МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ
КЛИНИКА ПО ЕНДОКРИНОЛОГИЯ И БОЛЕСТИ НА ОБМЯНАТА
УМБАЛ „АЛЕКСАНДРОВСКА“

Д-р Цветан Владимиров Гатев

НЕВРОЛОГИЧНИ, СЪДОВИ И БИОХИМИЧНИ ФАКТОРИ ПРИ ДИАБЕТНО СТЪПАЛО

ДИСЕРТАЦИЯ

за присъждане на образователна и научна степен „доктор“

Област на висшето образование: 7. Здравеопазване и спорт

Професионално направление: 7.1. Медицина

Докторска програма: Ендокринология

Научен ръководител:

Проф. Д-р Здравко Асенов Каменов, дмн

София

2023

С Ъ Д Ъ Р Ж А Н И Е

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ 3

ВЪВЕДЕНИЕ 4

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР 6

Раздел 1. Епидемиология, определения и рискови фактори за диабетно стъпало 6

Диабетна полиневропатия (ДПНП) и диабетно стъпало 10

Периферна артериална болест и диабетно стъпало 23

Деформации на ходилото и диабетно стъпало 34

Нарушения в микроциркулацията при диабетно стъпало 35

Раздел 2. Предпазване от язва на стъпалото при хора със захарен диабет 37

Раздел 3. Клинична картина на диабетното стъпало 42

Раздел 4. Биохимични фактори при диабетно стъпало 43

Заключение 50

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ 51

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ 53

Част 1. Срезово проучване 53

Част 2. Проследяващо проучване 64

ГЛАВА III. РЕЗУЛТАТИ 65

Раздел 1. Срезово проучване 65

Антропометрични характеристики 65

Други базисни показатели 68

Лабораторни показатели 70

Неврологични фактори 79

Съдови фактори 96

Биохимични фактори 104

Раздел 2. Проследяващо проучване 118
ГЛАВА IV. ОБСЪЖДАНЕ 126
Анализ на антропометричните, лабораторните и диабетните характеристики 126
Анализ на неврологичните изследвания 131
Анализ на съдовите фактори 137
Анализ на резултатите от изследваните биомаркери 142
Анализ на проспективното проучване 147
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 151
ИЗВОДИ 154
СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ 156
ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ УЧАСТИЯ 160
КНИГОПИС 162
ПРИЛОЖЕНИЯ 185

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ДН	Диабетна невропатия
ДПНП	Диабетна полиневропатия
ДС	Диабетно стъпало
ЕКП	Електрохимична кожна проводимост
ЗД	Захарен диабет
ИГМ	Индекс глезен/мишница
ИПМ	Индекс палец на крака/мишница
ИТМ	Индекс на телесна маса
МРГДС	Международна работна група за диабетно стъпало
МС	Метаболитен синдром
ПАБ	Периферна артериална болест
СС	Судоскан
СУЕ	Скорост на утаяване на еритроцитите
ХАНК	Хронична артериална недостатъчност на крайниците
ЧМН	Черепно-мозъчен нерв
ABI	Ankle-brachial Index
IMT	Intima-Media Thickness
TBI	Toe-brachial Index
$TcPO_2$	Транскутанно кислородно налягане
UACR	Urinary albumin/creatinine ratio

ВЪВЕДЕНИЕ

Диабетното стъпало (ДС) е тежко инвалидизиращо усложнение на захарния диабет, свързано със значителен коморбидитет, намалени продължителност и качество на живота на засегнатия човек, както и с неколкократно повишени разходи за здравноосигурителната система. То се явява водеща причина за нетравматичните ампутации на долен крайник в света.

През 1852г Marchal de Calvi и през 1854г Thomas Hodgkin описват връзката между диабета и гангрената на стъпалото. В доантибиотичната ера лечението на диабетните рани се е състояло предимно в отбременяване на стъпалото чрез продължително лежане. При настъпване на гангрена се е прилагала висока ампутация, като периоперативната смъртност в този период е била изключително висока. В края на 19-ти век британският хирург Sir Frederick Treves въвежда острия хирургичен дебридман на калус, предварително размекнат с лапи от ленено семе. Той постулира три важни принципа за лечение на диабетните рани: остър дебридман на калуса, отбременяване на натиска върху улцерацията и обучение на пациента относно грижи за стъпалата и носене на подходящи обувки. Прилагането им е свързано със значителен спад в ампутациите при хората с диабет. Откриването на инсулина и въвеждането му като метод на лечение довело до удължаване живота на хората с диабет, както и нарастване честотата на хроничните усложнения, сред които е и диабетното стъпало. В резултат на това през 1928г в Бостън Elliot Joslin създава първата болнична клиника за лечение на диабетно стъпало, като става основоположник на идеята за мултидисциплинарен подход при това хронично диабетно усложнение. През същата година шотландецът Alexander Fleming открива Пеницилина, което довежда до преминаване към по-консервативен подход при лечението на диабетното стъпало, скъсяване на времето за заздравяване на раните, както и намаляване наполовина на смъртността след голяма ампутация на крака. Друго важно историческо постижение от 20-ти век е развитието на техниките за реваскуларизация на артериите и съхраняване на крайника. През 1964г Charles Dotter извършва първата успешна дилатация на arteria femoralis superficialis,

като към края на века вече успешно се извършва реканализиране и на дисталните артерии до нивото на стъпалото. Това е ключова част в подхода при пациенти със захарен диабет и хронична артериална недостатъчност на долните крайници (ХАНК).

Според съвременното разбиране диабетното стъпало е хетерогенно състояние, в патогенезата на което участват комбинирано метаболитни, хемодинамични, механични, инфекциозни и наследствени фактори. Основните рискови фактори са диабетната полиневропатия: соматична - със загуба на протективен усет и автономна форма - с вегетативна денервация, хроничната артериална недостатъчност на долните крайници, деформациите на ходилото, наличието на предшестваща рана и/или ампутация на ходилото. Липсва единна скала за оценка на това диабетно усложнение, а са налични различни класификации, които отчитат неврологичните, съдовите и структурните увреждания, възпалителната активност, придружаващите заболявания, предшестващите рани и ампутации. По този начин се определя рисковата категория на всеки отделен пациент, която е в основата на терапевтичния план, нуждата от хоспитализация, прогнозата и интензитета на проследяване.
Поради многофакторната си обусловеност диабетното стъпало е обект на мултидисциплинарен подход. Доказано е, че при изпълнението му от висококвалифицирани специалисти и при адекватно обучение на пациента за самообслужване и самонаблюдение може да се редуцира с до 85% честотата на диабетните рани на стъпалата. Установено е също така, че 85% от ампутациите на долен крайник при хората с диабет се предшествани от улцерации, което подчертава важността на споменатите мерки. Независимо от наличните средства за превенция и лечение, към момента има недостиг на специализирана грижа за диабетното стъпало, дало основание на някой автори да го нарекат алегорично „пепеляшката на диабетните усложнения“. През 2005г Международната диабетна федерация се фокусира върху проблемите на това сериозно усложнение и провежда мащабна кампания за повишаване на информираността и подобряване на подхода при тези пациенти. Все още има неизяснени механизми в развитието на диабетното стъпало, което е предпоставка за допълнителни изследвания, целящи по-доброто му разбиране и лечение.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Раздел 1. Епидемиология, определения и рискови фактори за диабетно стъпало

Разпространението на захарния диабет се увеличава с всяка година и някои автори го определят като третата по население „държава“ в света. В 10-тото издание на атласа на международната диабетна федерация от 2021г се посочва, че около 537 милиона души на възраст 20-79г (или около 10.5% от световната популация в тази възрастова група) са със захарен диабет (тип 1 или 2). Около 75% от тях живеят в развиващите се страни, където няма възможност да се осигури оптимална диагностика и лечение. Половината от тези хора са все още недиагностицирани, а други 541 милиона (10.6%) са с предиабет. През 2045г се очаква броят на хората с диабет да достигне 783 милиона (12.2%). Паралелно нараства честотата на диабетните усложнения и изразходваните материални и нематериални ресурси за обслужването им(1). Едно от най-тежките е диабетното стъпало.

Диабетното стъпало се дефинира като наличието на инфекция, язва или деструкция на тъканите на стъпалото, асоциирани с невропатия и/или периферна артериална болест (ПАБ) на долните крайници при човек със захарен диабет(2). По епидемиологични данни средно 1 на всеки 4 диабетика (19-34%) ще развие язва на стъпалото в даден момент от живота си, а годишно новопоявилите се диабетни улцерации във високо развитите страни, където може да се осигури оптимална грижа за пациентите, е около 2-4%(3, 4). В развиващите се държави честотата на диабетните рани и ампутации е още по-висок(5), като тези улцерации засягат средно около 26 милиона души годишно(4, 6). Половината от хората с диабетни рани се усложняват, което налага болнично лечение с или без оперативна интервенция(7). Честотата на повторна улцерация при тях може да достигне 70% в рамките на 5 години(8), като по-тежката невропатия и гликемичната декомпенсация са водещи рискови фактори за това(9). Наличието на захарен диабет увеличава ампутационния риск с 10 до 20 пъти в сравнение с недиабетиците(10). При

1% от диабетната популация се налага ампутация в даден момент от живота, а пък при половината от претърпелите ампутация се стига до следваща в рамките на 5 години(11). Диабетното стъпало се явява водеща причина за нетравматичните ампутации на долните крайници в света, като годишно повече от 1 милион човека с диабет губят поне част от крака си заради това усложнение. Образно, на всеки 30 секунди се извършва по 1 операция за отстраняване на диабетно стъпало(3). Честотата на ампутациите е по-висока при хората с исхемични и невро-исхемични рани, в сравнение с невропатните(12). Колкото по-голяма е площта на дадена рана, толкова по-дълго време отнема заздравяването ѝ и рискът от последваща ампутация е по-голям(13). От друга страна колкото по-проксимална е ампутацията, толкова по-висок е рискът от тежки усложнения(14). Това е обременяващо събитие не само за засегнатия човек, но и за неговото семейство и обществото като цяло. Изчислено е, че финансовите разходи са 5 пъти по-високи за пациент с диабетно стъпало при първа поява на диабетна рана и 2.6 пъти повече – при последващ рецидив, в сравнение с диабетик без това усложнение(15, 16).

Диабетните рани и техните усложнения са водеща причина за хоспитализация при хората със захарен диабет(17) и също така се свързват с намалена продължителност на живота(18). Едно проучване установява, че 5-годишна смъртност след улцерация е 44%, като при хората с исхемични рани тя е по-висока в сравнение с тези, които имат невропатни или невро-исхемични рани(19). Постоперативната смъртност след ампутация на долен крайник е също значителна, като варира между 5,8% и 23% през първия месец след операцията(20, 21, 22, 23, 24). Най-честите причини за това са свързани със сърдечно-съдови инциденти и сепсис(25). Дългосрочната постоперативна смъртност също е повишена при хора със захарен диабет в сравнение с недиабетици (съответно 32.8% спрямо 27.3% до първата година; 68.1% спрямо 57.2% до петата година и 91.6% спрямо 77.1% до десетата година след ампутация), като средната преживяемост при пациентите с диабет е 27.2 месеца след оперативната интервенция, в сравнение с 46.7 месеца при недиабетици(26). Рискът от смърт зависи и от нивото на първоначалната ампутация – в рамките на 1 година вероятността за фатален изход е 6.6% след ампутация на пръст, 10.5% след ампутация на стъпалото и 18.2% след по-

висока ампутация. Петгодишната смъртност е 21% след последваща ампутация на неоперираното стъпало и 36% при по-висока реампутация на вече оперираното(14).

Международната работна група за диабетно стъпало (МРГДС) в актуализираните си препоръки от 2019г дава съвременните дефиниции на често използвани понятия, имащи отношение към темата(2):

Загуба на протективен усет – неспособност за усещане на лек натиск, еквивалентен на този, упражняван от 10-грамовия монофиламент на Semmes-Weinstein.

Невро-остеоартропатия на Шарко (стъпало на Шарко) – неинфекциозно разрушаване на кости и стави на стъпалото, свързано с полиневропатията, при което в острата фаза има признаци на възпаление.

Повърхностна диабетна рана на стъпалото – рана, която не прониква по-дълбоко от дермата.

Дълбока диабетна рана на стъпалото – рана, която преминава нивото на дермата и достига подкожието, фасции, мускули, сухожилия и/или кости.

Повърхностна инфекция на стъпалото – инфекция, която не прониква по-дълбоко от дермата.

Дълбока инфекция на стъпалото – инфекция, която преминава нивото на дермата и достига подкожието, фасции, мускули, сухожилия и/или кости.

Клаудикацио – поява на болка в бедрото или подбедрицата при ходене, която се облекчава след почивка и която се дължи на ПАБ.

Малка ампутация на крака – ампутация от пръстите до нивото на глезена включително (ампутация на пръст, метатарзофалангеална дезартикулация, дистална и проксимална трансметатарзални ампутации, тарзо-метатарзална дезартикулация – по Lisfranc, транстарзална дезартикулация – по Chopart и глезена дезартикулация – по Syme).

Голяма ампутация на крака – всяка резекция на крака проксимално от глезена (транстибиална, колянна дезартикулация, трансфеморална).

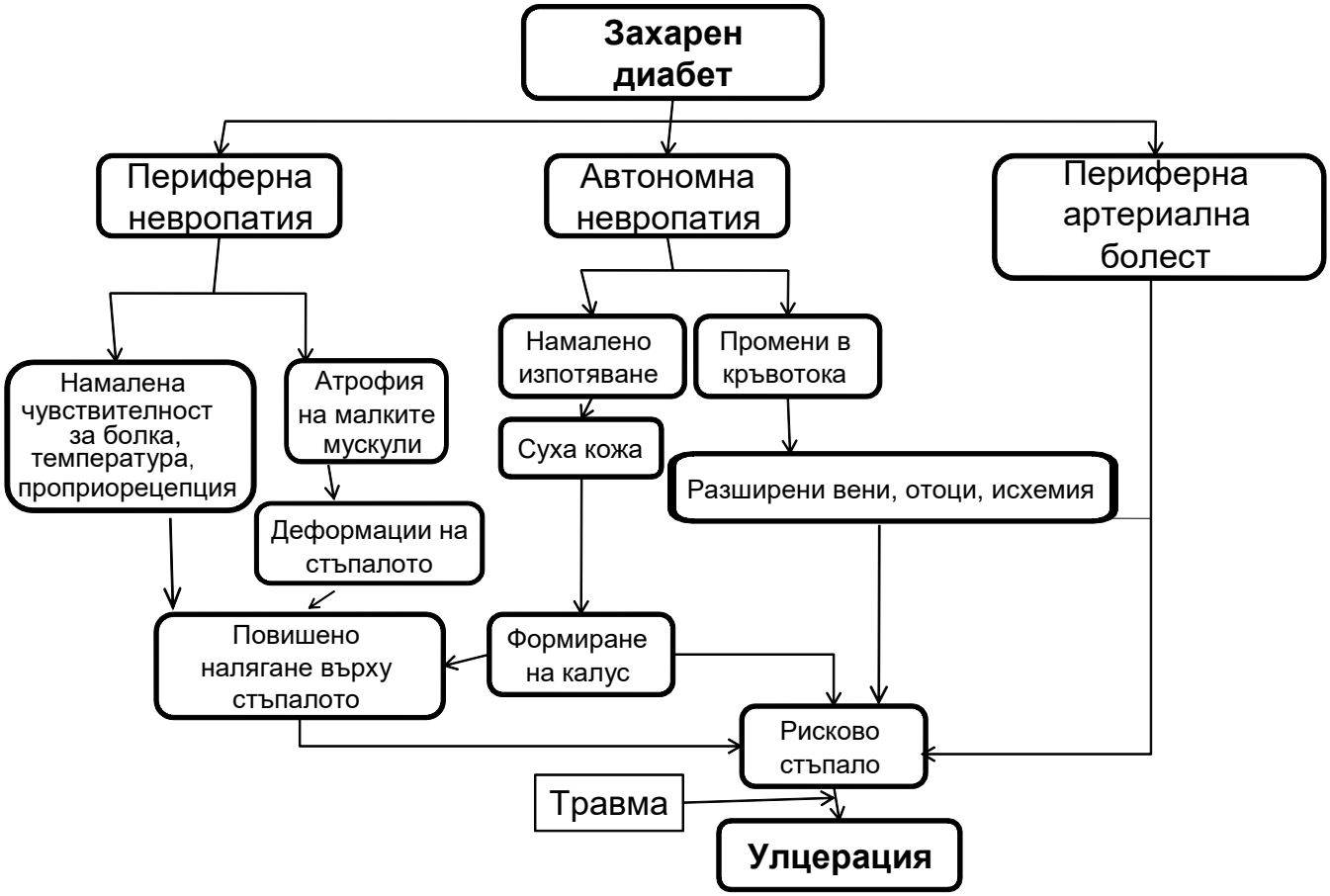
Некроза – девитализирана (мъртва) тъкан.

Гангрена – състояние, при което настъпва загуба на тъкан поради недостатъчното ѝ кръвоснабдяване, инфектиране или травмиране.

Суха гангрена – гангрена без наличие на инфекция, при която тъканите са сухи и черни.

Влажна гангрена – гангрена при наличие на инфекция с придружаващ гнилостен процес и целулит на околните витални тъкани.

Основните рискови фактори за диабетно стъпало са соматичната невропатията със загуба на протективен усет, судомоторната автономна невропатия, периферната артериална болест, деформациите на стъпалото(4). Други утежняващи фактори са предишна улцерация и/или ампутация, мъжкият пол, захарният диабет тип 2, лошият гликемичен контрол, реализирани микросъдови усложнения, терминалната бъбречна болест (особено на хрониодиализно лечение), зрителните нарушения, тютюнопушенето, напредналата възраст, социалната изолация, лошата хигиена, носенето на неподходящи обувки(27). За възникването на рана е необходимо наличието на захарен диабет в комбинация обикновено с 2 или повече рискови фактора, като с водещо значение са невропатията и артериалната съдова недостатъчност. Еволюцията на увреждания преминава през деформация на стъпалото и промяна в биомеханиката на крака, натрупване на калус, намаляване на потната секреция, образуване на язва, инфектиране, некроза и ампутация(20, 28, 29, 30, 31). Доброто познаване на рисковите фактори за диабетно стъпало и механизмите, по които те действат, е предпоставка за по-ефективна превенция и терапия на това усложнение **(Фигура 1)**.



Фигура 1. Фактори, водещи до улцерация на стъпалото при пациенти със захарен диабет(32)

Диабетна полиневропатия (ДПНП) и диабетно стъпало

Диабетната полиневропатия се дефинира като наличие на симптоми и/или признаци на дисфункция на периферните нерви при човек със захарен диабет, като са изключени други причини за тези нарушения(2). Тя засяга различни части на нервната система и има разнообразни клинични прояви. Според поставения критерий може да бъде класифицирана на: соматична и вегетативна, сетивна и моторна, централна и периферна, симетрична и асиметрична, генерализирана и фокална/мултифокална, симптоматична (с позитивни и с негативни прояви) и асимптоматична, моно- и полиневропатия, остра и хронична, проксимална и дистална невропатия. Най-честата

форма при хората със захарен диабет е дисталната симетрична сензомоторна полиневропатия. В зависимост от чувствителността на използвания диагностичен метод диабетната невропатия (ДН) се открива при 16 до 87% от хората със захарен диабет(33), а при 26% от тях се описва болезнената ѝ форма(34). Препоръчително е скринингът за ДН да се провежда 5 години след диагностициране на захарен диабет тип 1 и в момента на поставянето на диагнозата при захарен диабет тип 2. Това се обуславя от факта, че при последния има дълъг период на безсимптомна хипергликемия и дори сред 11-25% от хората с предиабет се установява периферна невропатия(35). Както при захарен диабет тип 1(36, 37), така и при тип 2(38) развитието на ДН зависи от давността на диабета и от тежестта на хипергликемията(39). Други рискови фактори са възрастта на пациента, наличието на артериална хипертония, дислипидемия, албуминурия, реализирани вече микро- и макросъдови усложнения(40).

По-малко от една трета от лекарите в света успяват да разпознаят наличието на диабетната невропатия, дори когато тя е симптоматична(41). Това допринася за късното ѝ откриване, по-тежката болестност, инвалидност и смъртност(42). Патоанатомичният субстрат на нервната увреда при ДПНП е аксоналната дегенерация и огнищната демиелинизация. За развитието на диабетното стъпало значение има загубата на протективен усет – допир, натиск, проприорецепция, болка, температура, както и засягането на автономната судомоторна функция. Тези промени са в основата при образуването на невропатните и невро-исхемичните рани(43).

Американската диабетна асоциация предлага следната класификация на диабетната невропатия(44):

А. Дифузна невропатия (полиневропатия)

a) Дистална симетрична полиневропатия

   • Предимно на тънките влакна

   • Предимно на дебелите влакна

   • Смесена – на тънките и дебелите влакна (най-често)

b) Автономна

1. Сърдечно-съдова

   • Намалена вариабилност на сърдечната честота

   • Тахикардия при покой

   • Ортостатична хипотония

   • Внезапна сърдечна смърт (малигнена аритмия)

2. Гастроинтестинална

   • Диабетна гастропареза (гастропатия)

   • Диабетна ентеропатия (диария)

   • Дебелочревен хипомотилитет (констипация)

3. Урогенитална

   • Диабетна цистопатия (неврогенен пикочен мехур)

   • Еректилна дисфункция

   • Сексуална дисфункция при жени

4. Судомоторна дисфункция

   • Дистална хипохидроза/анхидроза,

   • Густаторно изпотяване

5. Неразпознаване на хипогликемиите

6. Пупиларна дисфункция

В. Мононевропатия /множествена мононевропатия/ (атипични форми)

- Изолирано засягане на ЧМН или периферни нерви (например III-ти ЧМН, n. ulnaris, n. medianus, n. femoralis, n. peroneus)
- Множествена мононевропатия (ако е преливаща, наподобява полиневропатията)

C. Радикулопатия или полирадикулопатия (атипични форми)

- Радикулоплексит (така наречената лумбосакрална полирадикулопатия, проксимална моторна амиотрофия)
- Торакална радикулопатия

➢ Недиабетни невропатии, които са чести при хората със ЗД

- Компресионни невропатии
- Хронична възпалителна демиелинизираща полиневропатия (синдром на Guillain-Barre)
- Радикуло-плексусна невропатия
- Остра болезнена невропатия на тънките влакна (предизвикана от лечението на ЗД)

Хронична сензомоторна невропатия е най-разпространената проява на диабетната невропатия и се наблюдава при около 50% от пациентите с диабет. Тя може да се прояви както с позитивна симптоматика – оплаквания от изгаряща, стрелкаща или пробождаща болка, парестезии, хиперестезии, така и с негативна – намалена до липсваща сетивност. Невропатната болка е най-тежкият симптом, като тя се засилва обикновено през нощта и се локализира предимно в долните крайници. Макар и по-рядко може да засегне и ръцете. Близо половината от пациентите нямат симптоматика и в такива случаи диагнозата се поставя с помощта на неврологичен преглед, при който се открива загуба на вибрационна чувствителност, на усет за натиск, болка и температура, както и липсващи Ахилови рефлекси. Могат да бъдат наблюдавани белези на периферна автономна дисфункция – суха топла или студена кожа, разширени повърхностни вени на гърба на стъпалото (при липса на периферно съдово заболяване) и наличие на калус в подложените на натиск области.

Острата болезнена невропатия е сравнително рядка форма и обикновено е свързана с периоди на лош метаболитен контрол (например кетоацидоза) или резки промени в нивата на кръвната захар. Характеризира се с остро начало, тежка сетивна симптоматика, подчертано нощно обостряне и оскъдни данни от неврологичния преглед. Алгична невропатия може да се изяви за първи път едновременно с началото на лечението с инсулин или перорални антидиабетни средства и се нарича още медикаментозно-индуциарана невропатия. Описана е още през 1958г и в миналото е наричана инсулинов неврит(45). Въпреки че механизмите за това не са напълно изяснени, през годините са предполагани различни хипотези. Например, че подобреният гликемичен контрол може да доведе до регенерация на невроните, осмотични промени в аксона и перикариона на нервната клетка, като в резултат се предизвиква генериране на ектопични нервни импулси(46). Други автори предполагат, че болката може да се дължи на изтъняване и нагъване на артериалните съдове, артерио-венозно шънтиране и пролиферация на нови съдове(47). Обикновено симптомите отшумяват спонтанно в хода на лечението за няколко седмици при поддържане на стабилни нива на гликемията.

Автономната диабетна невропатия представлява засягане на нервите на вегетативната нервна система, участващи в регулацията на сърдечната честота, артериалното налягане, мотриката и секрецията на гастроинтестиналния тракт, потоотделянето и др. Най-честите клинични прояви на автономната невропатия включват тахикардия в покой, ортостатична хипотония, констипация, гастропареза, еректилна дисфункция, нарушение на судомоторната функция, нечувствителност към хипогликемии. Значително внимание се обръща на кардиалната автономна невропатия, тъй като това усложнение е потенциално животозастрашаващо. От друга страна судомоторната автономна невропатия често е подценявана и обичайно не се диагностицира в ежедневната клинична практика, но тя има съществено значение в развитието на диабетното стъпало(48). Екринните потни жлези на дланите и стъпалата се инервират от тънки немиелинизирани симпатикови холинергични С-влакна. Поради структурните си особености, тези влакна са силно уязвими и са едни от първите, които се засягат в хода на невропатния процес(49). В резултат на увреждането им намалява потната

секреция, овлажняването и еластичността по повърхността на стъпалата. Кожата става суха и къслива при механично натоварване, образуват се фисури, които са входна врата за микроорганизми. Създават се предпоставки за възникване на инфекции, улцерации, а също така се забавя оздравителния процес на вече образуваните язви(50).

