alpha$  во однос на останатите, со тренд на зголемување со траење на болеста [69].

Во пресечна студија на случај-контрола спроведена од страна на Моhја А со соработниците во 2017 година била испитувана потенцијалната улога на TNF-а во развивање на дијабетична периферна невропатија. Истражувањето било спроведено на примерок од 90 пациенти со дијагностициран тип 2 дијабетес мелитус и 48 здрави испитаници.

Кај испитаниците со дијабетес мелитус биле направени електрофизиолошки иследувања, врз основа на кои биле поделени во две групи. Првата група ја чинеле 60 испитаници со дијагностицирана дијабетична периферна невропатија, додека втората група била составена од 30 испитаници кај кои не била детектирана дијабетична периферна невропатија.

Резултатите од истражувањето покажале дека постои сигнификантна разлика во серумските концентрации на TNF-а кај испитаниците кои имале дијабетична периферна невропатија во однос на здравите субјекти и оние кај кои не била детектирана дијабетична периферна невропатија. Сигнификантна корелација била најдена меѓу нивоата на TNF-а со возраста на пациентите и нивоата на холестерол во крвта. Позитивна корелација била најдена и помеѓу серумските концентрации на TNF-а и клиничката презентација односно бројот на бодови постигнат со користење на скалите за скрининг на дијабетична периферна невропатија и тоа Скалата за невропатски симптоми и Скалата за онеспособеност за невропатии. Што се однесува до поврзаноста на серумските нивоа на TNF-а со електрофизиолошките иследувања во однос на амплитуди на моторните нерви (n tibialis) во ова истражување не била детектирана корелација [70].

Во други истражувачки студии пак не е најдена асоцијација меѓу концентрациите на TNF-а со присуството на дијабетична невропатија.

Herder со соработниците во 2009 година ја испитувале поврзаноста на инфламацијата со дијабетичната периферна невропатија, со анализа на 10 инфламаторни маркери на вкупно 227 испитаници кои боледувале од дијабетес мелитус тип 2.

За скрининг на дијабетична невропатија бил користен Мичигенскиот инструмент за невропатија (англ. Michigan Neuropathy Screening Instrument - MNSI). Во оваа студија бил најден висок степен на асоцијација помеѓу концентрациите на CRP и IL-6 со дијабетична периферна невропатија, односно нивоата на овие два инфламаторни маркери биле повисоки кај испитаниците кои боледувале од периферна невропатија во однос на испитаниците без периферна невропатија [71] .

Бројот на леукоцити, нивоата на серумскиот амилоид А, IL-18, TNF- $\alpha$ , адипонектин, IL-8 и моноцитен хемоатрактантен протеин-1 не се разликувале кај лица со или без невропатија.

Субклиничката инфламација не е ризик фактор само за јавување на тип 2 дијабетес; истата е одговорна и за останатите микро и макроваскуларни компликации, како што се мозочен удар, миокарден инфаркт, нефропатија и ретинопатија [71, 72].

Кога станува збор за поврзаноста на концентрациите на TNF- $\alpha$  во крвната плазма со моторните и сензорните брзини на спроведување на испитаните нерви, во моето истражување не беше најдена корелација кај ниту една од моторните и сензорните брзини на спроведување. Односно, зголемената плазма концентрација на TNF- $\alpha$  како проинфламаторен цитокин не влијае врз неврографските карактеристики на периферните нерви. Меѓутоа, во некои од објавените истражувачки студии најдена е корелација меѓу концентрацијата на TNF- $\alpha$  и брзините на спроведување на периферните нерви.

Matsuda со соработниците во 2004 година го испитувале влијанието на адипоцитокините во патогенезата на дијабетичната периферна невропатија. Во истражувањето биле вклучени 105 пациенти со тип 2 дијабетес мелитус, а испитувани биле концентрациите на лептин, TNF- $\alpha$  и адипонектин со ELISA техника и електрофизиолошките карактеристики на испитуваните нерви (n.medianus, n.ulnaris n.tibialis). Истражувањето покажало дека главни фактори кои посредуваат во дијабетичната невропатија биле зголемените нивоа на глукоза и времетраењето на дијабетесот.

Што се однесува до поврзаноста на брзините на спроведување на испитаните нерви и концентрациите на TNF-а била најдена корелација и тоа поизразено кај сензорните во однос на моторните нерви. Ова ја потврдува улогата на адипоцитокините не само во настанување на дијабетична ангиопатија, туку и на дијабетичната невропатија [73, 74].

За процена на тежината односно степенот на оштетување на периферните нерви кај испитаниците од испитуваната група (n=50) беа користени клинички и неврофизиолошки тестови.

Клинички „тежината“ на дијабетичната периферна невропатија се проценуваше врз основа на присутните симптоми (со користење на Скалата за симптоми на дијабетична невропатија-DNS) и знаци за дијабетична невропатија, регистрирани со невролошки преглед. Врз основа на клиничката презентација и присуството на клинички знаци регистрирани при невролошки преглед кај испитаниците од испитуваната група (n=50) беа регистрирани четири форми на дијабетична периферна невропатија и тоа: дијабетична сензомоторна, дијабетична сензорна, дијабетична сензомоторна и автономна невропатија и кранијален мононевритис.

Бројни студии ја покажуваат валидноста на овој симплифициран систем за бодување особено за дијагностицирање на дистална дијабетична полиневропатија.

Meijer JW со соработниците во 2002 година ги споредувал карактеристиките на најчесто користените скали за бодување и скрининг на дијабетична периферна невропатија- Скалата на невропатски симптоми (NSS) и Скалата за симптоми на дијабетична невропатија-DNS. Истражувањето било направено кај 73 пациенти со дијабетес мелитус, од кои 24 биле со дијабетес тип 1 додека 49 биле со дијабетес мелитус тип 2. Просечната возраст на испитаниците била 57 години, а просечното времетраење на дијабетот изнесувал 15 години.

Истражувањето покажало дека и двете скали ги задоволуваат клиничките стандарди, меѓутоа DNS скалата била поедноставна за клиничка употреба, со што е потврдена нејзината валидност за скрининг на дијабетична периферна невропатија [75].

Во студијата реализирана од страна на Asad A со соработниците во 2009 година било споредувано значењето на електрофизиолошките студии и системите за скрининг на асимптоматска и симптоматска дијабетична периферна невропатија. Истражувањето било спроведено на 60 испитаници со дијабетес мелитус, од кои 30 биле со клинички манифестна дијабетична невропатија, а останатите 30 испитаници биле асимптоматски.

За клиничка процена на невропатијата биле користени Скалата за симптоми на дијабетична невропатија и Скалата за екзаминација на дијабетична невропатија. Резултатите од истражувањето покажале дека и двете скали се апликабилни за брза евалуација на дијабетична невропатија, меѓутоа неврофизиолошките испитувања се единствена алатка за дијагностицирање на субклинички форми на невропатија [76].

Што се однесува до влијанието на клиничкиот тип на дијабетична периферна невропатија врз средната вредност на TNF- $\alpha$ , во мојата истражувачка студија повисоки концентрации на TNF- $\alpha$  во примерок крвна плазма имаа испитаниците кај кои клинички доминираше афекција на автономниот нервен систем и кранијалните нерви. Најголем процент од испитаниците кај кои беше дијагностицирана дијабетична автономна невропатија и кранијален мононевритис имаа максимален број на бодови на DNS скалата.

Корелацијата меѓу концентрациите на TNF- $\alpha$  со тежината на дијабетичната периферна невропатија е докажана во бројни истражувачки студии.

Во пресечна студија на случај-контрола изведена од страна на Purwata во 2011 година била испитувана потенцијалната улога на TNF- $\alpha$  и азотен моноксид (NO) во патогенезата на болната дијабетична невропатија.