Фокалните и мултифокалните невропатии често имат внезапно начало и могат да засегнат медианния нерв (5.8% от всички диабетни невропатии), улнарния нерв (2.1%), радилания нерв (0.6%) и общия перонеален нерв. Краниалните невропатии са изключително редки (0.05%) и се наблюдават най-често на III, IV, VI, и VII ЧМН. Електрофизиологичните изследвания показват намаление както на скоростта, така и на амплитудата на провеждане, което е резултат от подлежаща демиелинизация и аксонална дегенерация.

Диабетната амиотрофия обикновено се среща по-често при по-възрастни мъже със захарен диабет тип 2. Хистологичните промени са по типа на имунно-медииран епиневрален микроваскулит. Клиничната характеристика на амиотрофията включва силна невропатна болка и едностранна или двустранна мускулна слабост с атрофия на проксималните мускули на бедрото (m. Iliopsosas, m. Obturator, mm. Adductores).

Обичайно диабетната невропатия се подразделя към хроничните микросъдови усложнения на диабета, но тъй като в механизмите на нейното развитие участват не само съдови фактори, някои автори я поставят в отделна група. Съществуват две основни теории за патогенезата на диабетната невропатия, като едната набляга на метаболитните ефекти на хроничната хипергликемия, а другата – на исхемичната увреда на периферните нерви чрез засягане на vasa nervorum(51, 52). Някои други фактори като промени в невротрофните фактори и имунни механизми също имат патогенетична роля. Такива са невралния растежен фактор (Nerve Growth Factor - NGF), полученият от мозъка невротрофен фактор (Brain-derived neurotrophic factor - BDNF), невротрофини-3, 4 и 5 (NT-3, 4, 5), съдово-ендотелен растежен фактор (Vascular Endothelial Growth Factor - VEGF). В експериментални модели е установено, че при ДН локалните нива на тези фактори са понижени(53). Има данни също, че С-пептидът, който свързва алфа и бета веригата на проинсулина, има невропротективен ефект.

Дефицитът на С-пептид при захарен диабет може също да съучаства в развитието на ДН(54).

В основата на метаболитната хипотеза за ДН е хроничната хипергликемия и свръхекспресията на полиоловия път. При него се повишава активността на ензимите алдозоредуктаза и сорбитол дехидрогеназа. Резултатът е превръщането на вътреклетъчната глюкоза последователно в сорбитол и фруктоза. Натрупването на тези глюкозни метаболити води до намаляване синтезата на невроклетъчния миоинозитол, необходим за нормалното клетъчно провеждане. Допълнително химическото преобразуване на глюкозата води до изчерпване на запасите от никотинамид аденин динуклеотид фосфат (НАД-Ф), който е необходим за детоксикация на реактивния кислород и за производството на вазодилататорния азотен оксид. В следствие на това се получава повишение на оксидативния и нитрозативния стрес в нервната клетка, повишаване на вазоконстрикцията и намаляване активността на $3Na^+/2K^+$ аденозинтрифосфатаза. Това води до исхемия и допринася за невроклетъчната увреда и смърт(55). Други патогенетични механизми са активация на хексозаминовия път, неензимното гликиране на протеините с образуване на междинни Шифови бази, продукти на Амадори и свързването им с рецепторите за крайни продукти на гликирането, промяна в метаболизма на мастните киселини, засилена продукция на свободни реактивни кислородни радикали, пероксинитрит, митохондриално оксидативно претоварване, свръхактивация на протеин киназа С (PKC)(56).

Според съдовата хипотеза свързаните с хипергликемията метаболитни нарушения водят до съответни промени в ендотела и микроциркулацията, които от своя страна са отговорни за увреждането на нервните клетки. Животински модели на диабетна невропатия показват, че тя се съпътства от намален ендоневрален кръвен ток, повишено ендоневрално съдово съпротивление, както и от намалено парциално налягане на кислорода(57, 58). Изброените патогенетичните механизми имат множество пресечни точки. Специфичното за ендотелните и нервните клетки инсулин-независимо усвояване на глюкозата води до последващо безпрагово вътреклетъчно глюкозно натрупване. По този начин неблагоприятните ефекти се реализират от една страна директно върху нервните клетки (метаболитно), а от друга страна –

опосредствано, след първоначално увреждане на микросъдовете на нервите и последващи исхемични неврални поражения(съдово)(56) **(Фигура 2)**.



ЕПР – ендоплазматичен ретикулум; ГЛ - гликолиза

Фигура 2. Патогенеза на диабетната невропатия(44)

Диабетната невропатия е диагноза на изключването. Тя се базира на определени симптоми и признаци от страна на пациента, както и на обективни изследвания. Над 50% от пациентите с ДН могат да бъдат олиго- или асимптоматични, затова е необходимо провеждане на скрининг и активното търсене на това усложнение(44). Още огледът на стъпалата може да разкрие деформации, суха, напукана кожа, атрофия на мускулите, язви, ампутации. Друг важен аспект е анализът на походката, която може да бъде нестабилна поради загуба на проприорецепция(40).

Обективните изследвания се разделят по различни критерии на: инвазивни и неинвазивни; количествени, полуколичествени и качествени; апаратни и инструментални; скринингови и потвърдителни; отчитащи структурните промени на нервите и такива, изследващи функцията им.

Златен стандарт при изследването на диабетната невропатия е електроневрографията (ЕНГ). Чрез нея могат да се измерят множество количествени параметри, като скоростта на провеждане по нервите, амплитудата на нервния импулс, F-вълна, H-рефлекс и други. Методът е с много добра възпроизводимост и може да служи за проследяване на хората с ДН. Има данни, че скоростта на провеждане по перонеалния нерв е обратно пропорционална на риска от улцерации на стъпалото, независимо от наличието на сензорна невропатия(59). Недостатък на ЕНГ е, че дава информация за състоянието само на дебелите миелинизирани нервни влакна, които често се засягат по-късно в хода на невропатния процес.

Утвърдените методи за оценка на морфологичните промени в нервите са два – инвазивната кожна пънч биопсия и контактната корнеална конфокална микроскопия.

Кожната биопсия се използва за оценка на тънките интраепидермални соматични и вегетативни нервни влакна. Описва се дължината, гъстотата на влакната и тяхната разклоненост. Тя обективизира промените при клинична суспекция за диабетна моно- и полиневропатия на тънките влакна при наличие на типични симптоми като парене, болка, изтръпване, както и когато резултатите от ЕНГ не дават отклонения. Обикновено се взима 3-мм пънч биопсия от кожата на подбедрицата – на около 10 см над латералния малеол или от латералната част на бедрото – на 20 см под spina iliaca anterior superior. Допълнително кожната биопсия може да се използва за проследяване прогресията на ДН и ефекта от лечението ѝ(60).

Вторият метод за оценка на структурните промени в нервите при ДН е корнеалната конфокална микроскопия. Тя е неинвазивен, но контактен метод, който изисква специална подготовка на пациента, използване на скъпа апаратура, софтуерна обработка на данните и обучен персонал. Дава възможност за изобразяване в реално време и заснемане на структурите в различните слоеве на роговицата. Последната изобилства от немиелинизирани сензорни нервни влакна на 1-вия тригеминален клон. Чрез оглед на суб-базалния нервен плексус може да се направи оценка на дължината, гъстотата и разклонеността на нервите. Методът дава съпоставими резултати за тежестта на невроналната увреда при ДН с тези от кожна биопсия на крака. При

влошаване на невропатията нервите стават по-къси, по-разрехавени и по-малко разклонени(61, 62).

Сред различните прояви на автономна невропатия судомоторната дисфункция има пряко отношение към риска за развитие на диабетни рани(63). Разработени са следните методи за изследването ѝ: количествен судомоторен аксонален рефлекс тест - QSART (златен стандарт), симпатикусов кожен отговор, електрохимична кожна проводимост (Sudoscan), терморегулаторен потен тест, полуколичествен тест Neuropad, тест със силиконов отпечатък, количествен директен и индиректен судомоторен тест, чувствителен потен тест, тест с лъжицата, кожна биопсия. За оценка на судомоторната функция на стъпалата в клиничната практика широко се използват полуколичественият тест Neuropad(64) и количественото измерване на електрохимичната кожна проводимост чрез Sudoscan, а останалите методи се прилагат при научни изследвания.

Neuropad е визуален неинвазивен скринингов метод, при който се залепва пластир с кобалтов индикаторен материал върху долната повърхност на стъпалото. Пластирът променя цвета си според овлажняването на подлежащата кожа. При нормална реакция става преход от син през петнисто синьо-розов до розов цвят в рамките на 10 минути. Този тест позволява да се направи оценка на рисковия профил на лицето да развие диабетно стъпало(65). Липсата на промяна в цвета на индикаторната хартия се свърза с до 16 пъти по-висок улцеративния риск(40).

Судоскан е устройство за неинвазивно, бързо и автоматизирано количествено изследване на судомоторната функция и индиректно на автономната инервация към екринните потни жлези по дланите, стъпалата и челото. Методът е базиран на принципа на обратната йонофореза и хроноамперометрията. Под действието на нисковолтажен ток (<4V) се предизвиква извличане на хлорните аниони от потните жлези и генериране на електрохимична кожна проводимост (ЕКП). Методът е с добра възпроизводимост и не се влияе от гликемията. Подходящ е за ежедневната клинична практика и апаратът не изисква консумативи. Резултатите от Sudoscan корелират с тези от интраепидермалната кожна биопсия и вибротезиометъра при диагностициране на периферни невропатии(66, 67). ЕКП корелира обратно с риска за развитие на диабетно

стъпало и кардиална автономна невропатия(68, 69, 70, 71). Кожни промени и медикаменти, повлияващи симпатикусовата нервна система, могат да интерферират с резултатите.

Редица проспективни проучвания потвърждават, че дисфункцията на дебелите (проприоцептивни нарушения) и на тънките нервни влакна (загуба на усет за болка и температура) има ключова роля в патогенезата на диабетните улцерации, което налага тяхната своевременна оценка(43, 72). Различните модалности на соматичната сетивност могат да се изследват качествено, полуколичествено и количествено с валидирани инструментални и апаратни методи. При оценка на усета за допир и натиск се използва 10-грамовият монофиламент на Semmes-Weinstein, приложен в определени точки на ходилото. Чрез 128 Hz камертон на Rydel-Seiffer се оценява интегритетът на вибрационния усет, като той се поставя върху костна подложка на стъпалото (най-често върху гърба на дисталната фаланга на 1-ви пръст). Тези тестове дават информация за проводимостта по дебелите сетивни миелинизирани влакна. Тънките и немиелинизирани сетивни влакна могат да бъдат изследвани чрез термален дискриминатор. Допълнително в скрининговия протокол за диабетна невропатия се включва и изследване на Ахиловите и коленните рефлекси. Диагностичната батерия Neuropathy disability score (NDS) съчетава повечето от тези методи и дава информация както за наличието на диабетна невропатия със загуба на протективен усет, така и за улцеративния риск. В оригиналния тест вместо 10-грамовия монофиламент се използва убождане с пирон – pinprick(65, 73) **(Приложение 1)**.

Вибрационният усет може също да бъде изследван количествено и чрез т. нар. вибротезиометър, при който вибрационната честота е 100 Hz, а интензитетът на вибрациите може да се променя от 0 до 100 V. При праг на възприятие ≥25 V се счита, че има нарушен вибрационен усет, което има предиктивна стойност по отношение развитието на невропатни диабетни улцерации(43, 72, 74, 75, 76). Резултатите от вибротезиометъра корелират и с данните от Судоскан при установяване наличието на ДПНП(77).

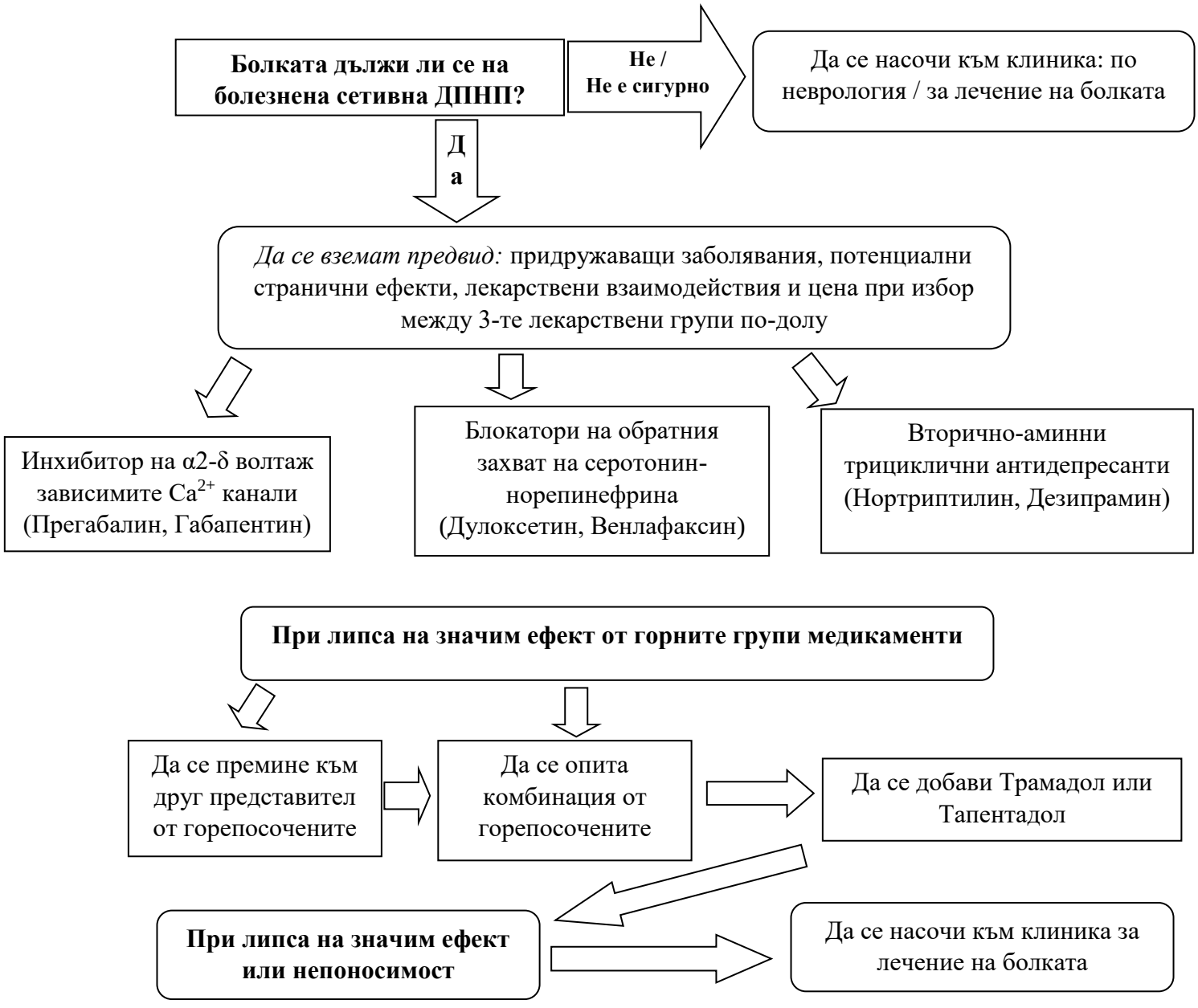
В Ипсуич, Великобритания е създаден още по-опростен метод за скрининг на пациентите със захарен диабет по отношение риска от развитие на невропатни рани. При него не са необходими апарати или инструменти, а се прилага единствено докосване върху пръстите на стъпалата на изследвания чрез показалеца на изследващия за около 1-2 секунди. Нарушеният усет в ≥2 точки е белег за загуба на протективен усет и увеличен улцеративен риск(78).

Използването на валидирани въпросници за невропатия е удобен метод за изследване на рисковите популации (каквито са хората със захарен диабет). Такъв е например Мичиганският инструмент за скрининг на невропатия (Michigan Neuropathy Screening Instrument - MNSI). Той има 2 части – първата (част А) е съставена от 15 затворени въпроса, а втора (част Б) включва преглед с оценка вида на стъпалата, проверка за наличието на улцерации, изследване на Ахиловите рефлекси, на вибрационния усет на крака чрез 128-Hz камертон и тест с 10-грамов монофиламент. За този диагностичен инструмент е доказано, че има предиктивна стойност и по отношение развитието на диабетни рани(79) **(Приложение 2)**.

Най-успешното лечение на диабетната невропатия е нейната превенция чрез навременно повлияване върху рисковите фактори. Добрият гликемичен контрол е в основата на забавянето на прогресията на хроничните микросъдови усложнения(80, 81). Провеждани са различни опити за патогенетично лечение на ДН – с алдозо-редуктазни инхибитори, с блокатори на образуването на крайните продукти от гликирането, с миоинозитол, ганглиозиди, антиоксиданти, растежни фактори, витамини и други. Най-широко проучвана е тиоктовата (алфа-липоевата) киселина. Тя е мощен антиоксидант, който намалява оксидативния стрес върху нерва и подобрява регенерацията му. Има допълнителни благоприятни метаболитни ефекти, като намалява инсулиновата резистентност(56). В международното двойно сляпо рандомизирано проучване NATHAN-1, включващо близо 900 пациенти от 36 центъра на 2 континента, е установено че 4 годишен курс на лечение с алфа-липоева киселина има благоприятен ефект върху невропатните позитивни и негативни симптоми, но не повлиява електоневрографските параметри(82). От друга страна има множество локални

проучвания, включително в България, които демонстрират позитивни ефекти както върху симптомите на ДН, така и върху обективни параметри като прага за вибрационен усет. В описаните публикации се докладва също добро повлияване върху соматичната болезнена ДН, върху автономната ДН и при мононевропатиите(83, 84, 85, 86).

По отношение симптоматичното лечение на болезнената диабетна полиневропатия Американската диабетна асоциация предлага следния клиничен алгоритъм(44):



Фигура 3. Алгоритъм за симптоматично лечение при болезнена форма на ДПНП

Периферна артериална болест и диабетно стъпало

Периферната артериална болест е друг основен рисков фактор за развитие на диабетно стъпало, като тя засяга съдове от малък и голям калибър. Дефинира се като обструктивна атеросклеротична съдова болест с характерни клинични симптоми, признаци или отклонения в неинвазивните съдови изследвания и водеща до нарушена циркулация в един или повече от крайниците(2). Около 50% от хората с ПАБ са асимптоматични, докато 33% имат атипични прояви. Според данни от 2016г периферната артериална болест засяга повече от 200 милиона души в света(87, 88). При хората със захарен диабет, в сравнение с недиабетиците, тя е по-честа, с по-бърза прогресия, засяга по-млади хора, мултисегментна, билатерална и по-дистална е, свързана е с нарушено формиране на колатерали, с по-голям процент медиокалциноза и е с по-бърза прогресия до ампутация(89). Липсата на периферни пулсации на стъпалата, предхождащата реваскуларизация, намаленото транскутанно кислородно налягане ($TcPO_2$) и ниският индекс глезен/мишница (ИГМ) (Ankle-Brachial Index - ABI) се оказват независими предиктори за улцерации на стъпалото(75, 90). Само липсата на пулсации на a. dorsalis pedis е свързана с 6.3 пъти по-висок ампутационен риск (95% CI 5.57–7.0)(91). При използване на ИГМ е установено, че сред диабетната популация около 20% от хората над 40 години и 29% от тези над 50 години имат ПАБ(92). Прогнозата на пациент с диабет, периферна артериална болест и язва на стъпалото, налагаща ампутация, е по-лоша от тази при голяма част от раковите заболявания – до 50% от пациентите не доживяват 5-тата година след операцията(93, 94).

В развитите страни половината от хората с диабетни рани на стъпалата имат някаква форма на периферна артериална болест(93, 95), докато невропатните рани са по-чести в развиващите се държави(96, 97). Периферната артериална болест е самостоятелен рисков фактор за лошо заздравяване и инфектиране на диабетните язви, за ампутация на крайника, свързана е с повишен риск за сърдечно-съдов инцидент и смърт(98, 99, 100, 101, 102). Съдовата недостатъчност при хората с диабет може да остане неразпозната до момента, в който не настъпи деструкция на тъканите на ходилото, тъй като много често липсват типичните клинични симптоми като клаудикацио и болка при

покой(103, 104). Това е свързано с придружаващата диабетна полиневропатия, медиокалцинозата на артериалните стени и периферните отоци(105).

За диагностиката на периферната артериална болест при хората с диабетни рани, освен снемането на насочена сърдечно-съдова анамнеза и палпацията на артериите на стъпалата, е необходимо да се проведат и обективни изследвания. Едно от най-достъпните и проучвани е индексът на систолното артериално налягане глезен/мишница, като стойности под 0.9 са показателни за периферна артериална болест(106). Нормалният диапазон е от 0.9 до 1.3, но невинаги стойностите над 0.9 изключват нарушение в циркулацията, поради често съпътстващата медиокалциноза на артериалната стена (Mönckeberg склероза), която е белег на авансирала атеросклероза и компрометира изследването(105). В допълнение, като по-чувствителен и по-слабо зависим от медиокалцинозата показател може да се използва индексът на систолното артериално налягане палец на крака/мишница (ИПМ), като неговите нормални стойности са над 0.75(106, 107). Доплеровото изследване на пулсовите вълни на тибиалната и поплитеалната артерия се определя като най-достоверния неинвазивен метод при диагностиката на ПАБ. При установяване на трифазна пулсова вълна на a. dorsalis pedis на нивото на медиалния малеол и на a. peronea в средната част на подбедрицата може да се изключи с голяма вероятност наличието на периферна артериална болест(108). Установено е, че при комбинирането на повече от един способ за изследване циркулацията на стъпалото диагностичната точност се повишава(109, 110). Например, съчетанието от ИГМ между 0.9 и 1.3, ИПМ $\geq$ 0.75 и наличие на трифазни пулсови вълни на крака намалява значително възможността да има нарушен кръвоток към ходилото, но това не изключва провеждането на верифициращи съдови образни изследвания (като цветна дуплекс ехография, неинвазивни ангиографии - компютърно-томографска, магнитно-резонансна или инвазивна дигитална субтракционна ангиография)(111). Допълнителни показатели, изискващи специализирана апаратура, са транскутанното кислородно налягане ($TcPO_2$) и кожното перфузионно налягане. Те също допринасят за оценката на исхемичното стъпало. Установено е, че при човек с диабетна рана на стъпалото и периферна артериална болест всеки от следните параметри повишава вероятността за заздравяване на

улцерацията с 25%: кожно перфузионно налягане ≥ 40mmHg, систолно налягане на пръст на крака ≥ 30mmHg или транскутанно налягане на кислорода ($TcPO_2$) ≥ 25 mmHg(112).

От друга страна при наличие на диабетна рана и някои от следните показатели: систолно налягане на глезена < 50 mm Hg, ИГМ < 0.5, систолно налягане на пръст на крака < 30 mm Hg или $TcPO_2$ <25 mmHg, е необходимо да се проведе неотложно образно съдово изследване и реваскуларизация(113). Също така при улцерации, които не заздравяват в рамките на 4 до 6 седмици, въпреки оптималните грижи, се препоръчва ангиография и евентуално интервенционална процедура за оптимизиране на кръвотока в съда, перфузиращ зоната на раната(89). Ако не се установи тежка исхемия, има полза към общите мерки да се добави използването на превръзки, импрегнирани със сукроза октасулфат (114). При диабетните рани има удължена фаза на възпаление с фибробластна дисфункция, нарушена неоваскуларизация и повишена концентрация на матриксните металопротеинази(115, 116). Последните забавят заздравяването на раните чрез разграждане на локалните растежни фактори и разрушаване на екстрацелуларния матрикс(116, 117). При исхемичните и невро-исхемичните рани този протеазен дисбаланс е най-изразен(118, 119). Калиевата сол на сукроза октасулфата действа на тъканно ниво чрез инхибиране свръхактивността на матриксните металопротеинази(120). Структурата на това съединение осигурява активиращото ѝ взаимодействие с локалните растежни фактори и по този начин възстановява тяхната функционалност за регенерация на тъканите(121, 122). Има данни, че сукроза октасулфатът повлиява благоприятно и други видове хронични рани като например тези при хронична венозна недостатъчност на долните крайници(123).

В терминологията се въвежда и понятието хронична исхемия, застрашаваща крайника. Дефинира се като клиничен синдром с наличие на периферна артериална болест в комбинация с болка при покой, гангрена или язва на дисталната част на крака с давност над 2 седмици. Този термин заменя по-рано използваните – тежка и критична исхемия(124).

За класифициране на периферната артериална болест има различни скали, като широко използвани до скоро в съдовата хирургия са били фундаменталните класификации на Лериш-Фонтен от 1954г(125) и тази на Ръдърфорд от 1986г, ревизирана през 1997г(126, 127). Класификацията на Лериш-Фонтен е базирана само на клинични симптоми, без обективни диагностични тестове, но пък предлага конкретна дистанция за разграничаване на по-леко от по-тежко интермитентно клаудикацио. Тя е използвана предимно при научни изследвания и по-рядко в клиничната практика. Системата на Ръдърфорд е по-детайлна и включва поотделно класификация за остра и хронична исхемия. Тя също отчита големината на тъканната загуба, наличието на сетивност и мускулна слабост. Базира се на обективни изследвания като глезенно и пръстово налягане, артериално и венозно Доплерово изследване, Тредмил проба и тест с реактивна хиперемия(128) **(Таблица 1, Таблица 2 и Таблица 3)**.

Стадий	**Симптоми**
Стадий I	Асимтоматичен, непълно запушване
Стадий II	Лека болка в крака с клаудикацио
Стадий IIA	*Клаудикацио на разстояние ≥ 200 метра*
Стадий IIB	*Клаудикацио на разстояние < 200 метра*
Стадий III	Болка при покой, предимно в стъпалата
Стадий IV	Некроза и/или гангрена на крака

Таблица 1. Класификация на Лериш-Фонтен

Категория	Описание / Прогноза	Обективна находка		Доплеров сигнал	
		Загуба на сетивност	Мускулна слабост	Артериален	Венозен
I. Витален	Не е необходимо да се лекува веднага	Не	Не	Доловим	Доловим
II. Застрашен					
a. Гранично	Спасяем, ако се лекува веднага	Минимална (на пръстите) или няма	Не	Недоловим	Доловим
b. Спешно	Спасяем, ако се реваскуларизира веднага	На повече от пръстите, заедно с болка при покой	Лека, умерена	Недоловим	Доловим
III. Необратимо увреден	Голяма тъканна загуба или трайна увреда на нерв са неизбежни	Тежка, анестезия	Тежка, парализа	Недоловим	Недоловим

Таблица 2. Класификация на Ръдърфорд за остра исхемия на крайника

Стадий	Категория	Клинично описание	Обективни критерии
0	0	Асимптоматично – без хемодинамично значима оклузивна болест	Нормален Тредмил-тест или нормален тест с реактивна хиперемия
	1	Леко клаудикацио	Завършва Тредмил-теста; Глезенно налягане след натоварване > 50 mm Hg, но е с поне 20 mm Hg по-ниско от стойността при покой
I	2	Умерено клаудикацио	Между категории 1 и 3
	3	Тежко клаудикацио	Не може да завърши стандартен Тредмил-теста и глезенното налягане след натоварване е < 50 mm Hg
II	4	Исхемична болка при покой	Глезенно налягане при покой < 40 mm Hg, плоска или леко пулсативна пулсова вълна на глезена и метатарзално, налягане на палеца < 30 mm Hg
III	5	Малка тъканна загуба – незарастваща язва, локална гангрена с дифузна исхемия на стъпалото	Глезенно налягане при покой < 60 mm Hg, плоска или леко пулсативна пулсова вълна на глезена и метатарзално, налягане на палеца < 40 mm Hg
	6	Голяма тъканна загуба, достигаща над трансметатарзално ниво, невъзможност да се спаси функционално стъпало	Същите като при категория 5

Таблица 3. Класификация на Ръдърфорд за хронична исхемия на крайника

Боравенето с множеството споменати показатели и прагови стойности създава затруднения в ежедневната клинична практика. Също така заздравяването на диабетните рани зависи и от редица други несъдови фактори като площта загубена тъкан, наличието на инфекция, механичния натиск върху лезията, придружаващите заболявания (напр. сърдечна, бъбречна недостатъчност) и други(129). По тази причина още през 2013г Обществото по съдова хирургия предлага комплексна система, наречена Wifi (Wound, Ischemia, Foot infection – рана, исхемия, инфекция на стъпалото), която е валидирана за диабетна и недиабетна популация(130). Състои се от 3 подсистеми – за оценка на раната (дълбочина, наличие на гангрена); на исхемията (ИГМ, систолно налягане на глезена и систолно налягане на пръст на крака или транскутанното кислородно налягане); на инфекцията (класификацията на IWGDF/IDSA – МРГДС и Американското общество по инфекциозни болести). Wifi системата надгражда и замества по-старите класификации на Лериш-Фонтен и Ръдърфорд. Също така чрез оценката на множество фактори Wifi подпомага клинициста да постави пациента в категория, която определя едногодишния му риск от ампутация и потенциалната полза от реваскуларизация на крайника **(таблици 4, 5, 6)**(131).

Степен	Диабетна рана	Гангрена
0	Няма диабетна рана	Няма гангрена
	Обективно: малка загуба на тъкан. Може да се съхрани стъпалото с ампутация на пръст (1 или 2) или чрез покриване на кожата.	
1	Малка(и), плитка(и) язва(и) в дисталната част на крака или стъпалото; няма открита кост, освен дисталните фаланги	Няма гангрена
	Обективно: малка загуба на тъкан. Може да се съхрани стъпалото с ампутация на пръст (1 или 2) или чрез покриване с кожа.	
2	По-дълбока язва с открита кост, става или сухожилие, която не включва петата; Плитка язва на петата, без калканеално ангажиране	Гангрена, ограничена до пръстите
	Обективно: голяма загуба на тъкан. Може да се съхрани стъпалото с ампутация на множество пръсти (≥3) или стандартна трансметатарзална ампутация (TMA) + покриване с кожа.	
3	Обширна дълбока язва, ангажираща предната и/или средната част на стъпалото; Дълбока язва на петата ± калканеално ангажиране	Обширна гангрена, ангажираща предната и/или средната част на стъпалото, дълбока некроза на петата ± калканеално ангажиране
	Обективно: обширна загуба на тъкан. Може да се съхрани стъпалото само с комплексната му реконструкция или атипична TMA (по Chopart или Lisfranc); покртие на раната с ламбо или комплексно лечение при налична голяма мекотъканна увреда	

Таблица 4. Класификация на раната (WIfi)

Степен	Индекс глезен/мишница	Систолно налягане на глезена (mm Hg)	Налягане на пръста на крака / Транскутанно кислородно налягане (mm Hg)
0	≥ 0.80	>100	≥60
1	0.6-0.79	70-100	40-59
2	0.4-0.59	50-70	30-39
3	≤0.39	<50	<30

Таблица 5. Класификация на исхемията (WIfi)

Степен	Клинична изява
0	Без симптоми и признаци на инфекция
1	Наличие на инфекция, дефинирана като наличие на поне 2 от следните признака: • Локално подуване или индурация • Еритем >0.5 до ≤2 см около раната • Локална чувствителност или болка • Локално затопляне • Гнойна секреция (плътна, матова до бяла или кръвениста секреция) Локална инфекция, ангажираща кожа и подкожие (без да обхваща по-дълбоки тъкани и без системни прояви като тези описани по-долу). *Да се изключи друга причина за възпалителен отговор на кожата (напр. травма, подагра, остра фаза на невро-остеоартропатия на Шарко, фрактура, тромбоза, венозна стаза)*
2	Локална инфекция (както е описана по-горе), но с еритем >2 см или ангажираща структури по-дълбоки от кожата и подкожието (напр. абсцес, остеомиелит, септичен артрит, фасциит) и без системни прояви (като тези описани по-долу)
3	Локална инфекция (както е описана по-горе) с признаци на системна инфламаторна реакция, представяща се с два или повече от следните признака: • Температура >38ºC or <36ºC • Сърдечна честота >90 удара/мин • Дихателна честота >20 дишания/мин или $PaCO_2$ <32 mm Hg • Левкоцитен брой >12 или <4 G/l или >10% незрели (щаб) форми
o	*При наличие на остеомиелит, да се добави „o“ след степен 2 или 3*

Степен 0 – липсва/много лека инфекция; Степен 1 – лека инфекция; Степен 2 – умерена инфекция; Степен 3 – тежка (системна) инфекция

$PaCO_2$ – парциално налягане на въглеродния диоксид в кръвта

Таблица 6. Класификация на инфекцията на стъпалото (Wifi)

Риск от ампутация	**Клиничен стадий**	**WIfI оценка**
Много нисък	Стадий1	W0 I0 fI0,1
		W0 I1 fI0
		W1 I0 fI0,1
		W1 I1 fI 0
Нисък	Стадий 2	W0 I0 fI2
		W0 I1 fI1
		W0 I2 fI0,1
		W0 I3 fI0
		W1 I0 fI2
		W1 I1 fI1
		W1 I2 fi0
		W2 I0 fI0/1
Умерен	Стадий 3	W0 I0 fI3
		W0 I2 fI1,2
		W0 I3 fI1,2
		W1 I0 fI3
		W1 I1 fI2
		W1 I2 fI1
		W1 I3 fI0,1
		W2 I0 fI2
		W2 I 1 fI0,1
		W2 I2 fi0
		W3 I0 fi0,1
Висок	Стадий 4	W0 I1,2,3 fI3
		W1 I1 fI3
		W1 I2,3 fI2,3
		W2 I0 fI3
		W2 I1 fI2,3
		W2 I2 fI1,2,3
		W2 I3 fI0,1,2,3
		W3 I0 fI2,3
		W3 I1,2,3 fI0,1,2,3
Стадий 1: Минимална исхемия; няма/малка загуба на тъкан Стадии 2-4: отразяват напредващите стадии на исхемия, раневия обхват и инфекцията Стадий 5 (не е показан в таблицата): неспасяемо стъпало - най-често поради обхвата на раната или тежестта на инфекцията.		

W – Рана; I – Исхемия; fI – Инфекция на стъпалото.

Таблица 7. Клинични стадии и риск от голяма ампутация на крака (Wifi)

След оценяване на диабетното стъпало по трите системи може да се определи клиничният стадий и рискът за голяма ампутация при конкретния пациент **(Таблица 7)**(124).

Изборът за лечение на периферната артериална болест при диабетна язва се базира на индивидуални фактори поради липса на убедителни доказателства за полза на даден метод над останалите. Отчита се морфологичното разпределение на артериалната съдова недостатъчност, наличието на подходяща автоложна вена за байпас графт, придружаващите заболявания на пациента, опитът на лекуващия екип. Възможностите са ендоваскуларна, отворена или хибридна процедура(132). Към терапевтичния план при тези лица се причислява и повлияването на класическите сърдечно-съдови рискови фактори – насърчаване на пациента да спре тютюнопушенето, осигуряване на оптимален контрол на гликемията, артериалното налягане, липидния профил (да се включи статин или да се коригира дозата му) и назначаване на противотромбозно средство, като се дава предимство на клопидогрела пред аспирина(133). Тези мерки доказано редуцират нивото на 5-годишната смъртност при хората с невро-исхемични диабетни рани(134).

Артериалната ригидност е независим предиктор за настъпване на сърдечно-съдови събития. За нейната неинвазивна оценка най-често се използва скоростта на пулсовата вълна. Основен недостатък на метода е, че се влияе значително от артериалното налягане(135). През 2006г в Япония се създава CAVI (Cardio-Ankle Vascular Index), който е способ за оценка на артериалната ригидност, независещ от артериалното налягане. Изчисляването на този индекс се базира на математичен модел, отчитащ скоростта на разпространение на пулсовата вълна от аортната клапа до глезените. Проучвания от различни медицински специалности посочват, че CAVI се повишава при наличие на сърдечно-съдово заболяване, нефросклероза, васкулити, хипертония, дислипидемия, захарен диабет, тютюнопушене, сънна апнея, стрес, затлъстяване. Тези състояния са свързани с атеросклерозата(136). При хората със захарен диабет тип 2 и ДН е установена корелация на CAVI със скоростта на провеждане по nervus suralis и с F-вълната на nervus medianus(137). Друго проучване посочва, че при пациенти със

захарен диабет на хемодиализа CAVI корелира с наличието на периферна артериална болест и има предиктивна стойност за настъпване на макроваскуларни усложнения(138). В литературата има оскъдни данни за ролята на CAVI при диабетно стъпало.

Деформации на ходилото и диабетно стъпало

Деформациите на ходилото създават неестествени костни проминенции, които могат да бъдат подложени на повишено натоварване и по този начин се превръщат в рискови точки за улцерации(27). Връзката на деформациите на стъпалото и диабетните рани е анализирана от редица автори(73, 74, 75, 139), като най-категорична закономерност се наблюдава при пациентите с невро-остеоартропатия на Шарко. При тях се наблюдава 4 пъти по-висок улцеративен риск в сравнение с диабетиците без стъпало на Шарко(140). Деформациите при хората със захарен диабет са по типа на спад на надлъжния и напречния свод на ходилото тип rocker-bottom (най-честото изменение при стъпало на Шарко), пръсти-чукче, застъпващи се пръсти, проминиращи главички на метатарзалните кости, hallux valgus с интердигитална компресия, ставна сублуксация. Мускулната слабост като изява на моторната невропатия се счита, че има важна роля в процеса на деформация на ходилото и образуването на язви(141). Китайска студия, включваща над 1000 участници, е установила, че саркопенията е независим рисков фактор за диабетно стъпало и увеличава 2 пъти риска за улцерации(142). От друга страна, някои изследователи не намират категорични доказателства за пряка патогенетична връзка между мускулната слабост и деформациите на стъпалото(143).

При пациенти със захарен диабет често се наблюдават ограничения в подвижността на ставите, които са свързани с гликирането на колагена и последващо задебеляване на периартикуларните структури като сухожилия, лигаменти и ставни капсули(144, 145). Наличие на ограничена ставна подвижност се приема при пасивна дорзална флексия на големия пръст на крака под 50^{o}(146). По принцип могат да бъдат засегнати всички

стави на ходилото, но с най-голямо значение са субталарната и метатарзофалангеалните стави. В резултат на това се повишава плантарното налягане в предната част на стъпалото, което е допълнителен рисков фактор за развитие на диабетни улцерации(147, 148, 149). Проучванията показват, че пациентите с улцерации имат по-изразени ограничения в дорзалната флексия на стъпалото и в подвижността на субталарната става в сравнение с недиабетици(148). Подобни нарушения се наблюдават и при пациенти с диабетна невропатия, при които няма улцерации(150). Диабетните рани могат да възникнат във всяка част на стъпалото, но най-често се наблюдават по плантарната повърхност. Това се дължи на травмирането на тази зона в резултат на повишеното налягане по време на ходене(151). При нормални условия тежестта се преразпределя върху предната и задната част на стъпалото, като по този начин се избягва ексцесивно точково налягане. Този процес е нарушен при пациенти със захарен диабет, най-вече в резултат на моторната невропатия и намалената ставна подвижност. В резултат на това плантарното налягане в определени точки на ходилото може да е значително повишено и да доведе до тъканна травма по време на ходене, дори на сравнително кратко разстояние. Множество проучвания демонстрират повишено плантарно налягане при пациенти с диабетна невропатия(151, 152, 153), като то може да се използва като предиктор за мястото на улцерацията(154, 155). Счита се, че отношение на налягането в предната част към налягането в задната част на стъпалото над 2 е по-специфичен маркер за риска от улцерации(156), отколкото общото натоварване на ходилото, което е с по-ниска чувствителност(151). Хората, преживели частична ампутация на стъпалото, често развиват локални деформитети в резултат на възникналите биомеханични нарушения, които от своя страна могат да доведат до неестествено преразпределение на тежестта и развитие на последващи улцерации(157, 158, 159).

Нарушения в микроциркулацията при диабетно стъпало

Микроциркулаторните нарушения значимо затрудняват заздравяването на раните, като при хората със захарен диабет е характерно, че капилярната мрежа е с повишен съдов пермеабилитет и нарушена авторегулация на съдовия тонус. Смята се, че

метаболитните нарушения в резултат на хипергликемията и инсулиновата резистентност имат синергичен ефект, водещ до микроваскуларно увреждане. То се характеризира с функционални нарушения на микроциркулацията и задебеляване на базалната мембрана на артериолите и капилярите. Това обикновено не води до стесняване на съдовия лумен, а по-скоро намалява еластичните свойства на капилярните съдове. По този начин се редуцира капацитета им за вазодилатация, за обмен на хранителни вещества и се възпрепятства клетъчната диапедеза(160, 161). Резултатът е капилярна хипертензия, водеща до оток и нарушения в трофиката на тъканите на ходилото. Полезни показатели за обективизиране на тези промени са транскутанното кислородно налягане ($TcPO_2$) и кожното перфузионно налягане. Те могат да се използват при оценка на хората със захарен диабет и рисково стъпало(162).

Функционалните съдови нарушения включват още ендотелна дисфункция и изменения в невро-аксоналните рефлекси. Нормално ендотелът освобождава локални вазоактивни субстанции – вазодилататори (азотен оксид, простациклини) и вазоконстриктори (ендотелин и тромбоксан), като техният баланс е от ключово значение за поддържане на съдовия тонус и регулацията на кръвотока(163). Ендотелните клетки участват и в ангиогенезата, която е от значение за заздравяването на раните. Има данни, че ендотел-зависимата и ендотел-независимата (отразяваща функцията на гладко-мускулните клетки) вазодилатация са нарушени не само при пациенти със захарен диабет, но и при такива с предиабетни състояния(164). Ендотел-зависимата вазодилатация е засегната както при пациенти с диабетна невропатия без периферна съдова болест, така и при такива с тежка ПАБ, които се нуждаят от реваскуларизация, като при последните нарушенията са по-изразени(165, 166).

Друг важен фактор, който повлиява микроциркулаторните промени при диабетното стъпало, са нарушенията в невро-аксоналните рефлекси. При нормални условия стимулацията на ноцицептивните нервни влакна води до ретроградна активация на съседните аксони. В отговор те освобождават различни вазомодулатори като субстанция Р, калцитонин ген свързващ протеин (CGRP), хистамин и др., водещи до вазодилатация. Последната съставлява около 1/3 от максималния капацитет за разширение на

микроциркулаторното русло и е отговорна за хиперемията, която се наблюдава в близост до зоните на увредата. Вазодилатацията, свързана с този невро-аксонален рефлекс, почти напълно липсва при пациенти с диабетна невропатия, като тези нарушения персистират дори след успешна реваскуларизация на големите артерии на стъпалото(167). Така дори изолираната невропатия може да доведе до нарушения в кръвотока, особено в условията на травма(168, 169, 170). В този контекст, невропатното стъпало би трябвало да се разглеждано като такова с функционална исхемия, независимо от наличието или отсъствието на периферна макросъдова болест. Също така се потвърждава тясната взаимовръзка между неврологичните и съдовите увреждания при захарен диабет.

Раздел 2. Предпазване от язва на стъпалото при хора със захарен диабет

Диабетната рана е фундаменталната характеристика на диабетното стъпало и е в основата на последващото му прогресиране и усложнение. Ключов момент в подхода при хората със захарен диабет е превенцията на улцерациите, тъй като дори и да се излекуват, те рецидивират в 40% от случаите до 1 година и при 65% - в рамките на 3 години(4).

В практиката се използват различни стратегии при превенцията на диабетните рани, като мерките с доказана полза са: ранно идентифициране на рисковото стъпало, периодично изследване и проследяване според категорията на риска, обучение на пациента, семейството и на лекуващия екип, използването на подходящи обувки, навременно повлияване на разгледаните по-горе рисковите фактори и осигуряването на интегрален мултидисциплинарен подход(89). Според актуалните международни препоръки екипите за превенция и лечение на диабетното стъпало би следвало да са организирани в 3 нива, както е показано по-долу(89) **(Таблица 8)**.

Ниво	Специалисти от мултидисциплинарния екип
Ниво 1	Общопрактикуващ лекар, подиатрист, диабетна сестра
Ниво 2	Диабетолог (ендокринолог), хирург (общ, ортопед, гнойно-септичен), съдов специалист (за ендоваскуларна или отворена реваскуларизация), инфекционист или клиничен микробиолог, подиатрист и диабетна сестра в колаборация със специалисти по ортези, протези и медицински обувки
Ниво 3	Трето ниво референтен център за диабетно стъпало с екип експерти от различните специалности, имащи отношение към диабетното стъпало

Таблица 8. Нива на грижи при превенция и лечение на диабетно стъпало

Общите факторите, които участват в системите за класификация на диабетно стъпало, са 3 типа: 1. Свързани с пациента (като наличие на терминална бъбречна недостатъчност); 2. Свързани с крайника (периферна артериална болест и загуба на протективен усет); 3. Свързани с язвата, когато е налична (площ, дълбочина, локализация, инфекция, брой и други)(171).

Определянето на улцеративния риск за всеки пациент с диабет може да се извърши на база скринингови изследвания и данни за миналите и придружаващите заболявания(172). Международната работна група за диабетно стъпало през 2019г предлага актуален и достъпен вариант на система, верифицирана на базата на голям метаанализ, обхващащ над 16 хиляди души с диабет. Той доказва, че 10-грамовият монофиламент и палпацията на артериалните пулсации на стъпалата са с предиктивна стойност по отношение на улцеративния риск **(Таблица 9)**(173). За разлика от предходните препоръки от 2015г, ДПНП без загуба на протективен усет вече не се приема за самостоятелен рисков фактор(174).

По данни на изследване, проведено върху българска популация пациенти със захарен диабет, е установено, че над 60% от участниците попадат в категорията на много нисък улцеративен риск, докато в останалите 3 категории пациентите са със сходно разпределение от 11 до 14%. В същото проучване се установява, че освен класическите

рискови фактори, по-високият ръст на пациентите също увеличава вероятността за възникване на диабетно стъпало(175).

Категория	Улцеративен риск	Характеристики	Интервал на проследяване
0	Много нисък	Без ЗПУ и без ПАБ	Веднъж годишно
1	Нисък	ЗПУ или ПАБ	На 6-12 месеца
2	Умерен	ЗПУ + ПАБ или ЗПУ + ДХ, или ПАБ + ДХ	На 3-6 месеца
3	Висок	ЗПУ или ПАБ + 1 или повече от следните: • Предишна язва • Ампутация на долен крайник • ТБН	На 1-3 месеца

МРГДС – Международната работна група за диабетно стъпало
ЗПУ – загуба на протективен усет
ПАБ – периферна артериална болест
ДХ – деформация на ходилото
ТБН – терминална бъбречна недостатъчност

Таблица 9. Система за стратификация на улцеративния риска от МРГДС /2019г/

Хората със захарен диабет, попадащи в категория от 1 до 3, се определят като такива с рисково стъпало и подлежат на по-интензивно наблюдение. Честотата на предложените скринингови интервали се базира единствено на експертни мнения.

Наличието на невропатия без деформации и анамнеза за ампутации е свързано с 1.7 пъти по-висок риск от улцерации в сравнение с хората без ДН(146). Диабетната невропатия с придружаващи деформации на стъпалото или ограничена ставна подвижност повишава същия риск 12.1 пъти. Предхождащата ампутация(75) или рана(73) са свързани с 50 пъти по-висок риск от нова улцерация през следващата

година, както и с 36 пъти по-висок риск от ампутация в сравнение с хората в категория 1(7, 176, 177). Лица със захарен диабет и терминална бъбречна недостатъчност (особено тези на хрониодиализа) имат 6.5-10 пъти по-висок ампутационен риск. Счита се, че това е свързано с напредналите микро- и макросъдови усложнения, както и с по-голямата предразположеност към инфекции в тази популация(178).

Липсата на симптоми от страна на пациента не изключва възможността за асимптоматични диабетна полиневропатия с отпадни прояви, периферна артериална болест, преулцеративни белези или дори активна язва. Първата стъпка е снемането на анамнеза в насока на предишни язви, ампутации, данни за клаудикацио, свързани придружаващи и минали заболявания. Следва преглед в легнало и изправено положение, анализ на походката, оглед на двете стъпала – цвят и интактност на кожата, наличие на оток, зачервяване, калус, деформации, ограничена ставна подвижност, врастнали нокти, гъбична инфекция, измерване на локална температура(179).

Изследването за наличен протективен усет е необходимо да се направи от опитен специалист чрез 10-грамовия монофиламент на Semmes-Weinstein в поне 4 точки на стъпалата(173). При липса на монофиламент, алтернативно може да се изследва чувствителността на ходилото с пръст, като се приложи Ipswich тестът с докосване(180). Резултатите от него са съпоставими с тези от монофиламентното изследване(78).

Друг аспект на протективната перцепция е вибрационният усет. Неговото нарушение също е рисково за улцерация на стъпалото(4), като за оценката му могат да се използват разгледаните по-горе тестове: полуколичественият 128Hz камертон на Rydel-Seiffer или количественият вибротезиометър (биотезиометър, невротезиометър)(43, 64).

Използването на комбинация от методи повишава диагностичната точност. Пример за комплексен диагностичен инструмент, който може да се прилага и амбулаторно, е NDS (Neuropathy Disability Score). Според точковия му сбор може да се определи наличието на невропатия и улцеративният риск(64, 65, 73).

По отношение скрининга за периферна артериална болест, се препоръчва палпация на периферните пулсации и събиране на информация за вече установени сърдечно-съдови заболявания и рискови фактори. Пулсът на arteria dorsalis pedis може да липсва при 8,1% от здравите лица, а този на arteria tibialis posterior – при 2%. Липсата на пулс едновременно и на двете артерии предполага наличието на периферна съдова болест. Допълнителни признаци за това са бледата студена кожа, липсата на окосмяване, атрофичните промени(181). При необходимост пациентът може да се насочи към по-специализирани изследвания като измерване на индекс глезен/мишница, индекс палец/мишница, на транскутанното налягане на кислорода, кожното перфузионно налягане, да се извърши Доплерово изследване на пулсовите вълни на стъпалните артерии, както и да се проведат инвазивни изследвания(89).

Обучението на пациента е от съществено значение за превенцията на диабетните рани. То включва редовен оглед на всички повърхности на стъпалата, включително и интердигитално, преглед на вътрешността на обувките, редовно измиване и подсушаване на ходилата (особено между пръстите), насоки за рязане на ноктите на краката по права линия за предпазване от врастване, избягване на ходенето на бос крак, по чорапи, с чехли или обувки с тънки подметки. При наличие на точки с повишен натиск или при анамнеза за предишни рани, се препоръчва използване на изработени по отпечатък стелки, преразпределящи тежестта(182, 183). За пациентите с умерен и висок улцеративен риск (категории 2 и 3 по МРГДС) се препоръчва ежедневно домашно проследяване на температурата на стъпалата с инфрачервен термометър. При откриване на значима разлика (>2,2^{o}C или >4^{o}F) между кореспондиращи точки на стъпала в два последователни дни, е необходимо да се намали ежедневната активност и да се потърси консултация със специалист(184, 185, 186).

Модифицируемите рисковите фактори като излишният калус, кожните фисури, мехури, хеморагии, врастналите или задебелени нокти, гъбичните инфекции са силни предиктори за бъдещи диабетни рани(4, 187, 188). Тяхното адекватно третиране е част от стратегията за превенция на диабетното стъпало. При неуспех от консервативното лечение на преулцеративните състояния второетапно могат да се приложат и

оперативни подходи. Такива са например тенотомията на флексорите на деформирани пръсти-чукче (при рецидивиращ калус или анамнеза за рана на върха им), удължаване на Ахилесовото сухожилие, метатарзофалангеална ставна артропластика, резекция на главите на метатарзалните кости, остеотомия (при предишни труднозарастващи плантарни рани в предната част на ходилото) и други(189, 190).