Во студијата биле вклучени 110 субјекти кои боледувале од дијабетична периферна невропатија, од нив 59 (случај) страдале од болна дијабетична невропатија, а останатите 51 (контрола) биле со безболна дијабетична невропатија. Концентрациите на TNF- $\alpha$  во примерок крвна плазма и имунореактивноста за индуцибилна NO-синтаза (iNOS) биле повисоки кај пациенти кои имале посилна болка и повисок скор на визуелната аналогна скала. Притоа била најдена статистички значајна разлика помеѓу концентрациите на TNF- $\alpha$ , имунореактивноста на iNOS и TNF- $\alpha$  кај лицата со умерена и тешка болка [77].

Empl со соработниците во 2001 година ја испитувал улогата на TNF- $\alpha$  во механизмите на невропатската болка. Во нивната истражувачка студија биле анализирани 20 примероци од биопсија на периферен нерв, од кои 10 биле од испитаници со болна невропатија, останатите 10 од испитаници со безболна невропатија. Со помош на имунохистохемиски методи била анализирана експресијата на TNF- $\alpha$  во биоптичкиот материјал со користење на флуоресцентна микроскопија [78].

Дополнително, нивоата на солубилниот TNF- $\alpha$  рецептор I (sTNF-RI) во плазмата биле испитувани кај 24 пациенти со невропатија, од кои 16 биле со болна дијабетична невропатија додека 8 биле без болка. Пациентите со болни невропатии имале посилна имунореактивност на TNF- $\alpha$  во миелинските-Schwann клетки во споредба со пациенти со безболна невропатија. Иако не постоела статистички значајна разлика во нивоата на солубилниот рецептор (sTNF-RI) помеѓу пациентите со болна (n=16) и безболна невропатија (n=8) сепак пациентите со механичка алодинија (n=9) имале покачени серумски нивоа на sTNF-RI во споредба со пациенти без алодинија (n=15).

Заклучокот од оваа истражувачка студија бил дека експресијата на TNF- $\alpha$  на Schwann-овите клетки може да биде со нагорна регулација кај болните невропатии. Зголемувањето на sTNF-RI кај пациенти со централно посредувана механичка алодинија сугерира дека системските нивоа на sTNF-RI може да влијаат на централните механизми за невропатска болка [78].

Во опсервациона пресечна студија, реализирана од страна на Debarati Chanda со соработниците во 2013 година, била испитувана поврзаноста меѓу нивоата на TNF- $\alpha$  и тежината на дијабетичната периферна невропатија.

Во студијата биле вклучени 47 субјекти поделени во три групи: 15 испитаници ја сочинувале здравата контролната група; 12 испитаници била контролната група на пациенти со тип 2 дијабетес без дијабетична периферна невропатија додека останатите 20 испитаници припаѓале на групата со дијагностицирана болна дијабетична периферна невропатија. Кај сите била одредена концентрација на TNF- $\alpha$  во примерок крвна плазма.

Резултатите од оваа истражувачка студија покажале дека највисоки концентрации на TNF- $\alpha$  биле детектирани кај испитаниците кои имале болна дијабетична периферна невропатија. Лицата со дијабетес кои не страдале од дијабетична невропатија истотака имале повисоки плазма концентрации на TNF- $\alpha$  во однос на здравите субјекти [79].

Што се однесува до поврзаноста на DNS скорот со моторните и сензорните брзини на спроведување на испитаните нерви, во мојата истражувачка студија не беше најдена позитивна корелација меѓу овие два параметри, односно тежината на клиничката слика кај испитаниците со дијабетична периферна невропатија не зависи од брзините на спроведување на испитаните периферни нерви.

Во други истражувачки студии е најдена поврзаност меѓу клиничката презентација (со користење на Скали за скрининг на невропатија) со електрофизиолошките иследувања.

Young An J со соработниците во 2008 година ја испитувале поврзаноста меѓу брзината на спроведување на медијалниот плантарен нерв и DNS скорот кај пациенти со дијабетес мелитус.

Во студијата биле вклучени 50 испитаници со дијабетес (од кои 35 биле асимптоматски, додека 15 биле со симптоми за дијабетична периферна невропатија) и 19 здрави испитаници, сите до 70 годишна возраст.



Резултатите покажале дека кај сите 19 здрави субјекти биле регистрирано нормални неврографски параметри на медијалниот плантарен нерв. Кај 7 од вкупно 15 симптоматски испитаници и кај 5 од вкупно 35 асимптоматски испитаници воопшто не бил регистриран акционен потенцијал над испитаниот нерв. Амплитудите на испитаните нерви корелирале со бодовите на DNS скалата [80].

Muller со соработниците во 2002 година во популационо базирана студија изведена во Јужна Германија ги испитувале имунолошките абнормалности кај лицата со нарушена глюкозна толеранција, кои имале зголемен ризик за развивање на тип 2 дијабетес мелитус [81].

Во студијата биле вклучени 1653 лица, на возраст од 55 до 74 години. Испитаниците кои немале дијагностициран дијабетес биле подложени на орален глюкоза толеранс тест-ОГТТ. Случајно избраните субјекти со нарушена глюкозна толеранција (вкупно 80) биле споредувани со лица кои не боледувале од дијабетес – контролна група од 77 испитаници и 152 пациенти со дијабетес тип 2 од истата популациона база на примероци. Со користење на ELISA техниката биле одредувани концентрациите на проинфламаторните цитокини: IL-6, C-реактивен протеин, TNF  $\alpha$ , амилоид А протеин и фибриноген.

Во оваа истражувачка студија биле најдени повисоки серумски концентрации на IL-6, C-реактивен протеин, амилоид А протеин и фибриноген кај лицата со нарушена глюкозна толеранција и дијабетес мелитус тип 2 во однос на здравите (контролните) субјекти. Што се однесува до концентрациите на TNF  $\alpha$  и неговите рецептори-TNF-R60 и sTNF-R8 не била најдена статистички значајна разлика кај испитаниците со нарушена глюкозна толеранција и здравите субјекти.

Масното ткиво е значаен дел од ендокриниот систем во кој се содржани мноштво биоактивни супстанции, кои со заедничко име се именуваат како адипоцитокени. Во оваа група спаѓаат: лептин, адипонектин, TNF- $\alpha$  и моноцитен хемоатрактантен протеин-1. Нарушената регулација во продукцијата на проинфламаторните и антиинфламаторните адипоцитокени е основата на јавување на метаболниот синдром [82].

Во истражувањето изведено од страна на Suganami со соработниците во 2005 година на клеточни култури на 3T3-L1 адипоцити и макрофагната клеточна линија RAW264 била забележана нагорна регулација на проинфламаторни цитокини, како што е TNF- $\alpha$  и надолна регулацијата на антиинфламаторниот цитокин адипонектин. Со додавање на неутрализирачки антитела насочени кон TNF- $\alpha$ , биле инхибирани воспалителните промени во 3T3-L1 клеточна линија, што укажува на фактот дека TNF- $\alpha$  е главен медијатор на воспаление кај адипоцитите [83].