Навременното прилагане на доказаните подходи за превенция на диабетните рани е ключово за ограничаване на по-тежките усложнения от диабетното стъпало, каквито са инфекциите, ампутациите и преждевременната смърт.

Раздел 3. Клинична картина на диабетното стъпало

Клиничната картина на диабетното стъпало може да бъде под формата на улцерация, инфекция, възпаление, деструкция на дълбоките тъкани на ходилото (като при остеоартропатия на Шарко) и/или преживяна ампутация на част от крака. Според водещите рискови фактори и механизмите на увреждане диабетните рани (и респективно диабетното стъпало) могат да бъдат класифицирани на невропатни, исхемични и смесени невро-исхемични.

Невропатните рани се развиват в зоните на повишено натоварване (главички на метатарзалните кости, плантарната повърхност на големия пръст, петата или костни проминенции и деформации при налично стъпало на Шарко или след ампутация). Те обикновено не са съпроводени с болка, освен в случаите на инфекция. По периферията на невропатната рана има задебелена кожа, а в централната ѝ част се наблюдават гранулации. При физикалния преглед се установяват клинични данни за диабетна невропатия. Стъпалото е топло със суха кожа, намалена сетивност и запазени периферни пулсации. **Исхемичните рани** се появяват по страничните повърхности на стъпалата и между пръстите, като могат да са болезнени. Границите на раната са с червен или ливиден оттенък, а центърът им е жълтеникав или некротичен. При физикалния преглед има данни за периферна артериална болест с отслабени до

липсващи пулсации на стъпалните артерии. Ходилото е студено, кожата е лъскава с редуцирано окосмяване. **Невро-исхемичните рани** имат смесена етиология и клинична характеристика. Язвите могат да станат входна врата за инфекция на дълбоките тъкани – целулит, еризипел, абсцес, остеомиелит. При пациентите със захарен диабет има нарушен невроинфламаторен отговор и може да липсва типичната клинична картина на възпаление. Установено е, че при пациенти с диабетно стъпало и остеомиелит до 82% от тях са афебрилни и 54% са с нормален левкоцитен брой, но пък само 4% са с нормална СУЕ(191). Това налага използването на допълнителни методи за оценка на възпалителната активност и наличието на инфекция.

Раздел 4. Биохимични фактори при диабетно стъпало

В сложната патогенеза на диабетното стъпало участват и различни биохимични фактори. В тази насока са провеждани изследвания с молекули от групите на възпалителните, съдовите, неврологичните, трофичните, хормоналните, метаболитните и други маркери, но ролята им все още не е изцяло изяснена. Представените по-долу биомаркери са с потенциална роля в еволюцията на диабетното стъпало.

Cystatin C (Цистатин Ц) е полипептид, изграден от 120 аминокиселини, който се произвежда от всички ядрени клетки. Най-често се използва като показател за бъбречната функция и е ранен белег при остра бъбречна увреда(192). Съобщават се данни и за ролята му като предиктивен фактор за сърдечно-съдови заболявания и болестта на Алцхаймер(193, 194). В проучване, проведено в Китай, е анализирана връзката между нивата на Cystatin C и риска за развитие на диабетно стъпало. Посочва се, че Цистатин Ц е в по-високи нива при пациенти, които имат трудно лечима улцерация на стъпалото и това е лош прогностичен белег за заздравяването ѝ. Изведена е зависимост, че стойности на Cystatin C над 1.35 mg/L се свързват с 6 пъти по-висок риск за незарастване на раната(195). В друго проучване се посочва, че високите нива на Cystatin C се асоциират с исхемия на крака при хора със захарен диабет, като при

стойности над 1.2 mg/L рискът се увеличава 21 пъти(196). Тези факти дават основание да се предполага, че Цистатин Ц може да участва в патогенезата на диабетното стъпало.

Интерлевкин-18 (IL-18) е възпалителен цитокин, произвеждан от различни клетъчни популации като Купферови клетки, кератиноцити, макрофаги, дендритните клетки, адипоцити, Т-клетки. IL-18 активира Th-1 имунния отговор, матурацията на NK клетките и производството на други хемокини, цитокини и клетъчно-адхезионни молекули (197, 198, 199). Установена е ролята на този цитокин при редица заболявания като ревматоиден артрит, хронични възпалителни болести на червата, алергии(200), но също и в патогенезата на атеросклерозата, обезитета, метаболитния синдром и захарния диабет(201, 202, 203). По-високите нива на интерлевкин-18 увеличават риска за развитие на захарен диабет тип 2, дори след елиминиране на потенциалните интерфериращи фактори(204). Счита се, че IL-18 може да съучаства в развитието на микроангиопатията, като е установена връзката му с прогресията на диабетната нефропатия(205). При пациенти с инфектирани диабетни рани са измерени по-високи нива на IL-18 спрямо контролна група без диабетно стъпало, като не е изяснено дали тези завишени стойности са причина или следствие на диабетните улцерации(206).

Ендотелин-1 (ET-1) е пептид, съставен от 21 аминокиселини, който е силен локален вазоконстриктор и антагонист на вазодилататорния азотен оксид (NO). ET-1 участва в поддържането на съдовия тонус и регулацията на клетъчната пролиферация чрез взаимодействие с ET-A и ET-B рецептори. Молекули като тромбин, адреналин, ангиотензин II, растежни фактори, цитокини, свободни радикали стимулират секрецията на ендотелин-1, докато азотният оксид, цикличният гуанозин монофосфат, атриалният натриуретичен пептид и простациклините я намаляват(207). Има данни, че Ендотелин-1 участва в патогенезата на ендотелната дисфункция, инсулиновата резистентност, сърдечно-съдовите заболявания и микросъдовите диабетни усложнения(208). Антагонисти на Ендотелин-А рецептора са прилагани при лечение на преeклампсия(209) и пулмонална хипертония(210, 211). Установени са завишени системни и локални нива на ET-1 при периферна артериална болест(212). По-високите стойности на Ендотелин-1 имат предиктивна стойност за развитие на диабетна

невропатия(213). В смив от диабетни рани е установена повишена експресия на ЕТ-1 във възпалителните клетки около прекапилярните съдове(214). До момента няма публикувани данни за системните нива на Ендотелин-1 при хора с диабетно стъпало.

Тромбоксан А2(ТхА2) е друг вазоконстрикторен фактор, който е продукт на циклооксигеназния път на разграждане на арахидоновата киселина. Той се синтезира от тромбоцитите, макрофагите, неутрофилите и ендотелните клетки(215). Тромбоксан А2 стимулира тромбоцитната агрегация и контракцията на съдовата гладка мускулатура. Установено е участието му в патогенезата на миокардния инфаркт, инсулта, атеросклерозата, бронхиалната астма(216). Има данни за повишена активност на ТхА2 в случаи на пулмонална хипертония, бъбречна и чернодробна увреда, алергии, при карциномни метастази(217). Хипергликемията е свързана с покачване на Тромбоксан А2 и намаляване нивата на ендотелните вазодилататори. Счита се, че дисрегулацията в активността на ТхА2 участва в развитието на микро- и макросъдовите усложнения на ЗД. Повишеното производството на ТхА2 е свързано с развитие на диабетната ретинопатия(218). Приложението на комбиниран инхибитор на действието и синтезата на ТхА2 при хора със захарен диабет и периферна артериална болест намалява в по-голяма степен 2-годишната смъртност, спрямо лечение с Аспирин(219). Отчитайки, че при 50% от хората с диабетни улцерации на стъпалата се установява периферна артериална болест(93, 95), както и комбинираното влияние на ТхА2 върху ПАБ, хиперкоагулобилитета и съдовия тонус, се поставя неизяснението въпрос за ролята на този маркер при диабетно стъпало.

Проучванията през последните няколко десетилетия разкриват ролята на мастната тъкан не само като инертен енергиен резервоар, но и като голям ендокринен орган. Произвежданите от нея цитокини и биоактивни медиатори, наречени **адипокини**, участват в регулацията на апетита, метаболизма на нутриентите, инсулиновата чувствителност, възпалението, коагулацията, атеросклерозата, имунната регулация, сърдечно-съдовите заболявания, диабетните усложнения(220, 221). При пациенти със затлъстяване адипоцитите са по-големи, което ги прави резистентни на свойството на инсулина да потиска липолизата, особено във висцералната или дълбоката подкожна

мастна тъкан. Това води до засилено освобождаване и повишаване плазмените нива на свободните мастни киселини (СМК) и глицерола, които задълбочават инсулиновата резистентност в мускулите и черния дроб(222). Освобождаването на СМК от адипоцитите в резултат на засилената липолиза може да допринесе за инсулиновата резистентност и чрез потискане на глюкозния транспорт и фосфорилиране в клетката, последвано от намалено разграждане на глюкозата и синтеза на гликоген, повишена секреция на аполипопротеин В, и повишена активност на чернодробната липаза(223). Това е свързано с промяна в секрецията на адипокини, ендотелна дисфункция и акселерация на атеросклерозата. Някои автори дефинират тази връзка като „адипо-васкуларна метаболитна ос“, която се асоциира с повишен сърдечно-съдов риск при хората със затлъстяване и захарен диабет тип 2(224). Изследванията за ролята на адипокините при диабетно стъпало са ограничени. Например има данни за високи плазмени нива на интерлевкин-6 и резистин и ниски стойности на адипонектин при хора с диабетни рани, като тези адипокини могат да бъдат свързващ фактор в патогенезата на диабетните улцерации, съдовите и възпалителните събития(225, 226, 227). Групата на адипокините е обект на засилен научен интерес, като се откриват нови представители и техните функции в различни физиологични и патологични процеси.

Оментин-1 е адипокин с молекулно тегло 38 kDa, който се секретира предимно от висцералната мастна тъкан и в по-малка степен от подкожната(228, 229). Нивата на Оментин-1 и генната му експресия във висцералната мастна тъкан са понижени при затлъстяване(230). In vitro модели демонстрират, че приложението на рекомбинантен Оментин-1 повишава инсулин-стимулирания глюкозен захват в човешки подкожни и висцерални адипоцити(229). Освен това, Оментин-1 модулира съдовата функция и потиска експресията на циклооксигеназа-2 и активацията на c-jun N-terminal kinase (JNK) в цитокин-стимулирани ендотелни клетки(231, 232). Намалените плазмени нива на Оменитин-1 имат предиктивна стойност за по-висок риск от коронарна и периферна съдова болест(233, 234). Счита се, че той има протективна роля за развитието на атеросклероза(235) и намалява миокардната хипертрофия(236). Понижените нива на Оментин-1 се свързват с по-лоша сърдечно-съдова прогноза при хора със сърдечна недостатъчност(237). От друга страна, ново проспективно проучване установява, че по-

високите нива на Оментин-1 се асоциират с повишен риск от първични сърдечно-съдови събития при хора със захарен диабет(238). При пациенти с нарушен глюкозен толеранс и новооткрит захарен диабет са установени по-ниски нива на Оментин-1 в сравнение с контролна група с нормогликемия(239). Друго изследване посочва връзката на Оментин-1 с инсулиновата чувствителност, дислипидемията, с нивата на адипонектина и тумор некротизиращия фактор алфа(240). При проучване, проведено в Германия, са установени по-ниски нива на Оментин-1 при пациенти със захарен диабет тип 2 и диабетна полиневропатия(241). До момента няма данни за нивата на Оментин-1 при хора с диабетно стъпало.

Хемерин представлява сравнително скоро идентифициран адипокин, който регулира матурацията и метаболитните функции на адипоцитите, както и глюкозния метаболизъм в черния дроб и скелетните мускули. Освен това той участва в контрола на имунната система и възпалението. Това предполага, че Хемеринът може да играе роля във връзката между хроничното възпаление, затлъстяването и свързаните с него нарушения като захарен диабет тип 2 и сърдечно-съдови заболявания(242). In vitro проучвания демонстрират проапоптотична, проинфламаторна и пролиферативна роля на Хемерина в човешки ендотелни клетки (243). Установено е, че повишените нива на Хемерин са свързани с ендотелна дисфункция и ранна атеросклероза при пациенти с есенциална хипертония(244). При наличие на коронарна болест на сърцето, нестабилна ангина и остър миокарден инфаркт се измерват по-високи нива на Хемерин в сравнение с контроли(245, 246). Експресията на Хемерин и плазмените му нива се оказват повишени при наличие на затлъстяване, независимо от степента на глюкозен толеранс(247), докато в други проучвания нивата на Хемерина са по-високи при новооткрит захарен диабет в сравнение с контроли(248). Авторски колектив от Германия е докладвал, че повишените стойности на Хемерин са свързани с по-висок риск за развитие на захарен диабет тип 2 при хора с метаболитен синдром(249). Друго изследване сочи, че нивата на Хемерин са повишени при бременни жени с риск за развитие на гестационен захарен диабет(250). Един метаанализ демонстрира връзка на Хемерина с показателите на затлъстяване (ИТМ, обиколка на талията, процент мастна тъкан и отношение талия/ханш), инсулинова резистентност (инсулин на гладно и

HOMA-индекс), липидния профил (LDL-C, HDL-C), систолно и диастолно артериално налягане и кръвна захар на 120 минута от ОГТТ, но не и с гликирания хемоглобин и кръвната захар на гладно(251). Установено е също, че по-високите нива на Хемерин са свързани с увеличен риск за микросъдови диабетни усложнения и по-специално – диабетна нефропатия и диабетна ретинопатия(252). Към момента не са докладвани данни за нивата на Хемерин при популация с диабетно стъпало.

Висфатин, познат още като пре-В колония стимулиращ фактор 1 (и кодиран от PBEF1 гена), представлява адипокин, секретиран от висцералната и подкожната мастна тъкан, костния мозък, мускулите(253, 254, 255). Първоначално той е смятан за фактор, свързан с матурацията на стволовите клетки и активацията на В прекурсорните клетки(256). Висфатинът също така участва в развитието на свързаните със затлъстяването инсулинова резистентност и захарен диабет тип 2 както в експериментални модели, така и при хора(253). Нивата му са повишени при затлъстяване и захарен диабет(255) и е установено, че той упражнява инсулин-миметични ефекти при изолирани моноцити и адипоцити, като понижава нивата на кръвната захар при мишки(253). При хора със захарен диабет тип 1 са измерени по-ниски нива на Висфатин спрямо контроли, като при тези с микроалбуминурия нивата на адипокина са допълнителни понижени(257). В други проучвания обаче, нивата на Висфатин не се различават между пациенти с въглехидратни нарушения (нарушена гликемия на гладно, нарушен въглехидратен толеранс, ЗД тип 2) и такива без(258). Серумните му нива се оказват независим рисков фактор за развитие на атеросклероза и са повишени при пациенти с мозъчно-съдова болест и исхемичен мозъчен инсулт(259, 260). При пациенти с коронарна болест на сърцето и остър миокарден инфаркт се установява позитивна корелация между нивата на Висфатина и нестабилните атеросклеротични плаки(261), като този адипокин се оказва независим прогностичен фактор за неблагоприятен изход при пациенти с остър коронарен синдром(262). Очертаващата се роля на Висфатина като сърдечно-съдов маркер оправдава изследването му и при пациенти с диабетно стъпало.

Васпин е адипокин, който се секретира от висцералната мастна тъкан и представлява серин-протеазен инхибитор с инсулин-очувствяващи свойства. При пациенти с коронарна болест на сърцето, стеноза на каротидните артерии и исхемичен мозъчен

инсулт се установяват по-ниски серумни нива на Васпин в сравнение с контролна група(263, 264), въпреки че не се доказва връзка с тежестта на атеросклерозата(265). В други проучвания се демонстрира асоциация между нивата на Васпина и тежестта на коронарната болест(266). След 8 седмично лечение със симвастатин е установено значимо покачване в нивата на Васпин, което би могло да е свързано с кардиопротективните плейотропни ефекти на статините(267). При индивиди с нормален глюкозен толеранс циркулиращите концентрации на Васпина показват значима корелация с индекса на телесната маса и инсулиновата чувствителност. Също така повишената физическа активност за период от 4 седмици води до значимо покачване на нивата му(268). Връзката на Васпина с нарушенията във въглехидратната обмяна е доста противоречива. Докато едни автори установяват по-ниски нива на Васпин при хора с захарен диабет(269), други демонстрират повишени нива при същите спрямо контроли(270) или липса на зависимост между Васпина и наличието на диабет(268). Проведено е изследване, при което са намерени по-ниски стойности на Васпин при хора с добър контрол на ЗД тип 2 спрямо такива с гликемична декомпенсация(271). При лица със захарен диабет тип 1 Васпин корелира с наличието на кардиална автономна невропатия. До момента не е проучвана ролята на този фактор при диабетно стъпало.

Ретинол-свързващият протеин 4 (Retinol Binding Protein-4: RBP-4) е идентифициран като адипокин в животински модели през 1992г(272, 273). Експресията на RBP-4 е повишена при експериментални животни и пациенти с инсулинова резистентност и захарен диабет тип 2(274, 275). Според изследванията, нарушеният глюкозен ъптейк от адипоцитите води до вторична системна инсулинова резистентност чрез секреция на RBP-4. Така адипоцитите служат като глюкозен сензор и регулират инсулиновата чувствителност в целия организъм с помощта на секретираните от тях адипокини. При пациенти с нарушен глюкозен толеранс е установен повишен RBP-4 в сравнение с контроли(276), като в други проучвания нивата му корелират с риска от захарен диабет тип 2(277). По-високите стойности на RBP-4 увеличават риска от гестационен захарен диабет през 1-вия и 2-рия триместър на бременността(278). RBP-4 показва значима връзка с класическите сърдечно-съдови рискови фактори, включително индекс на

телесна маса, триглицеридите, HDL-холестерола, пикочната киселина и високо сензитивния CRP, като нивата му са по-високи при пациенти с коронарна болест и инсулинова резистентност в сравнение с контроли(279). Демонстрирано е също така, че RBP-4 директно може да стимулира оксидативната увреда на миокарда и да ускорява развитието на атеросклерозата(280). До момента липсват данни за ролята на RBP-4 при диабетното стъпало.

Заключение

Една от таргетните структури на хроничните диабетни усложнения е стъпалото. Захарният диабет уврежда долните крайници, като засяга нервите и съдовете, деформира опорно-двигателния апарат, нарушава системния и локалния имунитет, създава предпоставки за трудно-лечими инфекции.

Диабетното стъпало е тежко инвалидизиращо усложнение на захарния диабет, което е свързано с намалено качество на живота, по-ранна смъртност и изразходване на голямо количество обществени ресурси. Развитието му обикновено започва с поява на рана, която се инфектира и става причина за ампутация и/или смърт. Зад тази опростена еволюция стои сложна многофакторна патогенеза, която включва различни последователно или успоредно настъпващи във времето неврологични, съдови и биохимични процеси. Към момента част от тях остават неизяснени. И докато дефинитивното излекуване на човек със захарен диабет обикновено е невъзможно, то спасяването на крака му е постижимо в до 85% от случаите при подходящ и навременен клиничен подход. Най-доброто лечение на това усложнение остава неговата превенция. Затова търсенето на нови маркери с ранна диагностична и предиктивна стойност при диабетно стъпало е основна цел на съвременните научни изследвания. Разкриването на ролята на мастната тъкан като ендокринен орган, както и описването на все повече представители и метаболитни функции на адипокините открива въпроса за отношението им към развитието и прогнозата на диабетното стъпало.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящия дисертационен труд е да бъдат изследвани комплексно неврологични, съдови и биохимични показатели при хора с диабетни рани на стъпалата, като се оцени тяхната клинична и предиктивна стойност, с оглед приложението им в диагностично-профилактичната стратегия на това усложнение.

За постигане на тази цел си поставихме следните **задачи**:

1. Да се изследват различни признаци и симптоми на периферната соматична невропатия чрез качествени, полуколичествени и количествени методи и да се оцени значението им при хора със захарен диабет тип 2 и улцерации на стъпалата.
2. Да се изследват показателите на автономната судомоторна функция на крайниците и да се определи ролята им в различните етапи на континуума: предиабет, новодиагностициран захарен диабет тип 2, многогодишен захарен диабет тип 2 с налична соматична невропатия без и с диабетно стъпало.
3. Да се използват съвременни апаратни методи за неинвазивна оценка на периферната съдова болест и артериалната ригидност, като се оцени значението им при хора с диабетни рани на стъпалата.
4. Да се изследват нивата на адипокините – Оментин-1, Хемерин, Висфатин, Васпин, Retinol Binding Protein-4 (RBP-4), връзката им с параметрите на телесния състав и потенциалната им роля в патогенезата на диабетните улцерации.
5. Да се изследват допълнителни биомаркери - Цистатин Ц, Интерлевкин-18, Ендотелин-1 и Тромбоксан А2 в насока определяне на значението им като дискриминативни, рискови и предиктивни фактори за възникване на диабетни рани на ходилата.

6. Да се оцени връзката на изследваните биомаркери както помежду им, така и с използваните инструментални, лабораторни и клинични изследвания.
7. Да се проследят пациентите със захарен диабет и да се регистрира нивото на 5-годишната обща смъртност, като се потърси предиктивна стойност на изследваните неврологични, съдови и биохимични фактори за тази крайна точка.
8. На база на получените резултати да се изготви комплексен клиничен алгоритъм за оценка на рисково стъпало при хора със захарен диабет тип 2.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Част 1. Срезово проучване

Изследвани лица

В проучването бяха включени общо 201 пациенти - 92 (45.8%) мъже и 109 (54.2%) жени, на средна възраст 57.37±9.29 години, които бяха хоспитализирани в Клиниката по Ендокринология и болести на обмяната на УМБАЛ „Александровска“ или в Клиниката по Гнойно-септична хирургия на УМБАЛСМ "Н. И. Пирогов" през периода 2016-2019г. Те имаха следното разпределение по групи:

1. Група 1 – 81 пациенти с предиабет
2. Група 2 – 44 пациенти с новодиагностициран захарен диабет тип 2
3. Група 3 – 34 пациенти със захарен диабет тип 2 и установена ДПНП
4. Група 4 – 42 пациенти с диабетно стъпало

Участниците трябваше да отговарят на следните критерии.

Включващи критерии:

- Възраст ≥ 18 години
- Захарен диабет тип 2 (изключение прави групата с предиабет, използвана при един от анализите)
- Подписано информирано съгласие за участие

Изключващи критерии:

- Увреждане на стъпалата, което не е свързано със захарния диабет и неговите усложнения

- Захарен диабет тип 1
- Остри усложнения на захарния диабет през последните 2 седмици преди изследването
- Наличие на тежка системна инфекция или скорошна оперативна интервенция (през последния 1 месец преди изследването)
- Имплантиран електрокардиостимулатор
- Неопластични заболявания
- Други причини и заболявания, които според медицинския екип на изследването биха възпрепятствали адекватното участието на пациента и достоверността на получените резултати

Използвани методи:

I. Анамнеза и физикален статус

II. Антропометрия

- Ръст (см), телесно тегло (кг)
- Индекс на телесна маса (ИТМ) кг/м^2 – изчислен като телесното тегло в килограми се раздели на ръста в метри на квадрат
- Обиколка на талията – измерена по средата на разстоянието между ребрената дъга и илиачния гребен при средна аксиларна линия
- Обиколка на ханша – измерена на нивото на големия трохантер
- Отношение талия/ханш (Т/Х)
- Отношение талия/ръст (Т/Р)
- Импедансно изследване на телесен състав чрез Tanita MC-780MA-N (Tanita Corporation, Tokyo, Japan) сутрин на гладно, включващо следните параметри:

процент мазнини (Fat %), количество мазнини в килограми (Fat mass), свободна от мазнини маса в килограми (Fat free mass - FFM), индекс на висцералната мастна тъкан (Visceral fat rating), метаболитна възраст (Metabolic age), основна обмяна (Basal metabolic rate).

III. Оценка на неврологичните фактори

- Изследване на различни модалности на периферната соматична сетивност чрез **модифицирания Neuropathy Disability Score (NDS)**: Той включва:
  - оценка на тактилен усет с 10-грамовия монофиламент на Semmes-Weinstein, приложен в поне 4 точки: на върха на палеца на крака, по плантарната повърхност на стъпалото върху проекционните места на главите на I, III и V метатарзални кости. Необходимо е да се реализира докосване под прав ъгъл за 1-2 секунди и да се упражни такъв натиск, че влакното да се огъне под 45°. При регистриране на повече от 2 грешни възприятия на един крак тестът се счита за патологичен от съответната страна.
  - оценка на вибрационен усет със 128 Hz камертон на Rydel-Seiffer върху костна подложка на стъпалото - върху гърба на дисталната фаланга на 1-ви пръст.
  - оценка на температурната чувствителност чрез термален дискриминатор.
  - изследване на сухожилно-надкостни Ахилови рефлекси с неврологично чукче на Trömner(73) **(Приложение 1)**.

- Количествено определяне на вибрационния праг на усет чрез **вибротезиометър (биотезиометър, невротезиометър)** – осъществява се с помощта на апарат (Bio-Thesiometer, Bio-Medical Instrument CO, Newbury Ohio, USA, a division of ROVA Company, INC). Той разполага с гумен накрайник, вибриращ с честота 100 Hz, който се поставя върху костна подложка на изследваното стъпало. След това волтажът се усилва постепенно (0-100 V), докато пациентът усети вибрациите. Приема се, че прагът за нарушен вибрационен усет е равен или по-голям от 25 V(43).

- Оценка чрез комбинирания **въпросник „Мичигански инструмент за скрининг на невропатия“ MNSI (Michigan Neuropathy Screening Instrument)**. Той е съставен от 2 части – първата (част А) включва 15 затворени въпроса, а втора (част Б) включва преглед с оценка: вида на стъпалата, наличието на улцерации, Ахиловите рефлекси, вибрационен усет на 1-ви пръст на крака чрез 128 Hz камертон и тактилен усет чрез 10-грамов монофиламент(79)**(Приложение 2)**. Максималният сбор в част А е 13, тъй като въпроси 4 и 10 не се отчитат с точка, а дават информация съответно за нарушена циркулация в крайника и обща астения. В част Б максималният сбор е 10, като при отчитане на вибрационния усет се използват следните критерии: Запазен – ако изследващият продължава да усеща вибрацията на камертона върху показалеца на ръката си за по-малко от 10 секунди след момента, в който изследваният е спрял да я усеща върху крака си; Отслабен – ако същият интервал е равен или по-голям от 10 секунди и липсващ – ако изследваният не усеща вибрацията в нито един момент. При отчитане на резултата от теста с 10-грамовия монофиламент се използват следните критерии: нормален – при правилно усещане от изследвания на ≥8 от 10 докосвания, редуциран – при усещане на 1-7 от 10 докосвания, липсващ – при усещане на 0 от 10 докосвания.

- Изследване на **судомоторната функция на крайниците с апарата Sudoscan** (Impeto Medical, Paris, France). Чрез този метод може да се направи бързо, неинвазивно, количествено измерване на локалната автономна инервация на крайниците. Базира се на принципите на обратната йонофореза и хроноамперометрията. При извършване на изследването пациентът поставя ръцете и краката си в контакт с нисковолтажни електроди (<4 V), при което настъпва стимулация на потните жлези и привличане на хлорните йони от потта. При взаимодействие между йоните и електродите протича електрохимична реакция. Резултатът се представя като електрохимична кожна проводимост (ЕКП) за всяка длан и стъпало, която се измерва в микро-Сименс (μS). ЕКП представлява съотношението между генерирания ток и подадения постоянен прав ток между електродите. Тя е директно зависима от способността на

потните жлези да транспортират хлорни йони и косвено рефлектира състоянието на инервиращите ги немиелинизираните симпатикови холинергични С-влакна. Методът е с добра възпроизводимост, като има до 5-10% разлика между две последователни измервания и не се влияе от състоянието на гликемията. Судоскан апаратът изчислява също процентната асиметрия в ЕКП между дясна и лява страна на ръцете и краката, което е важен параметър при оценка на периферните невропатии. За асиметрията се използва формулата: разликата между ЕКП на дясна и лява страна на съответния крайник се разделя на по-голямата от двете ЕКП и се умножава по 100, за да се представи в проценти. На база на всички споменати параметри апаратът автоматично калкулира процентния риск за кардиална автономна невропатия. Судоскан е метод с доказана диагностична стойност при периферни соматични и автономни невропатии(68, 69, 70, 71).

IV. Оценка на съдовите фактори

- **Измерване дебелина на интима-медиа** на arteria carotis communis (Intima-Media Thickness - **IMT**) и определяне **наличието на плаки**. Измерването на IMT е неинвазивен ултразвуков биомаркер за ранна атеросклероза. В нашето изследване се използва автоматизираната система Cardio Health Station (Panasonic, Japan), под ъгъл 120^{o} и 240^{o}. Апаратът може да комбинира данните за индивидуалните рискови фактори по Framingham Risk Score (традиционен сурогатен калкулатор за оценка на сърдечно-съдовия риск) и параметрите от ехографското изследване(281, 282). Методът е одобрен от Американската агенция по храни и лекарства (Food and Drug Administration - FDA). Посочените каротидни показатели имат предиктивна стойност за настъпване на нефатални сърдечно-съдови събития и влошаване на бъбречната функция, като по-голямата дебелина на интима-медиа увеличава тези рискове съответно с 1.5 до 1.8 пъти. Последните международни кардиологични препоръки се фокусират върху наличието и площта на каротидните плаки, а не толкова върху дебелината на артериалната стена(283). Има данни, че при пациенти

с диабетно стъпало откриването на каротидни плаки увеличава риска за наличие на съпътстваща периферна артериална болест на долните крайници с 13.4 пъти, а IMT ≥ 0.71 mm – с 2.8 пъти (284).

- **Изчисляване на индекса глезен/мишница** – ИГМ (Ankle-Brachial Index - **ABI**). Той представлява отношението между систолното налягане в глезена (P leg) и мишницата (P arm), като дава информация за наличието и степента на периферна артериална болест. Пациентът се изследва в легнало положение. Поставя се маншет за измерване на артериално налягане върху подбедрицата, около 2 см проксимално от бималеоларната линия. Отчита се последователно чрез портативен звуков Доплер (Elite 100R Nicolet Vascular INC) сигналът от пулсовата вълна на arteria tibialis posterior и arteria dorsalis pedis, след което се напомпва маншетът до изчезване на пулсациите. Изпуска се внимателно въздуха до повторната им поява, при което се отчита стойността на систолното налягане. При налична разлика между отчетените налягания в двете артерии на един крак се взема по-високата стойност при изчисляване на индекса. Измерва се и систолното налягане в arteriae brachiales на двете ръце. ИГМ се калкулира последователно за дясна и лява страна по формулата: ИГМ = P leg / P arm. Нормалните стойности са между 0.9 и 1.3. ИГМ над 1.3 не е информативен, тъй като може да е свързан с увреда на симпатиковите вазомоторни нервни влакна, оток на крайника или с медиокалциноза на съдовете на крака (Mönckeberg склероза)(285). ИГМ под 0.9 е признак за налична артериална недостатъчност на съответния долен крайник(106).

- **Изчисляване на индекса палец на крака/мишница** – ИПМ (Toe-Brachial Index - **TBI**). Изчислява се като отношението между систолното налягане в палеца на крака и мишницата. Той също е показател за периферна артериална болест на стъпалото, но е по-чувствителен от ИГМ и е по-слабо зависим от медиокалцинозата. Нормалните стойности са над 0.75(106, 107). Налягане в палеца над 30 mm Hg е благоприятен фактор за излекуването на диабетни рани(286). За измерването на налягането в палеца на крака и изчисляване на ИПМ бе използван автоматизиран

апарат Vascular Screening System VaSera VS-2000, Fukuda Denshi, Japan с приставка за измерване на ИПМ.

- **Оценка на артериалната ригидност** чрез **Cardio-Ankle Vascular Index (CAVI)**. Също беше използвана автоматизираната система Vascular Screening System VaSera VS-2000, Fukuda Denshi, Japan. CAVI е способ за оценка на артериалната ригидност, независещ от артериалното налягане. Изчисляването на този индекс се базира на математичен модел, отчитащ скоростта на разпространение на пулсовата вълна от аортната клапа до глезените. Освен CAVI и ИПМ, системата VaSera 2000 може да пресмята ИГМ и съдова възраст. Проучвания от различни медицински специалности посочват, че CAVI се повишава с напредване на атеросклеротичните изменения по съдовете (например при сърдечно-съдови заболявания, нефросклероза, васкулити, хипертония, дислипидемия, захарен диабет, тютюнопушене, сънна апнея, стрес, затлъстяване)(136).

V. Стандартни лабораторни изследвания

Кръвните изследвания бяха проведени сутрин на гладно (след 12 часов период без хранене). Те включваха: хемоглобин, левкоцити, тромбоцити, СУЕ, CRP, гликиран хемоглобин (HbA1c), АСАТ, АЛАТ, ГГТ, СРК, креатинин, eGFR, пикочна киселина, липиден профил (общ холестерол, HDL, LDL, VLDL, триглицериди), общ белтък, албумин, съотношение албумин/креатинин в сутрешна урината. Изследванията бяха проведени в Централна клинична лаборатория на УМБАЛ „Александровска“, която е референтна за България.

VI. Изследване на серумни биомаркери

- <u>Адипокини</u>
  - **Оментин-1** (Human Omentin-1 ELISA kit BioVendor, Czech republic)
  - **Хемерин** (Human Chemerin ELISA kit BioVendor, Czech republic)

- **Висфатин** (Human Visfatin /Nampt/ ELISA kit BioVendor, Czech republic)
- **Васпин** (Human Vaspin ELISA kit BioVendor, Czech republic)
- **Retinol Binding Protein-4 /RBP-4/ (**Human RBP4 Platinum ELISA kit Bender MedSystems, Austria)

➢ Други биомаркери

- **Ендотелин-1** (Human EDN1 /Endothelin-1/ ELISA kit Fintest, Fine Biotec, China)
- **Тромбоксан А2** (TXA2 – Thromboxane A2 ELISA kit MyBioSource, San Diego, CA, USA)
- **Цистатин Ц** (Human Cystatin C ELISA kit BioVendor, Czech republic)
- **Интерлевкин-18 /IL-18/** (Human IL-18 ELISA kit MBL, Japan)

Методология на вземане, съхранение и оценка на биомаркерите

След вземане на кръв от изследваните лица пробите бяха центрофугирани на 4000 оборота/мин за 15 минути. Веднага след това серумите бяха замразявани и складирани на -80^{o}C до изработването им.

Изследваните показатели бяха определяни количествено чрез имуноензимен метод тип „сандвич“ ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay), при който антитела срещу търсения показател са натоварени на дъното на гнездата на микротитърната плака. На първия етап серум на пациентите се инкубира в гнездата с едновременно или последващо добавяне на биотин-конюгат. На следващ етап се добавя стрептавидин. Ензимната реакция се осъществява чрез прибавяне на субстрат, а се стопира с киселина. Плаките след това бяха отчетени на ELISA четец Zenyth 3100 (Anthos Labtec Instruments-Austria) на честота 450/630 nm, при което бяха получени стойностите на оптична плътност за всяко гнездо. Концентрациите на изследваните показатели бяха изчислени на база стандартните криви и след това умножени по съответен фактор на разреждане.

Пробите за биомаркерите Хемерин, Висфатин и RBP-4 бяха изработени в катедрата по Клинична лаборатория и клинична фармакология на УМБАЛ „Александровска“. Останалите биомаркери бяха анализирани в лабораторията по Клинична имунология на МБАЛ „Лозенец“.

Статистически методи

Данните са въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics v19 за Windows.

За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе прието $p<0.05$. Резултатите са представени като средна ± стандартно отклонение (SD).

Бяха приложени следните статистически методи:

- ***Дескриптивен анализ*** – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.
- ***Вариационен анализ*** – изчисляване оценките на централната тенденция и разсейване.
- ***Графичен анализ*** – за визуализация на получените резултати.
- ***Непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Уилк*** – за проверка вида на разпределението.
- ***Еднофакторен дисперсионен анализ ANOVA и ANCOVA*** – за проверка на хипотези за различие между няколко независими извадки, както и за отчитане ефекта на потенциални повлияващи фактори.
- ***Т-тест на Стюдънт*** – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.
- ***Непараметричен тест на Крускал-Уолис*** – за проверка на хипотези за различие между няколко независими извадки.
- ***Непараметричен тест на Ман-Уитни*** – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

- ***Корелационен анализ*** – за проверка наличието на линейна зависимост между количествени признаци.
- ***Бинарна логистична регресия*** – за количествена оценка влиянието на изследваните фактори и тяхната прогностична стойност.
- ***ROC крива*** – за определяне прагови стойности на количествени признаци с цел класификация на определени състояния.

Използвани дефиниции

Диабетно стъпало – наличието на инфекция, язва или деструкция на тъканите на стъпалото, асоциирани с невропатия и/или периферна артериална болест (ПАБ) на долните крайници при човек със захарен диабет. При провеждане на нашето изследване в групата с диабетно стъпало бяха включени хора с диабетни рани на стъпалата.

Диабетна невропатия – наличие на симптоми и/или признаци на дисфункция на периферните нерви при човек със захарен диабет, след изключване на други причини за тези нарушения. При пациентите, включени в групата с многогодишен ЗД тип 2 и предшестващо установена ДН, диагнозата е поставена от невролог на база на типични отклонения от електроневрографията (ЕНГ) на nervus suralis, nervus tibialis, nervus peroneus, nervus medianus и nervus ulnaris.

Диабетна нефропатия – представлява клиничен синдром, характеризиращ се с повишени нива на албуминурия и прогресивно влошаване на бъбречната очистителна функция (оценена чрез изчислената гломерулна филтрация) при хора със захарен диабет, след изключване на други причини за тези изменения. За повишена албуминурия се приемат нива на отношението албумин/креатинин в сутрешна урина >3 mg/mmol или >30mg албуминова екскреция в 24-часова урина, измерено двукратно в рамките на 3 месеца. За праг на намаление нивото на гломерулна филтрация се приема eGFR<60 мл/мин/1.73м^2. При включените в изследването пациенти диагнозата диабетна нефропатия беше поставена от нефролог.

Диабетна ретинопатия – специфично диабетно усложнение, свързано с хипергликемията и водещо до микроангиопатия на ретиналните съдове – артериоли, венули и капиляри. При включените в проучването пациенти диагнозата диабетна ретинопатия беше поставена от офталмолог.

В групата с новодиагностициран захарен диабет бяха включени пациенти с поставена диагноза ЗД от ендокринолог до 1 година преди изследването. За това са използвани следните критерии: измерена двукратно кръвна захар на гладно ≥ 7.0 ммол/л и/или кръвна захар на 2-рия час в хода на ОГТТ ≥ 11.1 ммол/л, и/или случайна кръвна захар ≥ 11.1 ммол/л в комбинация с големите симптоми на заболяването, и/или HbA1c > 6.4%.

Предиабет – диагноза, поставена чрез поне един от следните критерии:

- **нарушена гликемия на гладно:** плазмена глюкоза на гладно между 6.1 ммол/л и 6.9 ммол/л, както и плазмена глюкоза на 2-рия час след орално обременяване с глюкоза <7.8 ммол/л
- **нарушен въглехидратен толеранс:** плазмена глюкоза на 2-рия час след орално обременяване с глюкоза между 7.8 ммол/л и 11.0 ммол/л, както и плазмена глюкоза на гладно <7.0 ммол/л.

Артериална хипертония се приемаше при провеждано антихипертензивно лечение и/или установено при първоначалния преглед артериално налягане ≥ 130/85 mm Hg.

Метаболитен синдром се определяше според критериите на International Diabetes Federation (IDF), American Heart Association (AHA), National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI), World Heart Federation (WHF), International Atherosclerosis Society (IAS) от 2009г при налични поне 3 от общо 5 рискови фактора:

1. Абдоминално затлъстяване – обиколка на талията > 94 см за мъже и > 80 см за жени
2. Повишени нива на триглицериди ≥ 1.7 ммол/л и/или провеждано лечение за дислипидемия

3. Понижен HDL-холестерол: ≤ 1.03 за мъже и ≤ 1.3 за жени и/или провеждано лечение за дислипидемия
4. Повишено артериално налягане ≥ 130/85 mmHg и/или провеждане на антихипертензивно лечение
5. Плазмена глюкоза на гладно ≥ 5.6 ммол/л и/или провеждане на антидиабетно лечение.

Дислипидемия – приемаше се при провеждане на терапия със статин или фибрат и/или установени нива на LDL-холестерол ≥ 3.2 ммол/л, и/или HDL-холестерол ≤1.03 за мъже и ≤1.3 ммол/л за жени, и/или триглицериди ≥ 1.7 ммол/л.

Част 2. Проследяващо проучване

При 111 от пациентите със захарен диабет беше проследено нивото на 5-годишната обща смъртност. Средният период на проследяване беше 3.2 години (от 2 до 5). Отчитането на случаите се направи чрез базата данни на системата за здравно осигуряване. Извърши се корелация на 5-годишната обща смъртност с изследваните неврологични, съдови и биохимични фактори, с цел определяне на тяхната потенциална предиктивна стойност по този показател.

ГЛАВА III. РЕЗУЛТАТИ

Раздел 1. Срезово проучване

Антропометрични характеристики

В основната част на срезовото изследването бяха включени 120 пациенти със захарен диабет тип 2 – 68 мъже (56.7%) и 52 жени (43.3%), със средна възраст 57.68±10.47 години, в интервала между 32 и 79. Те бяха разделени основно в 2 групи:

- Група I – пациенти със захарен диабет тип 2 без диабетно стъпало (n=78)
- Група II – пациенти със захарен диабет тип 2 и диабетно стъпало – с налична диабетна рана на ходилото (n=42).

Основните характеристики на изследваните лица са представени на **таблица 10.**

Групи / **Показатели**	***Група I*** **ЗД без диабетно стъпало**	***Група II*** **ЗД с диабетно стъпало**
Възраст (г)	55.69±9.81	61.36±10.76*
Давност на ЗД (г)	4.66±8.28	13.49±10.47*
Жени (%)	46.2	38.1
Жени в менопауза (%)	72.2	100*
ИТМ (кг/м^2)	34.07±5.95	30.86±6.38*
Телесно тегло (кг)	98.76±19.79	88.26±21.03*

Ръст (см)	170.26±9.85	168.97±10.75
Талия (см)	112.61±14.44	105.85±14.53
Ханш (см)	115.35±11.46	107.0±8.12*
Талия/Ханш	0.96±0.089	0.96±0.08
Талия/Ръст	0.66±0.088	0.61±0.076
Процент мазнини (%)	37.53±8.84	29.78±11.1*
Количество мазнини (кг)	37.56±13.12	26.44±11.73*
Свободна от мазнини маса (кг)	59.76±12.10	56.53±12.64
Индекс на висцерална мастна тъкан	10.85±2.51	10.0±4.09
Метаболитна възраст (години)	69.31±11.76	60.08±15.77
Основна обмяна (kcal)	1786.66±354.22	1665.59±296.21

***p<0.05**

Таблица 10. Основни антропометрични характеристики на изследваната популация без и с диабетно стъпало

Пациентите в двете групи бяха сходни по-отношение на повечето антропометрични показатели като полово разпределение, ръст, талия, отношения талия/ханш и талия/ръст, свободна от мазнини маса, индекс на висцерална мастна тъкан, метаболитна възраст и основна обмяна. Същевременно имаше и значими различия по някои параметри. Хората с диабетно стъпало бяха по-възрастни, с по-голяма давност на диабета, с по-ниски ИТМ, телесно тегло и обиколка на ханша, както и с по-малко количество мазнини в тялото. Допълнително се установи, че всички жени в групата с диабетно стъпало бяха в менопауза, което е значимо повече спрямо процента им в другата група.

Популацията със ЗД без диабетно стъпало може да се подраздели на 2 подгрупи:

- Пациенти с новодиагностициран захарен диабет тип 2 – до 1 година от поставяне на диагнозата без установена ДПНП (n=44)
- Пациенти със захарен диабет тип 2 с давност над 1 година и вече установена ДПНП чрез ЕНГ (n=34) **(Фигура 4).**

Антропометричните характеристики на изследваните лица при разделение в 3 групи са показани на **таблица 11.**

Групи / **Показатели**	***Група 1*** **Нов ЗД**	***Група 2*** **ЗД с ДН**	***Група 3*** **Диабетно стъпало**
Възраст (г)	54.05±9.98[a]	57.82±9.29	61.36±10.76[b]
Давност на ЗД (г)	0.25±0.44[a]	10.55±10.01[b]	13.49±10.47[b]
Жени (%)	56.8[a]	32.4[b]	38.1[b]
Жени в менопауза (%)	72.0[a]	72.7[a]	100[b]
ИТМ (кг/м^2)	34.05±6.44[a]	34.09±5.34[a]	30.86±6.38[b]
Телесно тегло (кг)	97.31±21.20	100.65±17.94[a]	88.26±21.03[b]
Ръст (см)	169.0±8.41	171.91±11.39	168.97±10.75
Талия (см)	110.81±15.07	115.26±13.34	105.85±14.53
Ханш (см)	116.36±12.40[a]	113.33±9.67	107.0±8.12[b]
Процент мазнини (%)	39.15±8.71[a]	33.93±8.32	29.78±11.1[b]
Количество мазнини (кг)	39.02±14.01[a]	34.41±10.76	26.44±11.73[b]
Различните букви (a, b) показват статистически значима разлика между отбелязаните групи (p<0.05), а еднаквите букви и липсата на буква – липса на разлика между групите			

Таблица 11. Основни антропометрични характеристики на изследваната диабетна популация, разделена в 3 групи

След подразделението възникна разлика в разпределението по пол, като процентното съотношение на жените беше значимо по-голямо сред хората с новодиагностициран захарен диабет, в сравнение с останалите 2 групи. Индивидите в група 1 бяха по-млади и с по-малка давност на диабета спрямо тези с многогодишен ЗД без и с диабетно стъпало. Значимата разлика в съдържанието на мазнини и обиколката на ханша се установи между пациентите с новооткрит ЗД и тези с диабетно стъпало. Най-ниско тегло и ИТМ се измериха при популацията с диабетно стъпало.



Фигура 4. Процентно разпределение по групи на включените пациенти

Други базисни показатели

На **таблица 12** са представени допълнителни характеристики на изследваните лица без и с диабетно стъпало, включващи сърдечно-съдови параметри, антидиабетна терапия, честота на диабетните усложнения и на ампутациите на долни крайници.

Групи / Показатели	*Група I* ЗД без диабетно стъпало	*Група II* ЗД с диабетно стъпало
Активно тютюнопушене (%)	31	21.7
Систолно артериално налягане (mm Hg)	132.27±19.36	136.29±21.62
Диастолоно артериално налягане (mm Hg)	82.18±9.04	78.74±10.86
Сърдечна честота (удара в мин)	74.55±9.92	80.45±15.16
Артериална хипертония (%)	84.1	91.7
Метаболитен синдром (%)	93.2	80.6
Компоненти на метаболитния синдром (брой)	3.95±1.01	3.1±0.92*
Диабетна ретинопатия (%)	18.2	65.4*
Диабетна нефропатия (%)	39.3	60
Ампутации на част от крака (%)	-	30.6
Брой антидиабетни медикаменти	1.55±1.03	3.32±1.45*
Инсулинолечение (%)	25.0	55.9*

***p<0.05**

Таблица 12. Сърдечно-съдови рискови фактори, диабетни усложнения и антидиабетна терапия при изследваните лица без и с диабетно стъпало

От представените данни прави впечатление значимо по-големият брой компоненти на метаболитния синдром и тенденцията за по-високата му честота при хората без диабетно стъпало. От друга страна очаквано се установи по-висок процент на

придружаваща диабетна ретинопатия и диабетна нефропатия при лицата с диабетно стъпало, като резултатът за диабетната нефропатия не достигна статистическа значимост. Близо 1/3 от включените пациенти с диабетно стъпало бяха преживели ампутация на долен крайник. Над половината от индивидите с улцерации се лекуваха с инсулин, което е 2 пъти повече в сравнение с тези, които са без това усложнение. Средният брой антидиабетни медикаменти е 2 пъти по-голям при хората с диабетна рана. По отношение на артериалното налягане и сърдечната честота двете групи бяха сходни. Интересно е, че процентът активни пушачи е по-нисък сред хората с диабетно стъпало, но разликата не беше статистически значима.

Лабораторни показатели

Резултатите от стандартните лабораторни изследвания на лицата в 2-те групи са дадени в **таблица 13.**

Групи / **Показатели**	***Група I*** **ЗД без диабетно стъпало**	***Група II*** **ЗД с диабетно стъпало**
Левкоцити (G/l)	7.77±1.92	9.56±3.25*
СУЕ (mm/h)	13.71±11.54	32.40±30.37*
CRP (mg/l)	15.17±8.5	21.66±24.14
Общ холестерол (mmol/l)	4.98±1.42	4.77±1.83
LDL-холестерол (mmol/l)	2.88±1.10	2.80±0.98
HDL-холестерол (mmol/l)	1.08±0.29	1.17±0.35
Триглицериди (mmol/l)	2.16±1.37	1.82±0.92
Креатинин (μmol/l)	87.47±19.87	87.69±37.77

eGFR (ml/min/1.73m^2)	77.56±20.13	86.55±39.13
Пикочна киселина (µmol/l)	360.68±96.78	349.85±100.17
АСАТ (U/l)	32.06±34.50	15.67±5.37*
АЛАТ (U/l)	28.23±27.33	16.40±7.42*
ГГТ (U/l)	51.24±46.55	34.93±26.60*
Общ белтък (g/l)	70.81±5.58	65.45±9.30
Албумин (g/l)	43.43±2.21	34.45±9.86*
HbA1c (%)	8.71±2.24	8.39±1.93
UACR (mg/mmol)	11.46±38.45	45.29±92.73*

UACR – urinary albumin/creatinine ratio (отношение албумин/ креатинин в урината)

eGFR – estimated glomerular filtration rate (изчислена гломерулна филтрация)

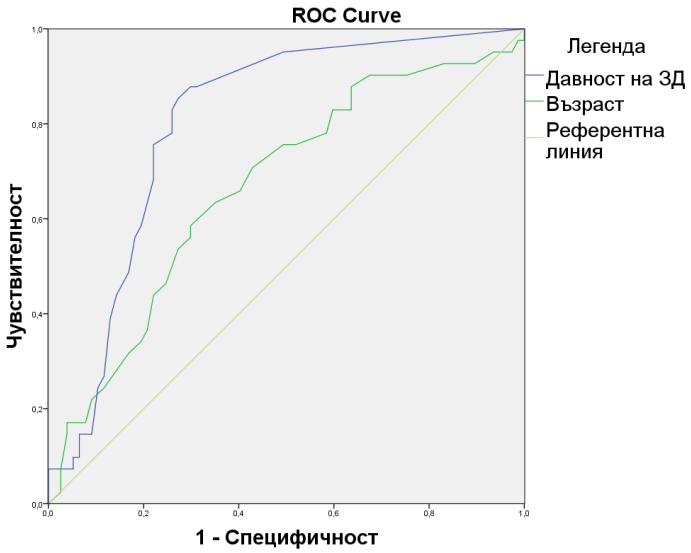
***p<0.05**

Таблица 13. Лабораторни изследвания на пациентите без и с диабетно стъпало

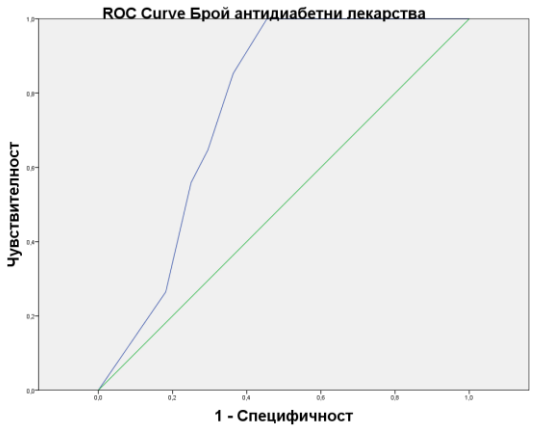
Лицата с диабетно стъпало имаха значимо по-високи стойности на левкоцитен брой, СУЕ и албуминурия. От друга страна нивата на АСАТ, АЛАТ, ГГТ и серумен албумин бяха по-ниски при хората със захарен диабет и рани. Популацията в двете групи беше сходна по отношение средните нива на гликиран хемоглобин, CRP, фракциите от липидния профил, креатинин, гломерулна филтрация, пикочна киселина и серумен общ белтък.