Во 2006 година Gao со соработниците ја испитувале потенцијалната улога на TNF- $\alpha$  врз ендотелијалната дисфункција кај тип 2 дијабетес. Истражувањето било направено на стаорци и тоа контролната група ја чинеле хетерозиготни стаорци (m Lepr<sup>db</sup>), хомозиготни стаорци со тип 2 дијабетес (Lepr<sup>db</sup>) и хомозиготи Lepr<sup>db</sup> негативни за TNF (db<sup>TNF-</sup>/db<sup>TNF-</sup>) поставени на нормална исхрана за глодари. Со вкрстување на хомозиготните стаорци со дијабетес Lepr<sup>db</sup> со стаорци негативни за TNF (db<sup>TNF-</sup>/db<sup>TNF-</sup>) биле добиени хетерозиготни Lepr<sup>db</sup> стаорци и хомозиготи (TNF<sup>-/-</sup>). Токму таа линија - хомозиготи за TNF (db<sup>TNF-</sup>/db<sup>TNF-</sup>) го носеле фенотипот за дијабетес (имале хипергликемија и биле обезни). Обезните стаорци од вториот круг на одгледување (Lepr<sup>db</sup> и TNF<sup>-/-</sup>) се користеле во експериментални цели. Плазма концентрацијата на TNF- $\alpha$  била повисока кај стаорци со дијабетес тип 2 во однос на хетерозиготната контрола.

Со методот на Полимераза верижна реакција- PCR и Western blot тестовите била најдена поголема експресија на mRNA, TNF- $\alpha$  и на нуклеарниот фактор карпа B (NF- $\kappa$ B) кај стаорци со дијабетес тип 2 во однос на хетерозиготната контрола. Испитувањата понатаму покажале дека TNF- $\alpha$  во поголема концентрацијата е застапен во васкуларните мазни мускулни клетки од срцето, повеќе од макрофагите и ендотелните клетки.

Заклучокот од истражувањето било дека крајните продукти на гликација и нуклеарниот фактор карпа B (NF- $\kappa$ B), играат голема улога во експресија на TNF и зголемувањето на нивоата на циркулирачкиот или локално продуцираниот TNF на васкуларниот ендотел.

Преку зголемената продукција на кислородни радикали и намалената активност на антиоксидансите се објаснува дисфункцијата на ендотелот кај тип 2 дијабетичните стаорци [84].

Yamaoka со соработниците во 2011 година ја испитувале потенцијалната улога на TNF- $\alpha$  во патогенезата на дијабетичната невропатија. Истражувањето било извршено на стаорци, кај кои со помош на стрептозотоцин бил индуциран дијабетес мелитус.

Притоа биле користени див тип на стаорци како и TNF- $\alpha$  негативни стаорци (каде TNF бил инактивиран генетски) или со додавање на моноклонални антитела. Концентрациите на TNF- $\alpha$  биле мерени во ганглионите на дорзалните корени од рбетниот мозок, додека функцијата на периферните нерви била иследувана со мерење на моторните и сензорните брзини на спроведување. Биле правени и цитолошки анализи со мерење на густината на интрадермалните нервни влакна.

TNF- $\alpha$  позитивните дијабетични стаорци имале абнормалности во неврофизиолошките тестови, како и промени во густината на интрадермалните нервни влакна. Недијабетичните и дијабетичните TNF- $\alpha$  негативни стаорци немале абнормални неврофизиолошки тестови. Еднократно инјектирање на infliximab кај TNF- $\alpha$  позитивните стаорци довело до подобрување на биохемиските параметри и електрофизиолошките тестови по само 4 недели.

Заклучокот од истражувањето бил дека Infliximab (агенс кој моментално е во клиничка употреба), е ефикасен во намалување на дејството и експресијата на TNF- $\alpha$  и подобрувањето на дијабетичната невропатија кај стаорците [85].

Бројни истражувања ја потврдуваат позитивната корелација помеѓу нивоата на адипонектинот со инсулинската резистенција. Наспроти тоа, зголемената инсулинска сензитивност доведува до намалена експресија на рецептори за TNF- $\alpha$  [86].

Salmenniemi и соработниците во 2002 година вршеле испитување на поврзаноста на адипонектинот со оксидативните процеси во метаболизмот на глукоза и липиди, енергетската потрошувачка, инсулинската сензитивност и висцералната дебелина, со користење на техниките на еугликемија и индиректна калориметрија, а за проценка на волуменот и дистрибуцијата на абдоминалната маст била користена компјутерска томографија.

Студијата била извршена на 158 потомци на пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и 20 здрави контролни субјекти. Заклучокот од истражувањето бил дека нивоата на адипонектин биле пониски кај потомците на лицата со дијабетес во однос на контролната група. Хипоадипонектинемиската била поврзана со неколку компоненти на метаболичкиот синдром (повисоки нивоа на глукоза и триглицериди, понизок HDL холестерол и висцерална дебелина) како и повисоки нивоа на воспалителни цитокини (IL-6 и IL-1 $\beta$ ) и CRP [87].

González-Clemente JM со соработниците (2005) во пресечна студија ја испитувале улогата на TNF- $\alpha$  во инсулинската резистенција кај тип 1 дијабетес, а со тоа и развивањето на дијабетичната невропатија. Во истражувањето биле вклучени 120 субјекти со тип 1 дијабетес мелитус. Притоа, сите испитаници биле поделени во повеќе групи според полот, возраста, индексот на телесна маса, односот помеѓу обемот на половината и колкот, крвниот притисок, пушење, внесот на алкохол, дозата на инсулин, HbA1c и липидниот профил.

Понатаму било испитувано присуството на дијабетична невропатија (периферна и кардијална автономна), ретинопатија и нефропатија. Кај сите испитаници биле одредувани плазма концентрациите на растворливи фракции на TNF- $\alpha$  рецепторите 1 и 2 (sTNFR1 и sTNFR2), интерлеукин-6, C-реактивен протеин, адипонектин и лептин. Триесет и шест од вкупно 120 испитаници во истражувањето имале дијабетична невропатија, додека 84 испитаници немале невропатија. Субјектите кои имале дијабетична невропатија побарувале повисоки дози на Инсулин, имале повисоки вредности на гликозилиран хемоглобин, а кај нив биле детектирани и повисоки концентрации на TNF- $\alpha$  рецепторите, што упатува на фактот дека TNF- $\alpha$  има голем удел во развивање на дијабетична невропатија и кај тип 1 дијабетес [88].

## **6.2. Критериуми за процена на тежината на клиничка слика на дијабетичната периферна невропатија**

Кога станува збор за процена на тежината на дијабетичната периферна невропатија не е доволно само присуството на симптоми и знаци кои упатуваат на дијабетична невропатија (критериуми за веројатна или можна дијабетична невропатија) туку и неврофизиолошките тестови, особено неврографските испитувања, кои претставуваат и критериум за поставување дијагноза дефинитивна дијабетична невропатија.

Присуството на симптоми и знаци на неврогена лезија, абнормалните неврофизиолошки тестови, други системски нарушувања или намалената функционалност во секојдневниот живот се показатели за тежината на дијабетичната невропатија [89].

Релевантни резултати од спроведените електрофизиолошки анализи (електроневрографија и електромиографија) се добиваат при испитување на моторните и сензитивните нерви на најмалку два екстремитети. Во однос на електрофизиолошките карактеристики невропатијата може да биде аксонска, демиелинизирачка, сензорна, моторна, сензо-моторна итн.

Кај аксонските невропатии доаѓа до оштетување на самите нерви влакна. Електрофизиолошки најпрво се регистрира намалување на амплитудата на SNAP (англ. sensory nerve action potential) кој е сензитивен параметар за загуба на аксоните поради неможност за компензаторна колатерална реинервација. Во поодминатите стадиуми, доколку настане дегенерација на повеќе од 80% од аксоните, се намалуваат амплитудите и на СМАР (англ. compound muscle action potential).

Брзините на спроведување на испитаните нерви обично се нормални или лесно намалени (но не повеќе од 25% од долната референтна граница).

Најчесто се намалени амлитудите на SNAP за n suralis, потоа амлитуда на СМАР на n peroneus et n tibialis, а подоцна се афектирани нервите на рацете [30].