На база на горепосочените антропометрични, клинични и лабораторни параметри, при които се установи статистически значима разлика между двете групи, се проведе ROC-анализ за установяване на прагови стойности за разграничаване на индивидите с диабетно стъпало от останалата популация със захарен диабет без това усложнение.

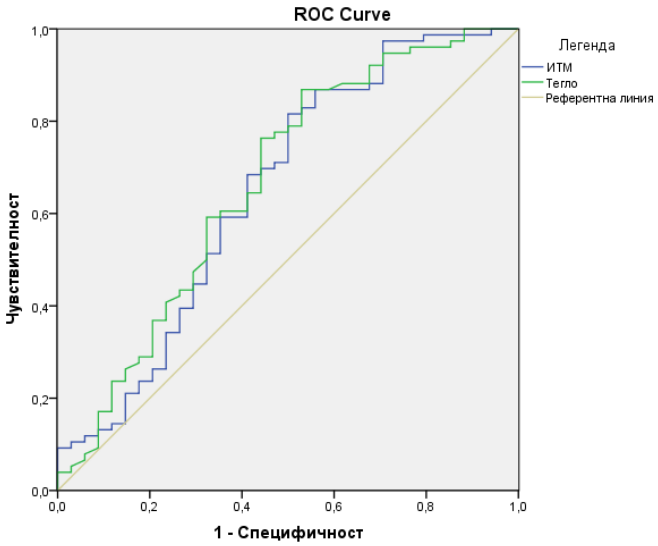
ROC-анализът и неговите резултати са представени на **фигури 5, 6, 7, 8, 9. 10 и 11, както и таблица 14.**



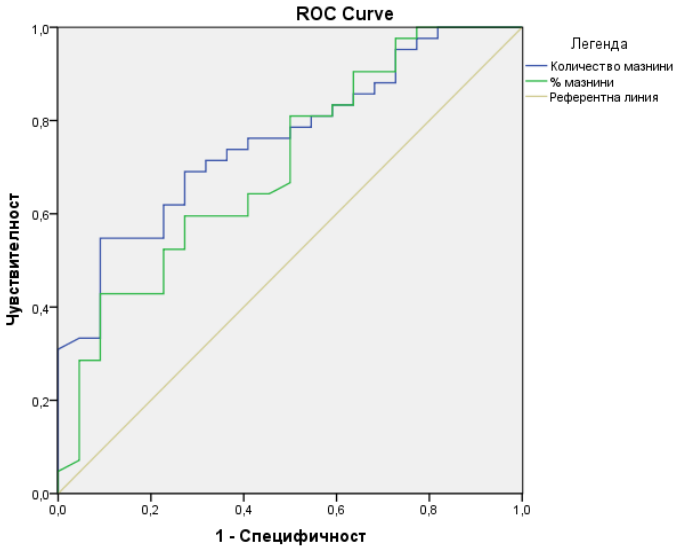
Фигура 5. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на давността на ЗД и възрастта за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация



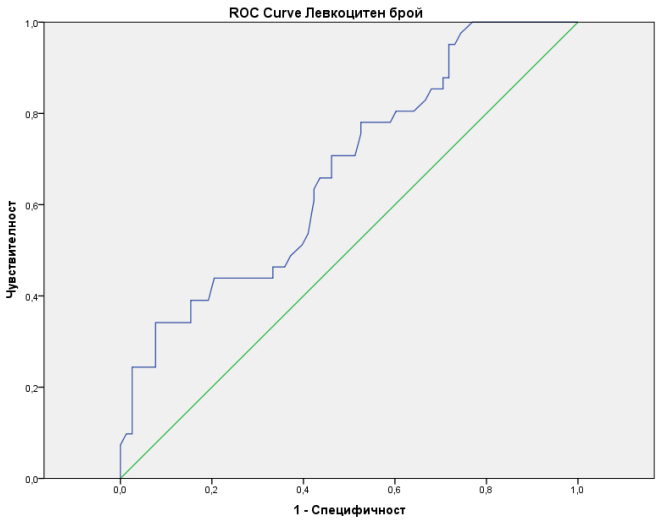
Фигура 6. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на броя антидиабетни лекарства за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация



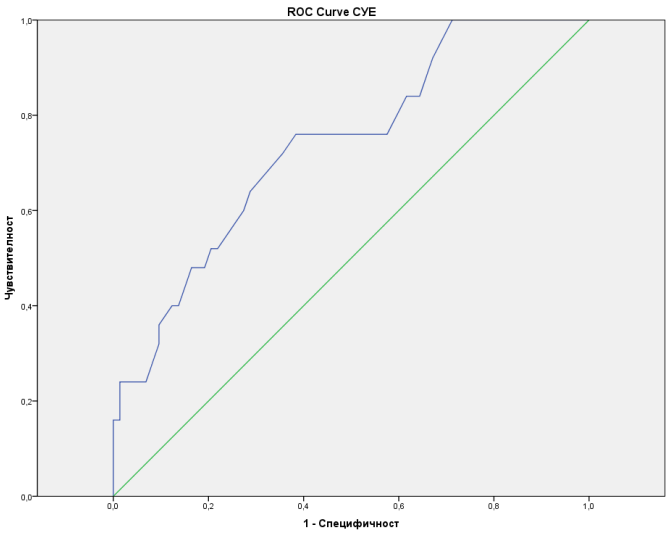
Фигура 7. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на ИТМ и телесното тегло за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация



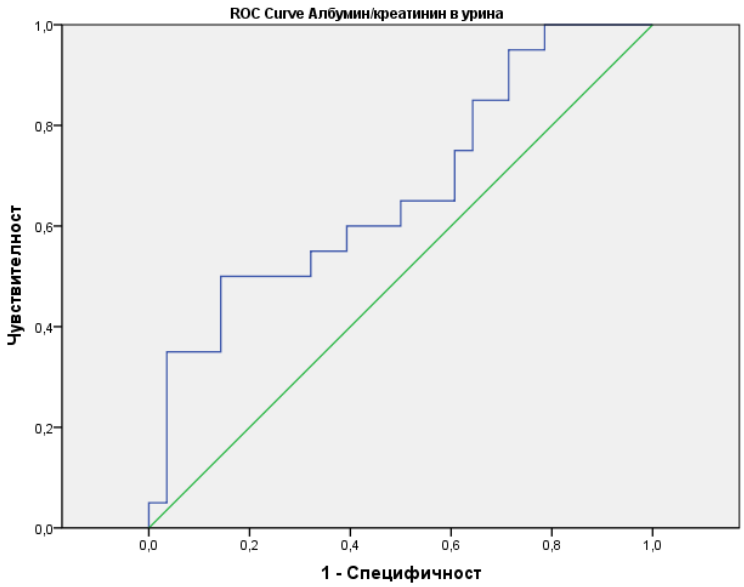
Фигура 8. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на процентното съдържание мазнини и абсолютното количество мазнини в тялото за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация



Фигура 9. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на левкоцитния брой за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация



Фигура 10. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на СУЕ за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация



Фигура 11. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на отношението албумин/креатинин в урина за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

Показатели	***ROC-анализ***		
	Площ под кривата	**95% доверителен интервал**	**Значимост (p)**
Давност на ЗД	0.802	0.721-0.884	**<0.001**
Брой антидиабетни лекарства	0.760	0.652-0.869	**<0.001**
Количество мазнини	0.758	0.640-0.876	**0.001**
СУЕ	0.737	0.626-0.848	**<0.001**
% мазнини	0.703	0.569-0.838	**0.008**

UACR	0.671	0.514-0.829	**0.045**
Левкоцити	0.670	0.570-0.770	**0.002**
Телесно тегло	0.667	0.550-0.784	**0.005**
Възраст	0.656	0.559-0.752	**0.002**
ИТМ	0.651	0.531-0.771	**0.012**

Таблица 14. Резултати от ROC-анализа за оценка на базисни дискриминанти при отличаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

От представената таблица се демонстрира, че за всички параметри резултатите са сигнификантни, като с най-голяма площ под кривата, респективно с най-висока дискриминативна способност за разграничаване на индивидите с диабетно стъпало, е давността на захарния диабет. Чрез допълнителен анализ се определи като най-добра праговата стойност от ≥ 7 годишна давност на ЗД със 76% чувствителност и 78% специфичност при отличаване на хората с диабетно стъпало сред изследваната популация със захарен диабет. С втора по стойност площ под кривата беше броят антидиабетни медикаменти, като праговата стойност ≥ 2.5 лекарства има 65% чувствителност и 79% специфичност. На трето място е количеството мазнини. От ROC-анализа се установи, че при прагова стойност от ≤30кг със 73% чувствителност и 63% специфичност могат да бъдат определени пациентите с диабетно стъпало. Най-добра дискриминативна стойност на СУЕ за разграничаване на хората с диабетно стъпало е ≥ 15 мм/ч при чувствителност 72% и специфичност 65%. Относно процентното съдържание мазнини в тялото праговата стойност, която беше определена, е ≤ 34% и тя има 60% чувствителност и 60% специфичност. За последните 5 параметъра в таблицата определените гранични стойности със съответната им чувствителност и специфичност са както следва:

- UACR ≥ 1.5 mg/mmol – 60% чувствителност и 50% специфичност
- Левкоцитен брой ≥ 7.7 G/l - 70% чувствителност и 53% специфичност
- Телесно тегло ≤ 85 кг - 78% чувствителност и 53% специфичност
- Възраст ≥ 57 години - 69% чувствителност и 52% специфичност
- ИТМ ≤ 29 кг/м^2 - 75% чувствителност и 50% специфичност

Допълнително за отличаващите се параметри проведохме анализ чрез бинарна логистична регресия, за да степенуваме количественото влияние на всеки от факторите за развитието на диабетно стъпало. Резултатите са представени в **таблици 15 и 16**.

Фактор	**B**	**Ст. грешка**	**p**	**Exp(B)=OR**	**95% ДИ за OR**	
Диабетна ретинопатия	2.140	0.568	<0.001	8.500	2.792	25.880
Мъжки пол	0.828	0.356	0.020	2.290	1.139	4.602
Брой антидиабетни лекарства	0.500	0.135	<0.001	1.648	1.266	2.146
Левкоцитен брой	0.305	0.095	0.001	1.356	1.125	1.635
Давност на ЗД	0.100	0.025	<0.001	1.106	1.053	1.161
Възраст	0.060	0.200	0.002	1.062	1.022	1.104
СУЕ	0.050	0.016	0.002	1.052	1.019	1.085
UACR	0.011	0.008	0.164	1.011	0.996	1.027

ДИ – доверителен интервал; p – ниво на значимост; OR – odds ratio (отношение на шансовете); UACR – urinary albumin/creatinine ratio (отношение албумин/ креатинин в урината)

Таблица 15. Бинарна логистична регресия за количествена оценка влиянието на рисковите фактори за развитие на диабетно стъпало

Фактор	B	Ст. грешка	p	Exp(B)=OR	95% ДИ за OR	
% мазнини	-0.081	0.030	0.007	0.922	0.869	0.978
Количество мазнини	-0.076	0.025	0.003	0.927	0.882	0.974
ИТМ	-0.069	0.035	0.048	0.933	0.872	0.999
Телесно тегло	-0.029	0.012	0.017	0.972	0.949	0.0995

ДИ – доверителен интервал; p – ниво на значимост; OR – odds ratio (отношение на шансовете)

Таблица 16. Бинарна логистична регресия за количествена оценка влиянието на протективните фактори за развитие на диабетно стъпало

Анализът беше подразделен в 2 части – оценка на рисковите (**таблица 15**) и на протективните фактори (**таблица 16**) за развитие на диабетно стъпало. От изложените данни се вижда, че сред анализираните до момента показатели с най-голяма предиктивна стойност е наличието на диабетна ретинопатия, която увеличава риска 8.5 пъти, а на второ място е мъжкият пол – 2.29 пъти. Следващият по ред показател е броят антидиабетни лекарства, като добавянето на всеки медикамент увеличава с 65% улцеративния риск. Покачването на левкоцитния брой с 1 G/l е свързано с 36% по-висок риск за диабетна рана. На пето място е давността на захарния диабет, за която се установява, че всяка година живот с диабет носи 11% допълнителен риск за диабетни улцерации. Остаряването също се явява прогностичен фактор при изследваната популация, но ефектът му е по-слаб в сравнение с давността на диабета (1 година е свързана с около 6% улцеративен риск). От другите лабораторни показатели се установи статистически значим регресионен модел и за СУЕ, като нарастването му с 1 мм/ч увеличава вероятността за диабетно стъпало с 5%. За отношението албумин/креатинин в урината не се достигна статистически значима предиктивна стойност.

Сред благоприятните фактори еднозначно се очерта протективният ефект на по-високата телесна маса, като от различните ѝ измерения с най-голямо влияние беше съдържанието на мастна тъкан в тялото. Всяко нейно увеличение с 1% от телесния състав или с 1 кг в абсолютна стойност беше свързано с редукция на риска за развитие на диабетно стъпало съответно с 8% и 7%. В изследваната популация нарастването на

ИТМ намалява вероятността за възникване на диабетно стъпало също със 7%, а покачването на теглото – с 3%.

Неврологични фактори

Анализът на неврологичните фактори в изследваната популация е разделен в 2 части – оценка на соматичната и на автономната невропатия.

I. Оценка на соматичната невропатия

Резултатите в тази част ще бъдат представени паралелно при разделяне на изследваните лица в 2 и 3 групи с цел по-детайлна оценка на тяхното значение в своеобразния континуум от новооткрит захарен диабет тип 2 през многогодишен ЗД тип 2 с доказана диабетна полиневропатия до захарен диабет тип 2, усложнен с диабетно стъпало.

Включените лица при разделяне в 2 групи са:

- Група I – пациенти със захарен диабет тип 2 без диабетно стъпало (n=78)
- Група II – пациенти със захарен диабет тип 2 и диабетно стъпало – с диабетна рана на ходилото (n=42) (**Таблица 10**).

При разделяне в 3 групи лицата са:

- Група 1 – пациенти с новодиагностициран захарен диабет тип 2 – до 1 година от поставяне на диагнозата без установена ДПНП (n=44)
- Група 2 – пациенти със захарен диабет тип 2 с давност над 1 година и вече установена ДПНП чрез ЕНГ (n=34)
- Група 3 – пациенти със захарен диабет тип 2 и диабетно стъпало – с диабетна рана на ходилото (n=42) **(Таблица 11)**.

Методите, които използвахме за изследване на соматичната инервация на стъпалата бяха: комбинираният полуколичествен инструмент NDS (Neuropathy Disability Score)**(Приложение 1)**, количественият вибротезиометър за определяне прага на вибрационен усет и Мичиганският скринингов инструмент за невропатия - MNSI **(Приложение 2)**. Резултатите са представени в **таблица 17.**

Групи / **Показатели**	***Група I*** **ЗД без диабетно стъпало**	***Група II*** **ЗД с диабетно стъпало**
NDS (точки)	4.17±2.72	8.43±1.92*
Вибротезиометър (V)	24.19±12.88	33.82±11.30*
Нарушен вибрационен усет (%)	38.6	70.4*
MNSI част А (точки)	4.42±3.43	6.96±2.89*
MNSI част Б (точки)	3.85±2.20	7.02±2.07*
MNSI общо (точки)	8.26±5.25	13.98±4.19*

NDS – Neuropathy Disability Score

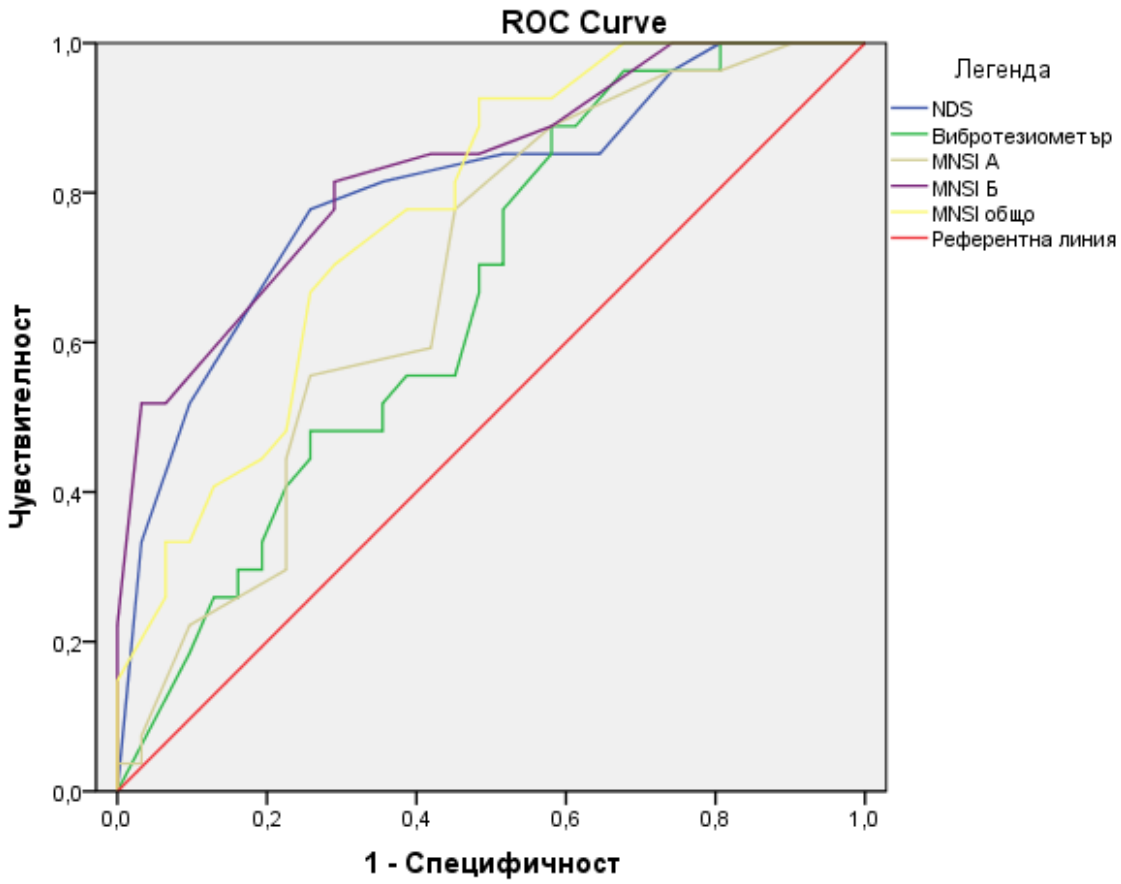
MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument

***p<0.05**

Таблица 17. Тестове за оценка на соматичната диабетна невропатия при хора без и с диабетно стъпало

Точковият сбор от NDS и MNSI (общо и по-компоненти), както и вибрационният праг, определен с вибротезиометър, бяха сигнификантно по-високи сред популацията с диабетно стъпало. Очаквано и процентът от хора с нарушен вибрационен усет (измерен чрез вибротезиометъра праг над 25 V) беше значимо по-висок в група II.

Проведе се ROC-анализ за идентифициране на прагови стойности за посочените методи при разграничаване на индивидите с диабетно стъпало сред изследваната популация **(Фигура 12).**



Фигура 12. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на NDS, вибротезиометър, MNSI – част А, Б и общ сбор за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

Параметрите от ROC-анализа са представени в **таблица 18.**

Показатели	*ROC-анализ*		
	Площ под кривата	**95% доверителен интервал**	**Значимост (p)**
MNSI Б	0.832	0.728-0.936	**<0.001**
NDS	0.803	0.688-0.919	**<0.001**
MNSI общо	0.774	0.655-0.892	**<0.001**
MNSI А	0.686	0.549-0.823	**0.015**
Вибротезиометър	0.661	0.521-0.800	**0.036**

NDS – Neuropathy Disability Score

MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument

Таблица 18. Резултати от ROC-анализа за оценка на тестове за ДН при отличаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

В представената таблица се демонстрира, че с най-голяма площ под кривата и с най-голяма дискриминативна стойност за диабетно стъпало е част Б от Мичиганския скринингов инструмент за невропатия. Непосредствено след него и с много близка стойност е NDS, вероятно поради факта, че диагностичните инструменти при двата метода са почти идентични. Междинно място заема общият сбор от MNSI, съчетаващ въпросник, физикален преглед и инструментална част. Най-ниска отличаваща способност, но също статистически значима, има част А (въпросник за пациента) от MNSI, следвана от вибротезиометъра.

Определените прагови стойности за разграничаване на пациентите с диабетно стъпало със съответната им чувствителност и специфичност са следните:

- MNSI част Б ≥ 5 точки – 82% чувствителност и 78% специфичност
- NDS ≥ 6 точки – 88% чувствителност и 82% специфичност
- MNSI общо ≥ 10 точки – 79% чувствителност и 64% специфичност
- MNSI част А ≥ 5 точки – 60% чувствителност и 61% специфичност
- Вибротезиометър ≥ 25 V – 70% чувствителност и 61% специфичност

Предиктивната стойност на представените неврологични тестове върху вероятността за развитие на диабетно стъпало беше оценена чрез модел на бинарна логистична регресия **(Таблица 19)**.

Фактор	**B**	**Ст. грешка**	**p**	**Exp(B)=OR**	**95% ДИ за OR**	
NDS	0.749	0.136	<0.001	2.114	1.619	2.760
MNSI Б	0.660	0.165	<0.001	1.936	1.401	2.674
MNSI А	0.244	0.087	0.005	1.277	1.077	1.512
MNSI общо	0.234	0.063	<0.001	1.263	1.116	1.431
Вибротезиометър	0.061	0.021	0.004	1.063	1.020	1.108

ДИ – доверителен интервал; p – ниво на значимост; OR – odds ratio (отношение на шансовете); NDS – Neuropathy Disability Score; MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument**.**

Таблица 19. Бинарна логистична регресия на неврологичните тестове NDS, MNSI и вибротезиометър като предиктивни за развитие на диабетно стъпало

За всеки от изследваните методи в анализираната популация се установи статистически значим регресионен модел, като с най-голяма предиктивна стойност беше NDS. При него увеличаването на сбора с 1 точка е свързано с над 2 пъти по-висок риск за

развитие на диабетно стъпало. Част Б от Мичиганския скринингов инструмент също доказа силна предиктивна стойност, равняваща се на 94% нарастване на риска с всяка точка. Част А и общият сбор от MNSI имаха сходна предсказваща стойност, съответно 28% и 26%. При вибротезиометъра всеки волт нарастване на вибрационния праг носеше 6% риск за диабетна улцерация.

Резултатите от използваните методи за оценка на соматичната невропатия бяха анализирани и при разделяне на изследваните лица в 3 групи **(Таблица 20)**.

Групи / **Показатели**	***Група 1*** **Нов ЗД**	***Група 2*** **ЗД с ДН**	***Група 3*** **Диабетно стъпало**
NDS (точки)	3.00±2.43[a]	5.62±2.35[b]	8.43±1.92[c]
Вибротезиометър (V)	19.41±9.48[a]	32.25±14.07[b]	33.82±11.30[b]
Нарушен вибрационен усет (%)	25[a]	62.5[b]	70.4[b]
MNSI част А (точки)	2.13±1.82[a]	6.25±3.39[b]	6.96±2.89[b]
MNSI част Б (точки)	2.67±1.65[a]	4.78±2.18[b]	7.02±2.07[c]
MNSI общо (точки)	4.18±3.09[a]	11.03±5.01[b]	13.98±4.19[c]
Различните букви (a, b, c) показват статистически значима разлика между отбелязаните групи ($p<0.05$), а еднаквите букви – липса на разлика			

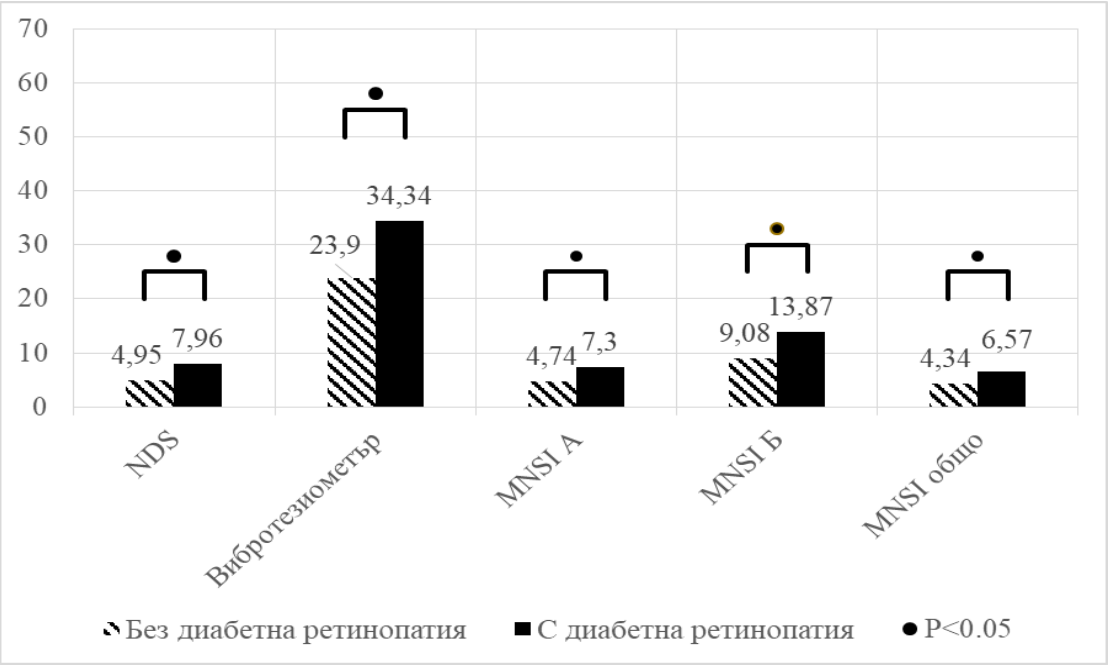
NDS – Neuropathy Disability Score

MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument

Таблица 20. Тестове за оценка на соматичната диабетна невропатия при хора с новооткрит ЗД тип 2 без ДН, при такива с многогодишен ЗД и установена ДН чрез ЕНГ и при такива с диабетно стъпало

Резултатите след подразделянето показаха, че средните стойности на 5-те показателя прогресивно нарастват в континуума от новодиагностициран захарен диабет тип 2 през ЗД тип 2 с установена невропатия до диабетно стъпало. Статистически значимите разлики между всяка група се запазиха за NDS, част Б и общия сбор на MNSI. При част А от MNSI и вибротезиометъра (вибрационен праг и процент хора с нарушен вибрационен усет) имаше сигнификантна разлика само между хората с новооткрит захарен диабет и всяка от другите две групи поотделно. Те се доказаха като по-ниско специфични показатели за диабетно стъпало, тъй като резултатите им бяха сходни в група 2 и 3.