Кај демиелинизирачките лезии се оштетува миелинската обвивка, што влијае на брзината на спроведување долж нервите и нервните корени.

Во овој случај најпрво се јавува продолжување на терминалната латенца и латенцата на Ф бранот, како и намалување на брзините на спроведување, додека амлитудите на SNAP и СМАР долго време остануваат нормални [30].

Според Dyck [90] опишани се неколку степени за тежина на клиничката слика на дијабетична периферна невропатија:

- Степен 0 =нема абнормалност во неврографските наоди, односно брзината на спроведување на испитаните нерви отстапува <95 перцентили од нормалните вредности.

- Степен 1a=абнормалност во неврографските параметри, односно брзината на спроведување на испитаните нерви отстапува за  $\geq 95$  перцентили, во отсуство на симптоми или знаци

- Степен 1b = абнормалност во неврографските параметри како кај стадиум 1a плус присуство на невролошки знаци кои се типични за дијабетична сензорна периферна невропатија, но без симптоми за невропатија.

- Степен 2a =абнормалност на неврографските параметри како во стадиум 1a со или без знаци (но ако се присутни треба да се помалку од оние кај стадиум 2 b) и со типични невропатски симптоми.

- Степен 2 b = абнормалност на неврографските параметри како во стадиум 1a, со умерен степен на слабост (50%) на дорзифлексори на стапала, со или без невропатски симптоми.

### ***6.3. Дефиниција и минимални критериуми за типична дијабетична периферна невропатија***

На Конференцијата за дијабетична невропатија одржана во Сан Антонио 1988 година од страна на Boulton и соработниците, Американската академија за неврологија, Американската асоцијација за електродијагностичка медицина и Американската академија за физикална медицина и рехабилитација биле предложени критериуми за дијабетични невропатии [91, 92].

#### *А) Можна дијабетична сензорна периферна невропатија*

Присуството на невропатски симптоми: хипестезија, позитивни невропатски сензорни симптоми (пр. ноќна вкочанетост, болка, боцкање или жарење), главно во прстите и стапалата или нозете или знаци-симетрично намалување на осетот во дисталните делови или послаб одговор или отсуство на рефлексот на ахиловата тетива.

#### *Б) Веројатна дијабетична сензорна периферна невропатија*

Присуство на комбинација од симптоми и знаци за невропатија вклучувајќи два или повеќе од следните: невропатски симптоми, дистална сензорна хипестезија или ослабени до отсутни рефлекси на ахилова тетива.

#### *В) Потврдена дијабетична сензорна периферна невропатија*

Присуство на абнормалности во неврографските испитувања и симптом/и или знак/знаци за невропатија. Доколку неврографските испитувања се нормални може да се користат мерења за невропатија на тенки влакна (англ small fiber neuropathy).

#### **6.4. Скали за бодирање и скрининг на дијабетична периферна невропатија**

Постојат повеќе системи кои се користат во клиничката пракса за дијагноза и скрининг на дијабетична периферна невропатија:

- *Скала за бодирање на невропатија* -англ. Neuropathy symptom score (NSS) се базира на присуство на симптоми од типот на мускулна слабост, сензорни нарушувања, автономна дисфункција и истиот се состои од 17 категории. NSS скор  $\geq 1$  упатува на постоење на абнормалност [93, 94].

- *Профил на невропатски симптоми* -англ. Neuropathy symptom profile (NSP) содржи 34 тест категории.

\*Овие два системи се општи и се однесуваат генерално за сите типови на невропатии и истите не се специфични за дијабетична периферна невропатија.

- *Скала на симптоми на дијабетична невропатија* англ. Diabetic neuropathy symptom score (DNS) е симплифициран скоринг систем во кој се проценува болка, вкочанетост, пецкање и присуство на атаксија. Максималниот скор е 4 бода; еден или повеќе бодови упатува на невролошка абнормалност [95].

- *Скалата за онеспособеност кај невропатии* англ. Neuropathy disability score (NDS)-подразбира евалуација на мускулна сила, афекција на кранијални неври, губиток на рефлекси и губиток на сензибилитет. Во клиничката пракса почесто се користи ревидирана NDS која вклучува анализа на рефлекс на ахилова тетива, испитување на вибрационен осет, допир и температурна дискриминација на двете страни од палецот на стапалото. Максималниот скор е 10 бода, а скор  $\geq 6$  укажува на присуство на невролошка абнормалност [96].



-*Екзаминација на дијабетична невропатија*- е една од често користените скали во рутинската клиничка пракса. Во овој преглед се испитува само десните екстремитети, а максималниот резултат е 16 бода. Оваа скала се користи и во рутинската клиничка пракса [97, 98].

-*Клиничка невролошка екзаминација* англ. Clinical neurological examination (CNE) е сложен систем за скорирање, кој опфаќа испитување на сензорни знаци и рефлекси на долните екстремитети. Во овој систем е вклучено клиничко тестирање на сензорната дисфункција на стапалата (со одредување на анатомското ниво под кое се нарушува чувството на допир), мускулната сила на стапалата и рефлексот на ахилова тетива. Максималниот скор е 33 односно 37 бода (со оглед дека постојат две верзии од оваа скала) [99].

-*Michigan neuropathy screening instrument (MNSI)*-содржи два дела. Едниот го сочинува прашалник од 15 прашања кои се однесуваат на присуството на позитивни или негативни сензитивни симптоми, мускулни крампи, мускулна слабост, улкус на стапалата, ранички или ампутација. Притоа повеќе од 7 бодови на прашалникот упатуваат на присуство на невропатија. Вториот дел од инструментот е екзаминација на стапалата кој опфаќа: изглед на стапалата, присуство на улцери, испитување на Ахилев рефлекс и тест со вибрации од 128 Hz. Максималниот скор е 8 поени и се изведува на двете нозе одделно [100].

-*Toronto clinical scoring system (TCSS)* се состои од три дела-скор на симптоми, скор на рефлекси и на сензибилитет. Максималниот број на поени е 19. Со користење на овој систем дијабетичната невропатија се класифицира во неколку категории и тоа: од нула до 5 бода-значи отсуство на дијабетична невропатија; 6 до 8 бода означува лесна форма, 9 до 11 бода укажува на умерена форма и 12 до 19 бода означува тешка форма на дијабетична невропатија [101].

Овој скоринг систем често се користи кај лица со тип 2 дијабетес мелитус за испитување на преваленца на болна дијабетична периферна невропатија [102].

### **6.5. Препораки за скрининг на дијабетична периферна невропатија според Американското здружение за Дијабетес**

- Сите пациенти непосредно по поставување на дијагноза за diabetes mellitus tip II и после 5 години од дијагностицирање на diabetes mellitus tip I мораат да се подложат на скрининг за дијабетична периферна невропатија [103, 104] .

- Скрининг треба да се направи и за пациентите кои имаат преддијабетес со симптоми на периферна невропатија

- Скринингот се состои од следните тестови: испитување со боцкање (pinprick), температурна дискриминација, рефлекс на ахилова тетива и испитување на вибрации со користење звучна вилушка-128 Hz или фин допир (10g монофиламентен тест).

- Електрофизиолошките тестови се неопходни за скрининг освен во случаите на атипична клиничка слика, несигурна дијагноза или суспекција за друга етиологија на периферната невропатија.

- Сите пациенти со дијабетес мелитус тип 1 (после 5 години од поставување на дијагнозата) и непосредно по дијагностицирање на дијабетес мелитус тип 2 треба еднаш годишно да се тестираат и следат за евентуално постоење на дијабетична периферна невропатија со медицинска историја и едноставни клинички тестови.

Абнормалните електрофизиолошки тестови (брзини на спроведување на испитаните нерви), во комбинација со присуство на симптоми или знаци се неопходни за поставување на дефинитивна дијагноза за дијабетична периферна невропатија [105].

Од друга страна, абнормалности во брзините на спроведување на испитаните нерви, во отсуство на симптоми или знаци се доволни за дијагноза на субклиничка дијабетична невропатија [106].

### ***6.6. Сегашни и идни терапевтски пристапи во третман на дијабетичната периферна невропатија***

Познавањето на улогата на инфламацијата во патогенезата на дијабетичната невропатија и невропатската болка дава можности за идни терапевтски стратегии во лекување на оваа микроваскуларна компликација на дијабетесот. Во 2013 година од страна на Li Y со соработниците бил испитуван терапевтскиот ефект на Curcumin (екстракт од Curcumina longa) како природна супстанца која поседува антитуморски и антиинфламаторни својства, особено со неговата способност да ја премине крвномозочната бариера [107].

Истражувањето било изведено на стаорци, од кои кај 24 бил индуциран дијабетес со интраперитонеално инјектирање на Стрептозотоцин, додека други 24 глувчиња биле здрава контролна група. Дванаесет стаорци од секоја група добиле 60 mg/kg орален куркумин дневно во текот на 28 дена, останатите примале 0.5% натриум carboxymethylcellulose. На 7-от, 14-от, 21-от и 28-от ден биле тестирани на механичка алодинија (со von Frey влакна) и термичка хипералгезија со примена на зрачна топлина. Маркерите за воспаление биле анализирани во дорзалните рогови на 'рбетниот мозок на 28-от ден со примена на Western-blot анализа. Резултатите од истражувањето покажале дека стаорците кои примале Curcumin имале понизок степен на механички предизвикана алодинија и термичка хипералгезија, како и надолна регулација (down regulation) на TNF- $\alpha$  и TNF- $\alpha$  солубилен рецептор 1 во однос на оние кои не примале Curcumin [108].

Блокирањето на ефектот на TNF- $\alpha$  со употреба на антидијабетични агенси било истражувано од страна на Fukuzawa со соработниците во 1999 година. Во оваа студија, биле испитувани ефектите на хипогликемичните орални препарати на сулфонилуреа (гликлазид и глибенкламид) и тиазолидиндион (троглитазон) врз продукцијата на TNF- $\alpha$  индуцирана со липополисахарид (мерена со имунолошки анализи) in vivo со користење на глувци и in vitro со користење на хумани мононуклеарни клетки од периферната крв.

Гликлазидот значително ја инхибирал продукцијата на TNF- $\alpha$  in vivo и in vitro, во концентрација од  $10^{-3}$  mol / l. Троглитазонот ја инхибирал активноста, но не влијаел врз продукцијата на TNF- $\alpha$  in vivo. In vitro троглитазонот ( $10^{-4}$  mol / l) значително ја намалува цитолитичката активност на TNF- $\alpha$  против ЛМ клетките. Овие резултати покажуваат дека гликлазидот и троглитазонот имаат инхибиторен ефект врз TNF- $\alpha$  [109].

Cohen KL со соработниците во 1987 година, го испитувал ефектот на нестероидните антиинфламаторни лекови врз намалување на болката кај дијабетичната периферна невропатија. Имено кај 18 испитаници после 8 неделен третман со Ибупрофен (600mg 4 пати на ден) и Сулиндак (200mg два пати на ден) бил забележан извесен ефект во намалување на болката кај болна дијабетична периферна невропатија, но овие лекови немале влијание врз гликемиската контрола, ниту протективна улога врз бубрегот [110].

Fleischman A со соработниците во 2008 година го испитувал ефектот на нестероидниот антиинфламаторен лек Salsalate (кој спаѓа во групата салицилати) врз намалување на гликемија и системска инфламација кај обезни адулти кои имале ризик да развијат тип 2 дијабетес. Истражувањето било изведено на 20 испитаници (со безитас, без дијабетес) на кои има била давана терапија со Salsalate во траење од еден месец. Инфламаторите маркери – адипоцитокени, CRP, гликемија, ОГТТ и С-пептид биле мерени базично и по едномесечна терапија.

Резултатите од истражувањето покажале значителна гликорегулација, подобрување на инсулинската сензитивност, зголемување на нивото на адипонектин за 57% и редукција на нивото на CRP за 34% [111]. Постојат бројни истражувања околу примената на алдоза-редуктаза инхибитори во превенција на дијабетичната невропатија, а чиј механизам на дејство е таргетирање на полиолскиот пат (еден од главните патишта за метаболна дисрегулација инволивиран во патогенезата на дијабетичната невропатија).

Досега се истражувани девет агенси-инхибитори на овој ензим, од кои Ranirestat е лек кој има комплетирано две фаза III клиничките иследувања [112].

Giulietti A со соработниците во 2007 година ги испитувал антиинфламаторните својства на 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> со користење на моноцити од периферната крв кај испитаници со тип 2 дијабетес, здрави испитаници и испитаници со тип 1 дијабетес. Била мерена експресијата на инфламаторните маркери на свежо-изолирани и имуно-стимулирани моноцити со употреба на PCR real time техника. Пациентите со дијабетес тип 2 имале значително повисока експресија на TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1, IL-8, COX-2, ICAM-1 и V $\beta$ 7-1 во споредба со пациентите со дијабетес тип 1. Притоа, 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> ја намалувал експресијата на TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 и IL-8 со што биле потврдени неговите имуномодулаторни својства [113].

Што се однесува до употребата на TNF- $\alpha$  блокирачки агенси (Infliximab, Adalimumab, Etanercept) сите досегашни сознанија околу нивното потенцијално дејство врз дијабетичната невропатија се добиени врз основа на студии на анимални модели. Истите главно се однесуваат за редуција на невропатската болка [114, 115].

Досега се уште не постои клинички докажана ефикасна терапија која би го стопирала патогенетскиот процес, и покрај тоа што постојат бројни тераписки обиди кои дале позитивни резултати врз клеточни култури или кај анимални модели.

Одредувањето на концентрациите во серумот или крвната плазма на проинфламаторните цитокини во рани стадиуми на дијагностицирана шеќерна болест би можел да се користи како предиктор за навремено дијагностицирање и лекување на микроваскуларните компликации од дијабетот, со што би се намалил и степенот на инвалидитет кај лицата заболени од дијабетес мелитус.

## **7. ЗАКЛУЧОЦИ**

Врз основа на добиените резултати од оваа истражувачка студија може да ги донесеме следните заклучоци:

**1.** Кај испитаниците со дијабетична периферна невропатија беа детектирани повисоки концентрации на тумор-некротичниот фактор алфа (TNF- $\alpha$ ) во однос на здравите испитаници. Статистичката значајност е на ниво  $p < 0,0001$  ( $t = -6,00$ , с.с.=78).

**2.** Средната вредност на TNF- $\alpha$  не зависи од полот на испитаниците, а за влијанието на возраста не можеме со сигурност да се изјасниме, со оглед дека во контролната група имаше млади испитаници, со просечна возраст 33,6 години (а со цел да се избегнат „лажно“ повисоки вредности на TNF- $\alpha$  поради евентуално присуство на други хронични, автоимуни или малигни заболувања).

**3.** Детектирана е статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на TNF- $\alpha$  кај различни типови на дијабетична невропатија (статистичка значајност на ниво  $p = 0.022$ ,  $F = 3.54$ , с.с.=49). Во нашето истражување, повисоки концентрации на TNF- $\alpha$  во примерок крвна плазма имаа пациентите кај кои во клиничката слика доминираше афекција на автономниот нервен систем (односно оние кои припаѓаа во групата на дијабетична сензомоторна и автономна невропатија) како и кранијалните нерви (кранијален мононевритис).