Направи се анализ на данните от тестовете за оценка на соматична невропатия при хората без и с диабетна ретинопатия. Установи се, че за всички изследвани методи резултатите в групата с диабетна ретинопатия бяха статистически значимо по-високи **(Фигура 13)**.



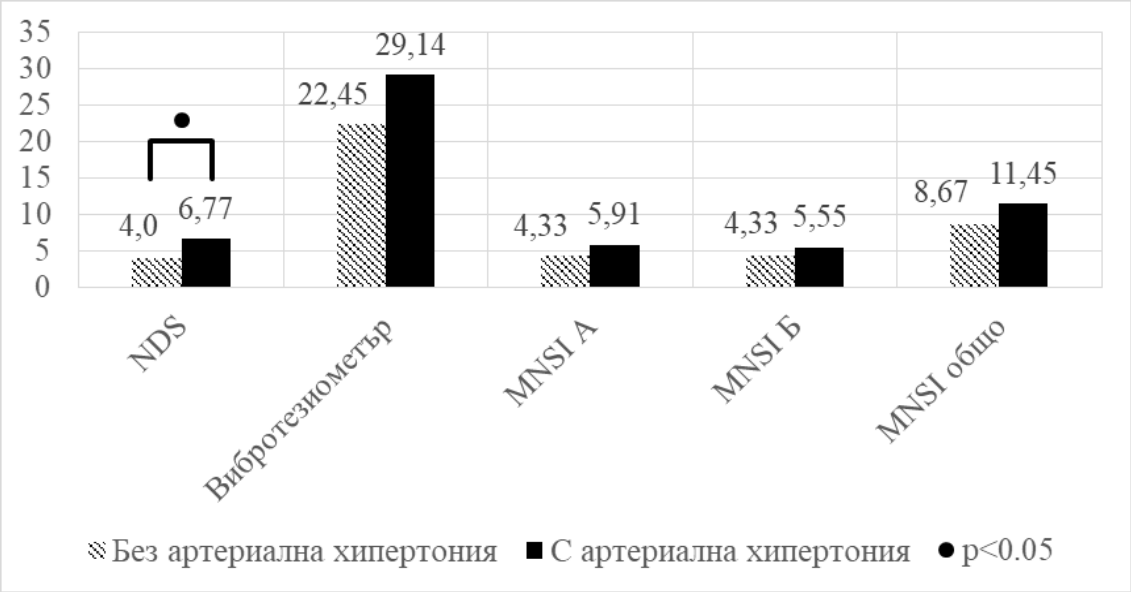
NDS – Neuropathy Disability Score

MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument

Фигура 13. Резултати от тестовете за оценка на диабетна невропатия при пациенти без и с диабетна ретинопатия

Чрез ROC-анализ се определи прагова стойност на NDS ≥ 6, идентифицираща пациентите с диабетна ретинопатия сред останалата популация със ЗД при 80% чувствителност и 70% специфичност.

Тъй като високото артериално налягане се асоциира с по-голяма честота на диабетната невропатия(40), се анализираха резултатите и според наличието на артериална хипертония (**Фигура 14**).



Фигура 14. Резултати от тестовете за оценка на диабетна невропатия при пациенти без и с артериална хипертония

Установи се тенденция към по-високи стойности за всеки от използваните методи при хората с артериална хипертония спрямо тези без, но само за NDS резултатите достигнаха статистическа значимост. При проведен ROC-анализ се идентифицира нова прагова стойност за NDS ≥ 4, предсказваща наличието на артериална хипертония със 75% чувствителност и 70% специфичност.

Зависимостта между изследваните неврологични методи и количествени параметри на изследваните лица е представена като корелационен анализ по Pearson в **таблица 21**.

	NDS	Вибротезиометър	MNSI А	MNSI Б	MNSI общо
Възраст	0.391**	0.317**	0.261*	0.337**	0.321**
Давност на ЗД	0.377**	0.333**	0.373**	0.245	0.346**
ИТМ	-0.130	-0.158	0.017	-0.058	-0.017
HbA1c	0.094	-0.227	-0.216	-0.094	-0.175
САН	0.202	0.003	-0.041	0.101	0.023
ДАН	-0.025	0.067	-0.269*	-0.171	-0.248
Общ холестерол	-0.176	-0.159	-0.090	-0.057	-0.081
HDL-холестерол	0.041	-0.046	0.106	0.110	0.116
LDL-холестерол	-0.162	-0.034	-0.034	0.031	-0.006
VLDL-холестерол	-0.085	-0.168	-0.283*	-0.295*	-0.295*
Триглицериди	-0.116	-0.152	-0.211	-0.198	-0.222
Албумин/креатинин в урина	0.315*	0.239	0.204	0.215	0.225

*p<0.05; **p<0.01; Цифрите в таблицата са корелационните коефициенти.
ИТМ – индекс на телесна маса; САН – систолно артериално налягане; ДАН – диастолно артериално налягане

Таблица 21. Корелационен анализ по Pearson на резултатите от тестовете за соматична невропатия с някои от количествените параметри на изследваната популация

Най-значима еднопосочна корелация се установи между анализираните методи, давността на захарния диабет и възрастта. Допълнително за част А от MNSI се доказа сигнификантна обратна корелация с диастолоното артериално налягане, а VLDL-холестеролът корелираше разнопосочно с всички компоненти на MNSI. Намери се асоциация и с други микросъдови усложнения - албуминурията корелираше правопропорционално с NDS.

II. Оценка на судомоторната автономна невропатия

В тази част на проучването бяха включени 201 пациенти – 92 мъже (45.8%) и 109 жени (54.2%), със средна възраст 57.37±9.29 години, в интервала между 32 и 79. Те бяха разделени в следните групи:

- Група 1 – пациенти с предиабет (n=81)
- Група 2 – пациенти с новодиагностициран захарен диабет тип 2 – до 1 година от поставяне на диагнозата (n=44)
- Група 3 – пациенти със захарен диабет тип 2 с давност над 1 година и вече установена ДПНП чрез ЕНГ (n=34)
- Група 4 – пациенти със захарен диабет тип 2 и диабетно стъпало – с диабетна рана на ходилото (n=42).

Основните характеристики на изследваните лица са представени в **таблица 22.**

Групи / **Показатели**	***Група 1*** **Предиабет** **n=81**	***Група 2*** **Нов ЗД** **n=44**	***Група 3*** **ЗД с ДН** **n=34**	***Група 4*** **Диабетно стъпало** **n=42**
Възраст (г)	56.93±7.25	54.05±9.98[a]	57.82±9.29	61.36±10.76[b]
Давност на ЗД (г)	-	0.25±0.44[a]	10.55±10.01[b]	13.49±10.47[b]
Жени (%)	70.4[a]	56.8[b]	32.4[c]	38.1[c]
ИТМ (кг/м^2)	32.29±5.92	34.05±6.44[a]	34.09±5.34[a]	30.86±6.38[b]
HbA1c (%)	5.95±0.50[a]	9.10±2.57[b]	8.33±1.82[b]	8.39±1.93[b]
Различните букви (a, b, c) показват статистически значима разлика между отбелязаните групи (p<0.05), а еднаквите букви и липсата на буква – липса на разлика между групите				

Таблица 22. Основни характеристики на изследваната популация, разделена в 4 групи

Пациентите в трите основни групи (2, 3 и 4) бяха сходни по отношение нивата на гликирания хемоглобин. Очаквано група 1 беше със значително по-ниска средна стойност на гликиран хемоглобин в сравнение с останалите три групи. Хората с диабетно стъпало бяха с по-нисък ИТМ в сравнение с участниците в другите две групи със захарен диабет. Нямаше съществена разлика в давността на диабета между група 3 и 4, докато хората с новодиагностициран ЗД бяха с очаквано по-малка давност на заболяването. Възрастта прогресивно нарастваше от група 2 към група 4, като статистически значима разлика се установи между участниците с новодиагностициран захарен диабет и тези с диабетно стъпало. Процентното съотношение на жените с новооткрит захарен диабет беше по-голямо в сравнение с това при хората с многогодишен ЗД, но пък от друга страна беше по-малко от това в групата с предиабет.

При анализа на судомоторната автономна невропатия на крайниците използвахме автоматизирания апаратен метод Судоскан. Резултатите от него са под формата на електрохимична кожна проводимост (ЕКП) на ръцете и краката, измерена в микро-Сименс (μS). Допълнително апаратът изчислява асиметрия дясно/ляво в ЕКП отделно за ръцете и краката, както и процентен риск за кардиална автономна невропатия. Резултатите от Судоскан при изследваната популация без и с диабетно стъпало са следните **(Таблица 23)**:

Групи / **Показатели**	***Група I*** **ЗД без диабетно стъпало**	***Група II*** **ЗД с диабетно стъпало**
ЕКП на дланите (μS)	65.79±15.46	48.12±20.68*
Асиметрия на дланите (%)	6.71±7.25	11.54±15.60*
ЕКП на стъпалата (μS)	76.56±13.84	45.04±27.77*
Асиметрия на стъпалата (%)	4.17±7.69	22.88±19.82*
Риск от кардиална автономна невропатия (%)	39.31±14.46	51.35±14.91*

Таблица 23. Судоскан параметри при хората без и с диабетно стъпало **(*p<0.05)**

При популацията с диабетно стъпало ЕКП на ръцете и стъпалата беше значимо по-ниска в сравнение с хората без това усложнение. От друга страна процентната асиметрия в проводимостта на ръцете и краката, както и рискът от кардиална автономна невропатия бяха сигнификантно по-високи при пациентите с диабетни рани.

Данни от по-ранни проучвания сочат, че тънките немиелинизирани автономни С-влакна (като тези, инервиращи потните жлези) се засягат рано в хода на невропатния процес, дори при предиабет(49). За да оценим на какъв етап настъпват измененията на судомоторната функция, в нашето изследване за автономна невропатия включихме хора с предиабет.

Резултатите от различните показатели в 4-те групи са представени в **таблица 24**.

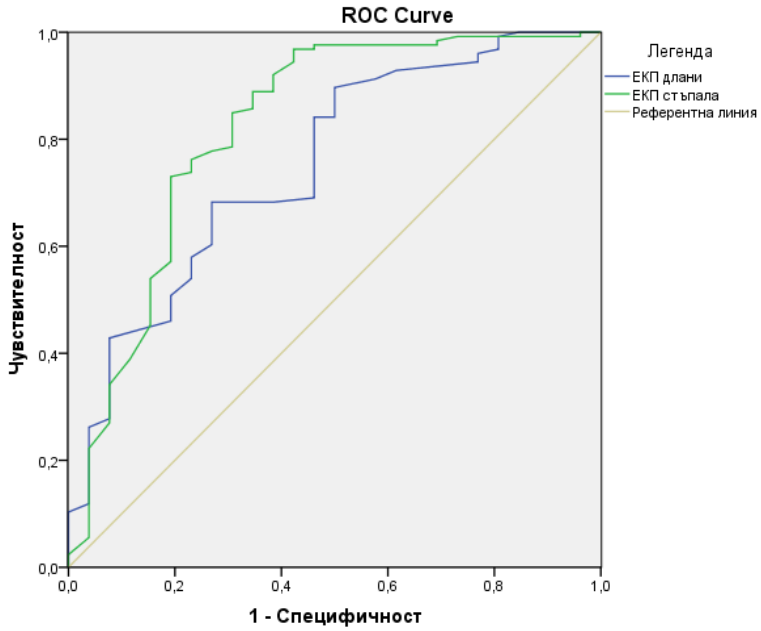
Групи / **Показатели**	***Група 1*** **Предиабет**	***Група 2*** **Нов ЗД**	***Група 3*** **ЗД с ДН**	***Група 4*** **Диабетно стъпало**
ЕКП на дланите (μS)	67.22±15.96[a]	64.21±14.49[a]	61.38±14.30[a]	48.12±20.68[b]
Асиметрия на дланите (%)	6.15±7.35[a]	6.03±5.33[a]	10.81±8.72[b]	11.54±15.60[b]
ЕКП на стъпалата (μS)	80.80±7.40[a]	68.34±19.88[b]	70.00±17.08[b]	45.04±27.77[c]
Асиметрия на стъпалата (%)	2.48±3.53[a]	7.10±8.54[b]	7.44±15.72[b]	22.88±19.82[c]
Риск от кардиална автономна невропатия (%)	33.91±11.84[a]	46.72±15.07[b]	52.19±11.04[b]	51.35±14.91[b]
Различните букви (a, b, c) показват статистически значима разлика между отбелязаните групи ($p<0.05$), а еднаквите букви – липса на значима разлика; Полетата в сиво показват появата на първата статистически значима разлика за съответния параметър в порядъка от група 1 към 4				

μS – микро-Сименс; ЕКП – електрохимична кожна проводимост

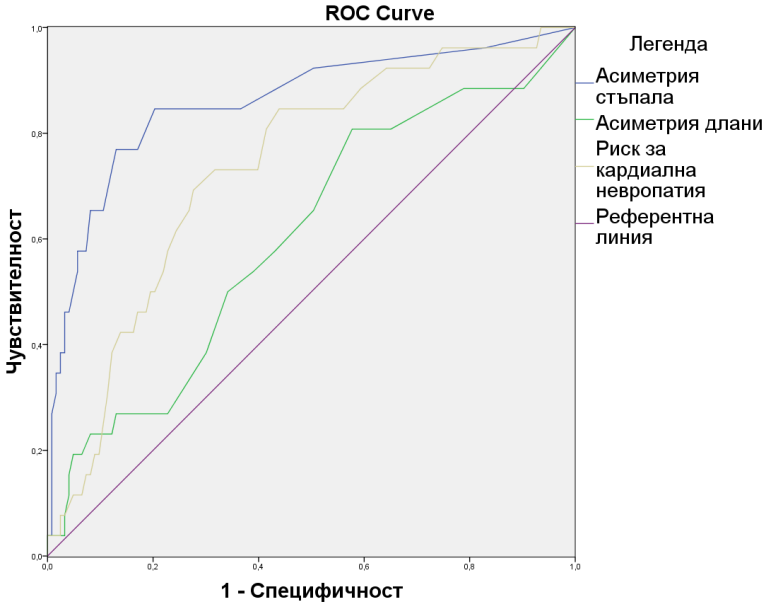
Таблица 24. Судоскан параметри на изследваните лица, разделени в 4 групи

Анализът потвърждава тенденцията за намаляване на ЕКП на крайниците, нарастване на асиметрията в проводимостта на ръцете и краката, както и за увеличаване на риска от кардиална автономна невропатия в порядъка от предиабет, през новодиагностициран захарен диабет, многогодишен ЗД тип 2 с ДН до диабетно стъпало. Но не всички разлики между групите са значими. В така представения континуум най-рано (на ниво новооткрит ЗД) настъпват сигнификантни различия при ЕКП на стъпалата, асиметрията в проводимостта им и при риска за кардиална невропатия. С по-голяма селективност сред трите показателя обаче се доказаха ЕКП на краката и процентната им асиметрия, тъй като стойностите им се различават също между хората с диабетна невропатия и диабетно стъпало, докато рискът за кардио-автономна невропатия беше сходен между трите групи с диабет. При изследваната популация на по-напреднал етап се проявиха промените в процентната асиметрия на дланите. Първата значима разлика по този показател е между хората с новооткрит ЗД и тези с многогодишен ЗД и вече доказана диабетна полиневропатия. Но пък пациентите с диабетно стъпало имаха сходна асиметрия в дланите с тези от група 3. Като най-късен маркер за судомоторна дисфункция се доказа ЕКП на дланите, която се различаваше между пациентите с диабетно стъпало и останалите групи. От друга страна това определя този показател като селективен за диабетно стъпало.

Извърши се ROC-анализ с цел идентифициране на прагови стойности за откриване на хората с диабетно стъпало сред изследваната популация. Резултатите са представени на **фигури 15, 16** и **таблица 25.**



Фигура 15. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на ЕКП на дланите и стъпалата за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация



Фигура 16. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на асиметрията на дланите и стъпалата, както и на риска за кардиална невропатия при разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

Показатели	*ROC-анализ*		
	Площ под кривата	**95% доверителен интервал**	**Значимост (p)**
Асиметрия на стъпалата	0.859	0.769-0.950	**<0.001**
ЕКП на стъпалата	0.821	0.716-0.926	**<0.001**
ЕКП на дланите	0.751	0.647-0.855	**<0.001**
Риск за кардиална невропатия	0.736	0.635-0.837	**<0.001**
Асиметрия на дланите	0.605	0.483-0.726	**0.094**

ЕКП – електрохимична кожна проводимост

Таблица 25. Резултати от ROC-анализа за оценка на Судоскан параметрите при отличаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

В представената таблица се демонстрира, че с най-голяма площ под кривата и с най-добра дискриминативна стойност е процентната асиметрия на стъпалата. На второ място, с близък резултат, е ЕКП на стъпалата. Другите два параметъра, за които се установи статистически значим резултат са ЕКП на дланите и процентния риск за кардио-автономна невропатия. ROC-кривата за асиметрията в проводимостта на дланите не достигна статистическа сигнификантност.

Определиха се прагови стойности на първите 4 показателя за идентифициране на пациентите с диабетно стъпало в изследваната популация:

- Асиметрия на стъпалата ≥ 7.5 % – 77 % чувствителност и 83 % специфичност
- ЕКП на стъпалата ≤ 65 μS – 85 % чувствителност и 70 % специфичност
- ЕКП на дланите ≤ 49 μS – 84 % чувствителност и 54% специфичност
- Риск за кардиална невропатия ≥ 45 % – 69 % чувствителност и 72 % специфичност

Предиктивната стойност на различните Судоскан параметри за развитие на диабетна улцерация беше оценена чрез бинарна логистична регресия. Резултатите са представени в **таблица 26.**

Фактор	**B**	**Ст. грешка**	**p**	**Exp(B)=OR**	**95% ДИ за OR**	
Асиметрия на стъпалата	0.108	0.024	<0.001	1.114	1.062	1.167
Риск за кардиална невропатия	0.053	0.016	0.001	1.055	1.023	1.088
Асиметрия на дланите	0.044	0.021	0.039	1.045	1.002	1.090
ЕКП на стъпалата	-0.065	0.012	<0.001	0.937	0.915	0.959
ЕКП на дланите	-0.056	0.013	<0.001	0.945	0.921	0.971

ДИ – доверителен интервал; p – ниво на значимост; OR – odds ratio (отношение на шансовете); ЕКП – електрохимична кожна проводимост

Таблица 26. Бинарна логистична регресия на Судоскан параметрите като предиктивни за развитие на диабетно стъпало

За всичките 5 показателя се доказа статистически значим регресионен модел. Оформиха се 2 групи предсказващи фактори за развитие на диабетно стъпало – рискови и протективни. Към първата група спадат асиметрията на стъпалата, рискът за кардио-автономна невропатия и асиметрията на дланите. Нарастването с единица на всеки от тях е свързано съответно с 11%, 6% и 5% увеличение на улцеративния риск. Към групата на протективните фактори при изследваните пациенти се доказаха: ЕКП на стъпалата и ЕКП на дланите. Тяхното повишение води до редукция на риска от диабетно стъпало съответно с 6% и 5%.

Извърши се корелационен анализ на Судоскан параметрите с различни количествени характеристики на изследваната популация **(Таблица 27)**.

	ЕКП на дланите	**Асиметрия на дланите**	**ЕКП на стъпалата**	**Асиметрия на стъпалата**	**Риск от кардиална невропатия**
Възраст	-0.142	0.215**	-0.138	0.232**	0.457**
Давност на ЗД	-0.277*	0.321**	-0.139	0.369**	0.135
ИТМ	0.025	0.044	0.093	-0.129	0.391**
HbA1c	-0.136	0.139	-0.215*	0.269**	0.483**
САН	-0.176	-0.160	0.024	-0.105	0.153
ДАН	-0.082	-0.127	0.101	-0.157	0.051
Общ холестерол	0.171	-0.196	-0.075	-0.005	-0.099
HDL-холестерол	-0.099	-0.098	-0.240	0.239	-0.061
LDL-холестерол	0.157	-0.199	-0.072	0.037	-0.047
VLDL-холестерол	0.183	-0.007	0.160	-0.217	-0.132
Триглицериди	0.111	0.001	0.114	-0.159	-0.105
Албумин/креатинин в урина	-0.298*	-0.017	-0.037	0.175	0.110
NDS	-0.232	0.223	-0.339**	0.370**	0.278*
Вибротезиометър	-0.238*	0.247*	-0.276*	0.405**	0.218
MNSI общо	-0.265*	0.093	-0.430**	0.315*	0.270*

*p<0.05; **p<0.01; Цифрите в таблицата са корелационните коефициенти.
ИТМ – индекс на телесна маса; САН – систолно артериално налягане; ДАН – диастолно артериално налягане; ЕКП – електрохимична кожна проводимост; NDS – Neuropathy Disability Score; MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument

Таблица 27. Корелационен анализ по Pearson на Судоскан параметрите с някои от количествените показатели на изследваната популация

Най-много значими корелации се установиха с възрастта на пациентите и давността на диабета. Асиметрията на дланите и стъпалата имаха правопропорционална зависимост с тях. Рискът от кардиална автономна невропатия корелираше позитивно с възрастта, а ЕКП на дланите корелираше обратно с давността на ЗД и албуминурията. Гликираният хемоглобин доказа позитивна корелация с асиметрията на стъпалата и риска от кардиална невропатия, както и обратна с ЕКП на стъпалата. ИТМ беше в положителна корелация с риска от кардио-автономна невропатия.

Направи се съпоставка между показателите за соматична и автономна невропатия. Установи се, че NDS корелира значимо еднопосочно с асиметрията на стъпалата и риска от кардиална невропатия, както и разнопосочно с ЕКП на стъпалата. Вибротезиометърът имаше права корелация с асиметрията на стъпалата и обратна с ЕКП на дланите и стъпалата. Общият сбор на MNSI беше в позитивна асоциация с асиметрията на стъпалата и риска от кардиална невропатия, както и в негативна с ЕКП на дланите и стъпалата.

Съдови фактори

В анализираната популация пациенти без и с диабетно стъпало направихме оценка на съдовите фактори като изследвахме следните показатели:

- Дебелина на интима-медиа на общата каротидна артерия (Intima-Media Thickness - IMT)
- Оценка за наличие на каротидни плаки
- Индекс глезен/мишница (ИГМ) - ABI
- Индекс/палец мишница (ИПМ) – TBI
- Съдов индекс сърце/глезен - CAVI (Cardio-Ankle Vascular Index) и съдова възраст, оценяващи артериалната ригидност

Резултатите от изследванията в двете групи са представени в **таблица 28**.

Групи / **Показатели**	***Група I*** **ЗД без диабетно стъпало**	***Група II*** **ЗД с диабетно стъпало**
IMT (mm)	0.720±0.170	0.820±0.250*
Наличие на каротидна плака (%)	51.2	88.5*
ИГМ - ABI	1.15±0.23	0.98±0.39*
Патологичен ABI (%)	33.3	59.3*
ИПМ - TBI	0.79±0.13	0.46±0.19*
Патологичен TBI (%)	16.7	90.9*
CAVI	7.58±1.65	8.98±1.92*
Съдова възраст (години)	54.50±14.23	62.14±18.23

IMT – Intima-Media Thickness; ИГМ – индекс глезен/мишница; ИПМ – индекс палец/мишница; CAVI – Cardio-Ankle Vascular Index**; *p<0.05**

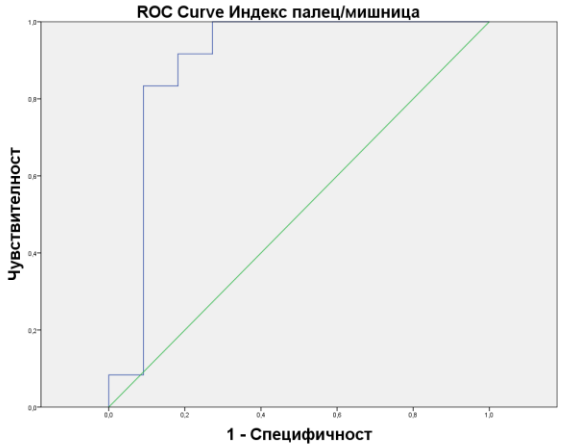
Таблица 28. Тестове за оценка на съдовите фактори при хора без и с диабетно стъпало

При сравнителния анализ на съдовите показатели се установи, че пациентите с диабетно стъпало имаха значимо по-голяма дебелина на IMT и по-висок процент каротидни плаки, сравнено с хората без това усложнение. Индексите глезен/мишница и глезен/палец бяха сигнификантно по-ниски при хората с диабетни рани. Също така значимо по-голям процент от пациентите с диабетно стъпало имаха патологични стойности на ИГМ и ИПМ, като за нормални бяха приети ИГМ между 0.9 и 1.3 и ИПМ ≥ 0.75(114). От маркерите за артериална ригидност се установи по-висока стойност на CAVI в групата с диабетно стъпало и тенденция за по-висока съдова възраст, но за последния показател разликата между групите не достигна статистическа значимост.