**4.** Средната вредност на TNF- $\alpha$  не зависи од типот на лезија (аксонска или демиелинизирачка), а не беше најдена линеарна зависност помеѓу вредноста на TNF- $\alpha$  и брзините на спроведување на испитуваните нерви.

**5.** Клиничката манифестација и тежината на клиничката слика (изразена преку бодови на DNS скалата) зависат од типот на периферна невропатија.

Повисоки вредности на DNS скалата имаа пациенти кај кои беше утврдена дијабетична сензомоторна и автономна периферна невропатија и кранијален неврит. Статистичката значајност беше на ниво  $p=0.0244$

**6.** DNS скорот, а со тоа и клиничката слика, не зависат од средните вредности на моторните и сензорните брзини на спроведување на испитаните нерви, ниту од типот на неврогена лезија.

**7.** Не беше најдена поврзаност на DNS скорот со просечното време на траење на дијабетес мелитус, ниту со полот и возраста на испитаниците.

## 8. ЛИТЕРАТУРА:

1. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. Sec. 2. In Standards of Medical Care in Diabetesd 2017. Diabetes Care 2017; 40 (1): 11–24
2. Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, et al. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. Diabetes. 2016
3. U.S Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, 2011. National Diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States, 2011.
4. Imkampe AK, Gullifort MC. Trends in Type 1 Diabetes incidence in the UK in 0-to 14- year-olds and 15-to 34- year-olds in 1991-2008. Diabet Med 2011; (7): 811-4.
5. Centers for Disease Control and Prevention, National Diabetes Statistics Reports 2017
6. Harrison P. Almost Half of US Population Has Diabetes or Its Precursor. Medscape Medical News, 2017.
7. Global burden of diabetes. International Diabetes federation. Diabetic atlas fifth edition 2011, Brussels.
8. Pickup JC, Williams G (eds.). The history of diabetes mellitus, in *Textbook of Diabetes*. Blackwell Science, Oxford, 1997, pp. 23–30.
9. Papaspyros NS. The history of diabetes mellitus, 2nd ed. Thieme, Stuttgart, 1964. Reprinted in *Textbook of Diabetes*. Blackwell Science, Oxford, 1997, 1.3p.
10. Gwei-Djen L, Needham J. Records of diseases in ancient China. *Am J Chin Med* 1976; 4:3–16.
11. Grossman A (ed.). Clinical endocrinology, in *Notes on the history of endocrinology*, Blackwell Sciences Publications, Oxford, 1992, pp. 1040–1943.



12. Kaviraj Kunja Lal Bhishagratna (ed.). An English Translation of The Sushruta Samhita, Calcuta, 1911, pp. 28–29.
13. Murthy KRS, translator. Illustrated Susruta Samhita. (Sutrasthana and Nidana Sthana). Chaukhambha Orientalia, Varanasi, India, 2000, p. 106.
14. Hurst GC. Michinaga's Madalies. *Monumenta Nipponica* 1979;34:101–112.
15. Purdy CW. Diabetes—its causes, symptoms and treatment. (Davis FA, ed.), Philadelphia, PA, 1890, pp. 76–78.
16. De Calvi M. Recherches sur les accidents diabetiques. (Asselin P, ed.), Paris, 1864.
17. Broch OJ, Kl'ovstad O. Polyneuritis in diabetes mellitus. *Acta Med Scandinav* 1947; 127:514.
18. Garland H. Diabetic amyoptrophy. *Brit M J* 1955; 2: 1287-1290.
19. CDC . National diabetes statistics report: Estimates of diabetes and its burden in the United States, 2014. U.S. Department of Health and Human Services; Atlanta, GA: 2014.
20. Ramsey SD, et al. Incidence, outcomes, and cost of foot ulcers in patients with diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22 (3): 382–7.
21. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, et al. American Diabetes Assotiation. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Assotiation. *Diabetes Care*.2005; 28 (4): 956-62
22. Dyck PJ, Albers JW, Andersen H, et al. On behalf of the Toronto Expert Panel on Diabetic Neuropathy\* Diabetic Polyneuropatjies: Update of Research Definition, Diagnostic Criteria and Estimation of Severity. *Diabetes Metab Res Rev*.2011; 27:620-628.
23. Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care*. 2010;33:2285–2293.
24. Dyck PJ, Albers JW, Andersen H,et al. Toronto Expert Panel on Diabetic Neuropathy. Diabetic polyneuropathies: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011; 27 (7) :620-8.

25. Charnogursky G, Lee H, Lopez N. Diabetic neuropathy. In: Biller J, Ferro JM, editors. Handbook of Clinical Neurology. Vol. 120. Elsevier; 2014. pp. 773–785.
26. Rigoard P, Buffenoir K, Wager M, et al. Anatomy and physiology of the peripheral nerve. Neurochirurgie. 2009;55 (1):3-12.
27. Cabot JB. Some principles of the spinal organization of the sympathetic preganglionic outflow. Prog Brain Res 1996; 107: 29-42.
28. Shields RW Jr. Functional anatomy of the autonomic nervous system. J Clin Neurophysiol 1993; 10 (1) : 2-13.
29. Guyenet PG, Koshiya N, Huangfu D, et al. Role of medulla oblongata in generation of sympathetic and vagal outflows. Prog Brain Res 1996; 107:127-144.
30. Micic Dragan, Stevic Zorica. Current principles of neuropathies diagnostics and therapy. Acta clinica 2014; 14 (1): 49-82.
31. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. Diabetes Care. 2003;26(5):155.
32. Valensi P, Pariès J, Attali JR.: French Group for Research and Study of Diabetic Neuropathy Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients: influence of diabetes duration, obesity, and microangiopathic complications—the French multicenter study. Metabolism 2003; 52 : 815–820.
33. Jones KL, Russo A, Stevens JE, Wishart JM, Berry MK, Horowitz M. Predictors of delayed gastric emptying in diabetes. Diabetes Care 2001; 24: 1264–1269.
34. Appell RA, Whiteside HV. DM and Other Peripheral Neuropathies Affecting Lower Urinary Tract Function. In Clinical Neuro-Urology. Krane RJ, Siroky MB, editors. : Eds. Boston, Little, Brown, 1991, p. 365–375
35. Gazzaruso C, Giordanetti S, De Amici E, et al. Relationship between erectile dysfunction and silent myocardial ischemia in apparently uncomplicated type 2 diabetic patients. Circulation 2004; 110: 22–26.
36. Gibbons CH, Freeman R. Treatment-induced diabetic neuropathy: a reversible painful autonomic neuropathy. Ann Neurol 2010; 67 (4): 534-541.
37. Sharma KR, Cross J, Farronay O, Ayyar DR, Shebert RT, Bradley WG Demyelinating neuropathy in diabetes mellitus. Arch Neurol. 2002; 59 (5): 758-65.

38. Laughlin RS, Dyck PJ, Melton Lj 3<sup>rd</sup>, et al. Incidence and prevalence of CIDP and the association of diabetes mellitus. *Neurology* 2009; 73 (1) : 39-45.
39. Zambelis T, Tsivgoulis G, Karandreas N. Carpal tunnel syndrome: associations between risk factors and laterality. *Eur Neurol* 2010; 63 (1): 43-47.
40. Genuth S. Insights from the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study on the use of intensive glycemic treatment to reduce the risk of complications of type 1 diabetes. *Endocr. Pract.* 2006; 12: 34–41.
41. Mechanisms of Distal Axonal Degeneration in Peripheral Neuropathies Christopher R. Cashman and Ahmet Höke. *Neuroscience Letters*, Elsevier 2015; 596:33-50.
42. Yorek MA, Dunlap JA, Ginsberg BH. *myo*-Inositol metabolism in 41A3 neuroblastoma cells: effects of high glucose and sorbitol levels. *J. Neurochem.* 1987;48:53–61.
43. Greene DA, Yagihashi S, Lattimer SA, Sima AAF. Nerve Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, conduction, and *myo*-inositol in the insulin-deficient BB rat. *Am. J. Physiol.* 1984;247:534–539.
44. Hosseini A, Abdollahi M. Diabetic Neuropathy and Oxidative Stress: Therapeutic Perspectives. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013 ; 2013: 168039.
45. Duran-Jimenez B, Dobler D, Moffatt S, Rabbani N, Streuli CH, Thornalley PJ, Tomlinson DR, Gardiner NJ. Advanced glycation end products in extracellular matrix proteins contribute to the failure of sensory nerve regeneration in diabetes. *Diabetes.* 2009; 58: 2893–2903.
46. Tanaka S, Avigad G, Brodsky B, Eikenberry EF. Glycation induces expansion of the molecular packing of collagen. *J. Mol. Biol.* 1988; 203: 495–505.
47. Colognato H, ffrench-Constant C, Feltri ML. Human diseases reveal novel roles for neural laminins. *Trends Neurosci.* 2005; 28: 480–486.
48. Mullokandov EA, Franklin WA, Brownlee M. DNA damage by the glycation products of glyceraldehyde 3-phosphate and lysine. *Diabetologia.* 1994; 37:145–149.

49. Yang X, Su K, Roos MD, Chang Q, Paterson AJ, Kudlow JE. O-linkage of N-acetylglucosamine to Sp1 activation domain inhibits its transcriptional capability. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001; 98: 6611–6616.
50. Vincent AM, Edwards JL, McLean LL, et al. Mitochondrial biogenesis and fission in axons in cell culture and animal models of diabetic neuropathy. *Acta Neuropathol.* 2010; 120: 477–489.
51. Ferro, T. J., Gertzberg, N., Selden, L., Neumann, P., and Johnson, A. Endothelial barrier dysfunction and p42 oxidation induced by TNF-alpha are mediated by nitric oxide. *Am. J. Physiol.* 1997; 272(5 Pt 1): 979–988.
52. Qiang, X., Satoh, J., Sagara, M., et al. Gliclazide inhibits diabetic neuropathy irrespective of blood glucose levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism*, 1998; 47: 977–981.
53. Sen, C. K. Redox signaling and the emerging therapeutic potential of thiol antioxidants. *Biochem. Pharmacol.* 1998; 55: 1747–1758.
54. Hall GC, Carroll D, Parry D, McQuay HJ. Epidemiology and treatment of neuropathic pain: the UK primary care perspective. *Pain.* 2006; 122: 156–162.
55. Lisak RP, Skundric D, Bealmear B, Ragheb S. The role of cytokines in Schwann cell damage, protection, and repair. *J Infect Dis.* 1997; 176 (2): 173–179.
56. Uceyler N, Sommer C. Cytokine regulation in animal models of neuropathic pain and in human diseases. *Neurosci Lett.* 2008; 437: 194–198.
57. Czeschik JC, Hagenacker T, Schafers M, Busselberg D. TNF-alpha differentially modulates ion channels of nociceptive neurons. *Neurosci Lett.* 2008; 434: 293–298.
58. Nadkarni S, Jung P. Modeling synaptic transmission of the tripartite synapse. *Phys Biol.* 2007; 4: 1–9.
59. Watkins LR, Maier SF. Glia: a novel drug discovery target for clinical pain. *Nat Rev Drug Discov.* 2003; 2: 973–985.
60. Borst SE. The role of TNF-alpha in insulin resistance. *Endocrine.* 2004 Mar-Apr; 23(2-3): 177–82.

61. Peristeris, P., Clark, B. D., Gatti, S., et al. *N*-acetylcysteine and glutathione as inhibitors of tumor necrosis factor production. *Cell. Immunol.* 1992; 140: 390–399.
62. Allen, R. D. Polymorphism of the human TNF alpha promoter—random variation or functional diversity? *Mol. Immunol.* 199; 36: 1017–1027.
63. Housai, T., Bando, S., Takahashi, K., et al. Association of TNF- $\alpha$  promoter polymorphism C(-857)T with F-wave latency as an early marker of diabetic polyneuropathy in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2001; (Suppl 2), A186.
64. R. Mark Sirkin, *Statistics for the Social Sciences*, Sage Publications, 2006.
65. B.S. Everitt, *The Analysis of Contingency Tables*, Chapman and Hall / CRC, 1992.
66. Mould RE (1983): *Cancer Statistics*, Adam Hilger Ltd., Bristol.
67. Hintze, J.L., *NCSS Statistical System User's Guide I*, NCSS, 2007.
68. Dung V. Nguyen, Lynn C. Shaw, and Maria B. Grant. Inflammation in the pathogenesis of microvascular complications in diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012; 3: 170.
69. Hussain G., Rizvi S. A. A., Singhal S., Zubair M., Ahmad J. Serum levels of TNF- $\alpha$  in peripheral neuropathy patients and its correlation with nerve conduction velocity in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*. 2013;7(4):238–242.
70. Mohja A et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  is a novel biomarker for peripheral neuropathy in type II diabetes mellitus: a clinical and electrophysiological study *Egyptian neurology and rehabilitation* 2017 ; 44 ( 2 ): 83-90.
71. Herder C., Lankisch M., Ziegler D., et al. Subclinical inflammation and diabetic polyneuropathy. *Diabetes Care*. 2009;32(4):680–682.
72. Adamis AP, Berman AJ Immunological mechanisms in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Semin Immunopathol* 2008; 30: 65–84.
73. M. Matsuda, F. Kawasaki, H. Inoue et al., "Possible contribution of adipocytokines on diabetic neuropathy," *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2004; 66: 121–123.

74. Luis Miguel Román-Pintos, Geannynne Villegas-Rivera, Adolfo Daniel Rodríguez-Carrizalez, Alejandra Guillermina Miranda-Díaz, and Ernesto Germán Cardona-Muñoz. Diabetic Polyneuropathy in Type 2 Diabetes Mellitus: Inflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Function. *J Diabetes Res.* 2016; 2016.

75. Meijer JW, Smit AJ, Sonderen EV, Groothoff JW, Eisma WH, Links TP. Symptom scoring systems to diagnose distal polyneuropathy in diabetes: the Diabetic Neuropathy Symptom score. *Diabet Med.* 2002 Nov;19(11):962-5.

76. Asad A et al. Comparison of nerve conduction studies with diabetic neuropathy symptom score and diabetic neuropathy examination score in type-2 diabetics for detection of Sensorimotor Polyneuropathy. *Journal of Pakistan Medical Association* 2009; 59:594.

77. Purwata T. E. High TNF-alpha plasma levels and macrophages iNOS and TNF-alpha expression as risk factors for painful diabetic neuropathy. *J. Pain Res.* 2011; 4: 169–175.

78. M. Empl, S. Renaud, B. Erne, P. Fuhr, A. Straube, N. Schaeren-Wiemers and A.J. Steck. TNF-alpha expression in painful and nonpainful neuropathies. 2001; 56 (10) ARTICLES

79. Debarati Chanda , Shouvanik Adhya. Correlation of level of TNF -α with severity of Diabetic Polyneuropathy in Type-2 Diabetes Mellitus. *Journal of Dental and Medical Sciences* 2016; 15 (8):13-15.

80. Young An J et al. Comparison of Diabetic Neuropathy Symptom Score and Medial Plantar Sensory Nerve Conduction Studies in Diabetic Patients Showing Normal Routine Nerve Conduction Studies *Intern Med.* 2008;47(15):1395-8.

81. Müller S., Martin S., Koenig W., Hanifi-Moghaddam P., Rathmann W., Haastert B., et al. Impaired glucose tolerance is associated with increased serum concentrations of interleukin 6 and co-regulated acute-phase proteins but not TNF-alpha or its receptors. *Diabetologia* 2002; 45: 805–812.

82. Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines adipocyte-derived bioactive substances. *Ann N Y Acad Sci.* 1999; 892: 146–154.

83. Suganami T., Nishida J., Ogawa Y. A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: role of free fatty acids and tumor necrosis factor alpha. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 2062–2068.

84. Gao X, Belmadani S, Picchi A, Xu X, Potter B. J, Tewari-Singh N, et al. Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in Lepr(db) mice. *Circulation* 2007; 115: 245–254.

85. Yamakawa I, Kojima H, Terashima T, Katagi M, Oi J, Urabe H, et al. Inactivation of TNF- $\alpha$  ameliorates diabetic neuropathy in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2011; 301: E844–E852.

86. A. Adamska, A. Nikolaјuk, M. Karczewska-Kupczewska et al. Relationships between serum adiponectin and soluble TNF- $\alpha$  receptors and glucose and lipid oxidation in lean and obese subjects. *Acta Diabetologica*, 2012; 49(1): 17–24.

87. I. Shimomura, T. Funahashi, and Y. Matsuzawa. Significance of adipocytokine, fat-derived hormones, in metabolic syndrome. *Tanpakushitsu kakusan koso. Protein, nucleic acid, enzyme*, 2002; 47 (14):1896–1903.

88. Gonzalez-Clemente JM et al. Diabetic neuropathy is associated with activation of the TNF-alpha system in subjects with type 1 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;63(5):525-9.

89. Apfel SC, Asbury AK, Bril V, et al. Ad Hoc Panel on Endpoints for Diabetic Neuropathy Trials Positive neuropathic sensory symptoms as endpoints in diabetic neuropathy trials. *J Neurol Sci* 2001;189:3–5

90. Dyck PJ.: Detection, characterization, and staging of polyneuropathy: assessed in diabetics. *Muscle Nerve* 1988;11:21–32.

91. England JD, Gronseth GS, Franklin G, et al. American Academy of Neurology, American Association of Electrodiagnostic Medicine, American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation Distal symmetric polyneuropathy: a definition for clinical research: report of the American Academy of Neurology, the American Association of Electrodiagnostic Medicine, and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. *Neurology* 2005 ;64:199–207.

92. American Diabetes Association and American Academy of Neurology Report and recommendations of the San Antonio conference on diabetic neuropathy (Consensus Statement). *Diabetes Care* 1988;11:592–597

93. Yang Z, Chen R, Zhang Y, et al. Scoring systems to screen for diabetic peripheral neuropathy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014, Issue 3. Art. No.: CD010974.

94. Dyck PJ, Sherman WR, Hallcher LM, Service FJ, O'Brien PC, Grina LA, et al. Human diabetic endoneural sorbitol, fructose, and myo-inositol related to sural nerve morphometry. *Annals of Neurology* 1980;8(6):590–6.

95. Meijer JW, Smit AJ, Sonderen EV, Groothoff JW, Eisma WH, Links TP. Symptom scoring systems to diagnose distal polyneuropathy in diabetes: the Diabetic Neuropathy Symptom score. *Diabetic Medicine* 2002;19(11):962-5.

96. Abbott CA, Carrington AL, Ashe H, Bath S, Every LC, Griffiths J, et al. The North-West Diabetes Foot Care Study: incidence of, and risk factors for, new diabetic foot ulceration in a community-based patient cohort. *Diabetic Medicine* 2002;19(5):377-84.

97. Meijer JW, van Sonderen E, Blaauwwekel EE, Smit AJ, Groothoff JW, Eisma WH, et al. Diabetic neuropathy examination: a hierarchical scoring system to diagnose distal polyneuropathy in diabetes. *Diabetes Care* 2000;23 (6):750–3.

98. Meijer JW, Bosma E, Lefrandt JD, Links TP, Smit AJ, Stewart RE, et al. Clinical diagnosis of diabetic polyneuropathy with the diabetic neuropathy symptom and diabetic neuropathy examination scores. *Diabetes Care* 2003;26(3):697–701.

99. Valk GD, Nauta JJ, Strijers RL, Bertelsmann FW. Clinical examination versus neurophysiological examination in the diagnosis of diabetic polyneuropathy. *Diabetic Medicine* 1992;9(8):716-21.

100. Feldman EL, Stevens MJ, Thomas PK, Brown MB, Canal N, Greene DA. A practical two-step quantitative clinical and electrophysiological assessment for the diagnosis and staging of diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 1994;17(11):1281-9.

101. Perkins BA, Bril V. Diabetic neuropathy: a review emphasizing diagnostic methods. *Clinical Neurophysiology* 2003;114(7):1167-75.



102. Davies M, Brophy S, Williams R, Taylor A. The prevalence, severity, and impact of painful diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006;29(7): 1518–22.

103. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes - 2013. *Diabetes Care* 2013;36 (1): 11–67.

104. Pop-Busui R, Boulton AJ, Feldman E, et al. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association *Diabetes Care* 2017; 40(1): 136-154.

105. England JD, Gronseth GS, Franklin G, Miller RG, Asbury AK, Carter GT, et al. Distal symmetric polyneuropathy: a definition for clinical research: report of the American Academy of Neurology, the American Association of Electrodiagnostic Medicine, and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. *Neurology* 2005;64 (2):199–207.

106. Dyck PJ, Albers JW, Andersen H, Arezzo JC, Biessels GJ, Bril V, et al. Diabetic polyneuropathies: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity. *Diabetes Metabolism Research and Review* 2011;27:620-8.

107. Mythri RB, Bharath MM. Curcumin: a potential neuroprotective agent in Parkinson's disease. *Curr Pharm Des.* 2012;18:91-99

108. Yue Li Yong Zhang, De-bao Liu, Hai-ying Liu, Wu-gang Hou, Yu-shu Dong. Curcumin Attenuates Diabetic Neuropathic Pain by Downregulating TNF- $\alpha$  in a Rat Model *Int J Med Sci* 2013; 10(4):377-381.

109. M.Fukuzawa J, Satoh X, Qiang S. Inhibition of tumor necrosis factor- $\alpha$  with anti-diabetic agents. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1999; 43 (3): 147-154

110. Cohen KL, Harris S. Efficacy and safety of nonsteroidal antiinflammatory drugs in the therapy of diabetic neuropathy. *Arch Intern Med* 1987; 147(8):1442–1444.

111. Fleischman A, et al. Salsalate improves glycemia and inflammatory parameters in obese young adults. *Diabetes Care.* 2008;31(2):289–94.

112. Nick Giannoukakis et al. Evaluation of ranirestat for the treatment of diabetic neuropathy *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 2014; 10 (7): 1051-1059.

113. Giulietti A, van Etten E, Overbergh L, Stoffels K, Bouillon R, Mathieu C. Monocytes from type 2 diabetic patients have a pro-inflammatory profile. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) works as anti-inflammatory. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007 ;77(1):47-57.

114. Ahmet Dogrul, Husamettin Gul, Ozgur Yesilyurt, Umit H. Ulas, Oguzhan Yildiz. Systemic and spinal administration of etanercept, a tumor necrosis factor alpha inhibitor, block tactile allodynia in diabetic mice. *Acta Diabetologica* 2011; 48 (2):135-141.

115. Claudia Sommer, Maria Schäfers, Martin Marziniak, Klaus V. Toyk. Etanercept reduces hyperalgesia in experimental painful neuropathy. *Journal of the Peripheral Nervous System* 2001; 6 (2) :67–72.