Проведе се ROC-анализ за установяване на прагови стойности за разграничаване на индивидите с диабетно стъпало сред изследваната популация със захарен диабет. Установиха се значими дискриминативни стойности за индексите глезен/мишница и палец/мишница **(Фигури 17 и 18)**.



Фигура 17. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на индекса глезен/мишница за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация



Фигура 18. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на индекса палец/мишница за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

Резултатите от ROC-анализа на двата показателя с площта под кривата, 95% доверителен интервал и нивото на значимост са представени в **таблица 29.**

Показатели	***ROC-анализ***		
	Площ под кривата	**95% доверителен интервал**	**Значимост (p)**
ИПМ (TBI)	0.894	0.733-1.000	**0.001**
ИГМ (ABI)	0.680	0.537-0.822	**0.011**

ИГМ – индекс глезен/мишница; ИПМ – индекс палец/мишница

Таблица 29. Резултати от ROC-анализа за оценка на ИГМ и ИПМ при отличаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

По-голяма площ под кривата се установи за индекса палец/мишница в сравнение с индекса глезен/мишница, което го характеризира като по-чувствителен за диабетно стъпало в конкретното изследване. Определиха се прагови стойности със съответната чувствителност и специфичност на двата показателя за разграничаване на хората с диабетно стъпало сред анализираната популация:

ИПМ ≤ 0.57 – 92% чувствителност и 82% специфичност

ИГМ ≤ 1.03 – 76% чувствителност и 67% специфичност

Предиктивната стойност на изследваните съдови фактори за развитие на диабетна улцерация се оцени чрез бинарен логистичен регресионен модел. Резултатите от него са изложени в **таблица 30.**

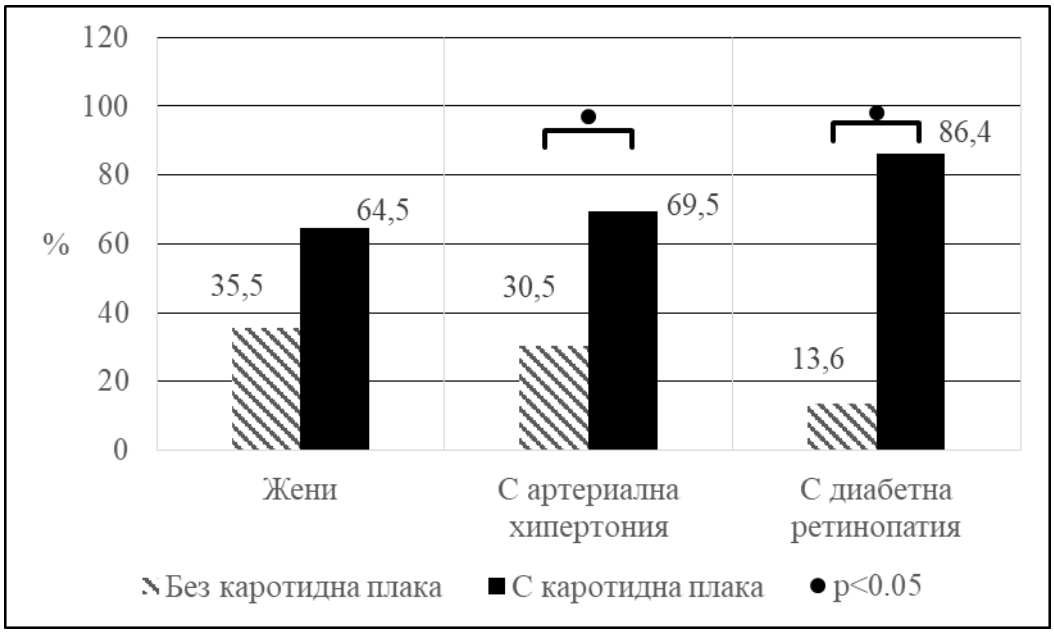
Фактор	B	Ст. грешка	p	Exp(B)=OR	95% ДИ за OR	
IMT	2.445	1.239	0.049	11.530	1.016	130.864
Каротидна плака	1.990	0.685	0.004	7.318	1.910	28.047
CAVI	0.451	0.239	0.059	1.570	0.983	2.506
ИПМ (TBI)	-10.747	3.999	0.007	<0.001	<0.001	0.055
ИГМ (ABI)	-1.923	0.898	0.032	0.146	0.025	0.850

ДИ – доверителен интервал; p – ниво на значимост; OR – odds ratio (отношение на шансовете); ИГМ – индекс глезен/мишница; ИПМ – индекс палец/мишница**;** IMT – Intima-Media Thickness; CAVI – Cardio-Ankle Vascular Index

Таблица 30. Бинарна логистична регресия на съдовите маркери като предиктивни за развитие на диабетно стъпало

В извършения анализ се установи, че наличието на каротидна плака е свързано с над 7 пъти по-висок риск за развитие на диабетно стъпало, а нарастването в дебелината на интима-медиа слоя на общата каротидна артерия с 1 мм увеличава същия риск повече от 11 пъти. За CAVI регресионният модел не достигна статистическа значимост. При оценката на показателите за периферна артериална болест – индексите глезен/мишница и палец/мишница, се установи значимо по-висока предиктивна стойност на ИПМ пред ИГМ, като и за двата показателя резултатите бяха сигнификантни.

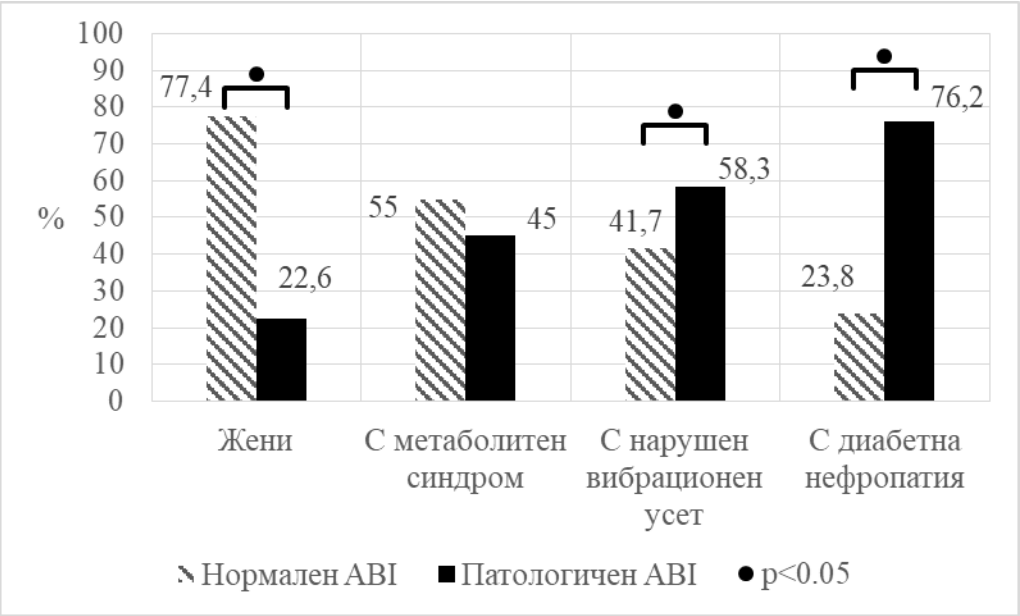
Според наличието на каротидна плака се направи допълнителен анализ върху процентното разпределение на някои качествени характеристики при изследваната популация. Резултатите от анализа са представени на **фигура 19.**



Фигура 19. Процентно разпределение на някои качествени характеристики на популацията според наличието на каротидна плака

Не се установи значима разлика в половото разпределение на изследваните пациенти според наличието на каротидна плака. Плаки се намериха над 2 пъти по-често сред хората с артериална хипертония и над 6 пъти по-често при тези с диабетна ретинопатия спрямо незасегнатите от тези заболявания.

При изследваните пациенти анализирахме процентното разпределение на сходни качествени показатели според индекса глезен/мишница (ABI). За нормален ABI приехме стойностите между 0.9 и 1.3(106). Като критерии за нарушен вибрационен усет използвахме вибрационен праг ≥ 25 V, оценен с вибротезиометър(43)**(Фигура 20)**.



Фигура 20. Процентно разпределение на някои качествени характеристики на популацията според стойността на индекса глезен/мишница - ИГМ (ABI)

На графиката се демонстрира, че по-голям процент от хората с патологична стойност на ИГМ са били мъже. Установи се корелация между микро- и макросъдовите усложнения. Повече пациенти с отклонения в стойността на ИГМ са били с нарушен вибрационен усет и са имали диабетна нефропатия. Нямаше значима разлика в честотата на метаболитния синдром при пациентите с нормална и патологична стойност на ИГМ.

Оцени се връзката между резултатите от изследванията на съдовите фактори както помежду им, така и с различни количествени показатели от антропометрията, лабораторните изследвания и неврологичните тестове. Данните от корелационния анализ са представени в **таблица 31.**

	IMT	ИГМ	ИПМ	CAVI	Съдова възраст
Възраст	0.369**	-0.090	-0.321	0.403*	0.933**
Давност на ЗД	0.197	-0.211	-0.816**	0.190	0.326
ИТМ	0.001	0.095	0.099	-0.498**	-0.411
HbA1c	0.066	-0.022	-0.665**	-0.289	0.077
Левкоцитен брой	0.289**	-0.047	-0.558**	0.566**	0.601*
СУЕ	0.307*	-0.271*	-0.253	0.410	0.019
IMT	1	-0.142	-0.295	0.420*	0.707**
NDS	0.0432**	-0.059	-0.495*	0.433*	0.384
Вибротезиометър	0.408**	-0.007	-0.393	0.432*	0.496
СС Асиметрия стъпалата	0.255*	-0.039	-0.492*	0.431*	0.502*
СС риск от кардиална невропатия	0.387**	0.023	-0.479*	-0.045	0.634**

*p<0.05; **p<0.01; Цифрите в таблицата са корелационните коефициенти.

ИТМ – индекс на телесна маса; СС – Судоскан; ИГМ – индекс глезен/мишница; ИПМ – индекс палец/мишница; IMT – Intima-Media Thickness; CAVI – Cardio-Ankle Vascular Index**;** NDS – Neuropathy Disability Score

Таблица 31. Корелационен анализ по Pearson на съдовите фактори с някои от количествените показатели на изследваната популация

От проведения корелационен анализа се установи, че дебелината на интима-медиа слоя на общата каротидна артерия корелира еднопосочно с възрастта на пациентите, левкоцитния брой, СУЕ, NDS, вибротезиометъра, Судоскан асиметрията на стъпалата и риска от кардиална автономна невропатия. Докато за индекса глезен/мишница се намери сигнификантна обратна корелация само със СУЕ, то индексът палец/мишница беше в обратна корелация с давността на захарния диабет, гликирания хемоглобин, левкоцитния брой, NDS, Судоскан асиметрията на стъпалата и риска от кардиална автономна невропатия. CAVI беше в еднопосочна корелация с възрастта левкоцитния брой, дебелината на интима-медиа слоя, NDS, вибротезиометър и Судоскан асиметрия на стъпалата. CAVI корелираше разнопосочно с индекса на телесна маса. Съдовата възраст, определена чрез Vascular Screening System VaSera VS-2000 на база на артериалната ригидност, беше в еднопосочна асоциация с календарната възраст, левкоцитния брой, дебелината на интима-медиа слоя, Судоскан асиметрията на стъпалата и риска от кардио-автономна невропатия.

В представения корелационен анализ се демонстрира важната връзка на изследваните съдови фактори както помежду им (връзка на морфологичните съдови промени – IMT, с артериалната ригидност - CAVI и съдова възраст), така и с показателите за соматична и автономна невропатия (NDS, вибротезиометър, Судоскан).

Биохимични фактори

В нашето изследване бяха анализирани 9 иновативни биомаркера в търсене на ролята им при диабетно стъпало – като дискриминативни, предиктивни, рискови или протективни фактори. Пет от биомаркерите спадат към групата на адипокините: Оментин-1, Хемерин, Васпин, Висфатин, Retinol Binding Protein-4 (RBP-4). Другите 4 молекули са: Тромбоксан А2, Ендотелин-1, Цистатин Ц, Интерлевкин-18.

Анализът на биомаркерите ще бъде представен в 2 части. В първата ще бъдат разгледани Цистатин Ц, Васпин и Тромбоксан А2, а във втората – останалите маркери.

I. Изследване на Цистатин Ц, Васпин и Тромбоксан А2

Резултатите от изследването на Цистатин Ц, Васпин и Тромбоксан А2 при хора със захарен диабет тип 2 без и с диабетно стъпало са представени в **таблица 32**.

Групи / **Показатели**	***Група I*** **ЗД без диабетно стъпало (n=64)**	***Група II*** **ЗД с диабетно стъпало (n=20)**
Цистатин Ц (ng/ml)	662.13±258.39	749.10±297.42
Васпин (ng/ml)	1.049±2.757	0.371±0.368
Тромбоксан А2 (pg/ml)	643.04±161.49	684.81±169.57

Таблица 32. Сравнителен анализ на нивата на Цистатин Ц, Васпин и Тромбоксан А2 при хора без и с диабетно стъпало

Установи се тенденция към по-високи нива на Цистатин Ц и Тромбоксан А2 в групата с диабетно стъпало, както и към по-ниски стойности на Васпин в същата група, но нито една от междугруповите разлики не достигна статистическа значимост.

След преразпределение на пациентите в други 2 групи – с новодиагностициран захарен диабет тип 2 (до 1 година от поставяне на диагнозата) без ДН и пациенти с многогодишен захарен диабет тип 2 (над 1 година давност), усложнен с диабетна полиневропатия без или с диабетно стъпало, се получиха следните резултати за 3-те биомаркера
(Таблица 33).

Групи / Показатели	Новодиагностициран ЗД (n=31)	Многогодишен ЗД (n=53)
Цистатин Ц (ng/ml)	587.57±229.86	738.56±276.35*
Васпин (ng/ml)	1.143±3.026	0.738±2.013
Тромбоксан А2 (pg/ml)	630.57±141.31	667.09±174.98

***p<0.05**

Таблица 33. Сравнителен анализ на нивата на Цистатин Ц, Васпин и Тромбоксан А2 при хора с новодиагностициран и многогодишен усложнен ЗД тип 2

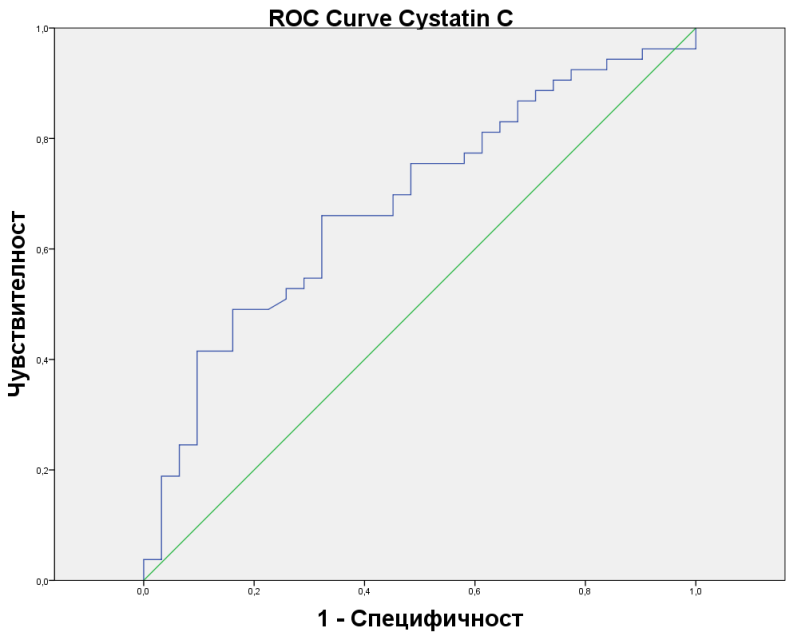
При пациентите с многогодишен захарен диабет тип 2 се измериха значимо по-високи нива на Цистатин Ц, в сравнение с другата група. По отношение на Васпин и Тромбоксан А2 не се доказаха сигнификантни разлики и при представеното подразделение.

Проведе се ROC-анализ според нивата на Цистатин Ц за идентифициране на пациентите с многогодишен ЗД и реализирани усложнения сред изследваната популация **(Фигура 20)**.

Резултатът беше статистически значим (p=0.005) с площ под кривата AUC = 0.683 и 95% доверителен интервал 0.566 – 0.799.

Според ROC-кривата се определи прагова стойност на Цистатин Ц със съответната чувствителност и специфичност за отличаване на хората с усложнен ЗД тип 2 сред останалите изследвани лица:

- Цистатин Ц ≥ 577 ng/ml – 70% чувствителност и 55 % специфичност.



Фигура 20. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на Цистатин Ц за разграничаване на хората с многогодишен ЗД и налични усложнения

Използва се бинарна логистична регресия, за да се направи оценка на количественото влияние на Цистатин Ц по отношение на многогодишния усложнен захарен диабет тип 2. Доказа се сигнификантен регресионен модел с отношение на шансовете OR=1.002 в 95% доверителен интервал 1.000-1.004.

При направен корелационен анализ на Цистатин Ц с други количествени параметри се установи еднопосочна сигнификантна корелация с възрастта на пациентите, давността на ЗД, индекса на телесна маса, дебелината на интима-медиа на общата каротидна артерия и Судоскан асиметрията на дланите **(Таблица 34)**.

Параметър	**Коефициент**
Възраст	0.409**
Давност на ЗД	0.503**

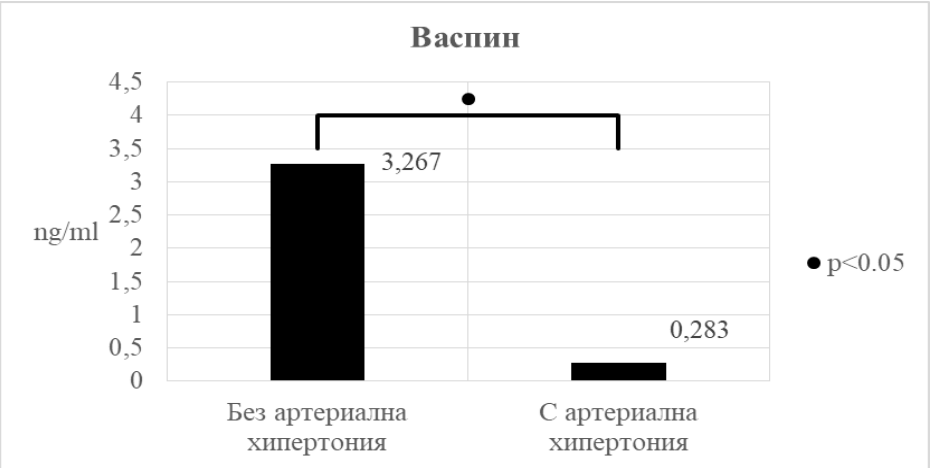
ИТМ	0.229*
NDS	0.106
Дебелина на интима-медия	0.304*
Индекс глезен/мишница	-0.132
Судоскан – асиметрия длани	0.451**
Судоскан – асиметрия стъпала	0.053
HbA1c (%)	-0.105
Креатинин	0.214
Албумин/креатинин в урина	0.184

*p<0.05; **p<0.01

ИТМ – индекс на телесна маса; NDS – Neuropathy Disability Score

Таблица 34. Корелационен анализ по Pearson на Cystatin C с някои от количествените показатели на изследваната популация

По отношение на Васпин, в допълнителен анализ се установиха статистически значими (p=0.003) по-високи нива на този адипокин при пациентите без (3.267±4.858 ng/ml) спрямо тези с артериална хипертония (0.283±0.274 ng/ml) **(Фигура 21).**



Фигура 21. Нива на Васпин според наличието на артериална хипертония

II. Изследване на Оментин-1, Хемерин, Висфатин, Retinol Binding Protein-4, Ендотелин-1, Интерлевкин-18

На втори етап се направи сравнителен анализ на останалите 6 биомаркера при пациенти със захарен диабет тип 2 без и с диабетно стъпало. Резултатите от средните стойности и стандартните им отколонения са представени в **Таблица 35**.

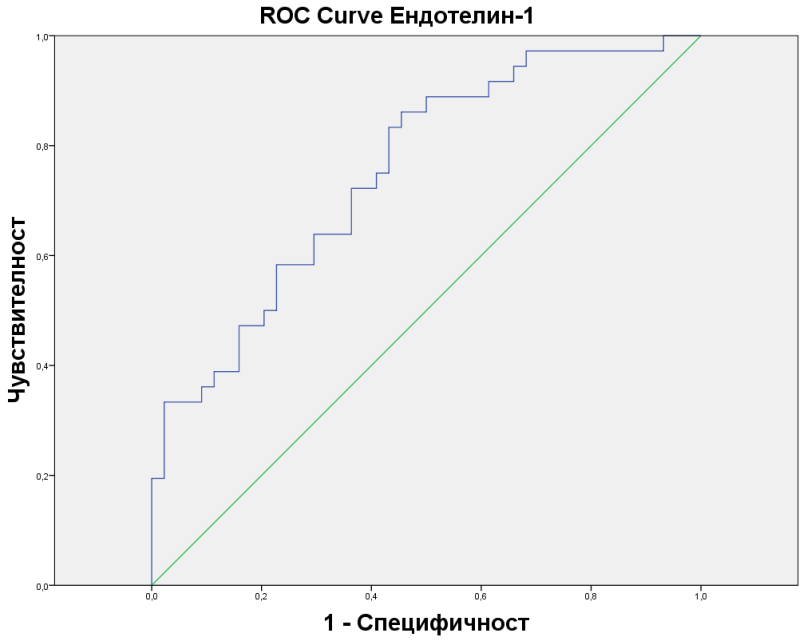
Групи / **Показатели**	***Група I*** **ЗД без диабетно стъпало (n=44)**	***Група II*** **ЗД с диабетно стъпало (n=36)**
Оментин-1 (ng/ml)	560.16±176.70	700.20±345.08*
Хемерин (ng/ml)	592.82±125.43	521.26±189.94*
Висфатин (ng/ml)	1.87±1.47	1.83±1.31
Retinol Binding Protein-4 (mg/l)	21.04±23.13	23.12±23.70
Ендотелин-1 (pg/ml)	5.40±2.84	9.83±6.52*
Интерлевкин-18 (pg/ml)	348.26±136.23	340.12±144.80

***p<0.05**

Таблица 35. Сравнителен анализ на нивата на Оментин-1, Хемерин, Висфатин, Retinol Binding Protein-4, Ендотелин-1, Интерлевкин-18 при хора без и с диабетно стъпало

Установиха се значимо по-високи нива на Оментин-1 и Ендотелин-1 сред пациентите с диабетно стъпало, в сравнение с другата група. Нивата на Хемерин бяха сигнификантно по-ниски сред изследваните хора с диабетни рани в сравнение с тези без това усложнение. Разликите в нивата на останалите 3 биомаркера между двете групи не достигнаха статистическа значимост.

Извърши се ROC-анализ на биомаркерите за определяне на тяхната дискриминативна способност при идентифициране на хората с диабетно стъпало в изследваната популация пациенти. Доказа се статистически значим резултат ($p<0.001$) за нивата на Ендотелин-1 с площ под кривата AUC = 0.753 и 95% доверителен интервал 0.647-0.858 **(Фигура 22)**.



Фигура 22. ROC-анализ за оценка дискриминативната способност на Ендотелин-1 за разграничаване на хората с диабетно стъпало в изследваната популация

На база на ROC-кривата се определи прагова стойност на Ендотелин-1 с конкретна чувствителност и специфичност при разграничаване на пациентите с диабетно стъпало:

- Ендотелин-1 ≥ 5.5 pg/ml – 70% чувствителност и 64% специфичност.

Използва се бинарна логистична регресия, за да се определи предиктивната стойност на изследваните биохимични фактори по отношение развитието на диабетно стъпало. Резултатите от регресионния анализ са показани в **Таблица 36**.

Фактор	B	Ст. грешка	p	Exp(B)=OR	95% ДИ за OR	
Ендотелин-1	0.241	0.076	0.001	1.273	1.097	1.477
Оментин-1	0.002	0.001	0.031	1.002	1.000	1.004
Хемерин	-0.003	0.002	0.053	0.997	0.994	1.000

ДИ – доверителен интервал; p – ниво на значимост; OR – odds ratio (отношение на шансовете)

Таблица 36. Бинарна логистична регресия на Ендотелин-1, Оментин-1 и Хемерин като предиктивни за развитие на диабетно стъпало

За нивата на Ендотелин-1 и Оментин-1 се доказа сигнификантна предиктивна стойност за развитие на диабетно стъпало. Повишението на Ендотелин-1 увеличава улцеративния риск с 27%, а на Оментин-1 – с 0.2%. Регресионният модел за нивата на Хемерин не достигна статистическа значимост.

Проведе се корелационен анализ на изследваните 6 биомаркера с различни количествени параметри на изследваната популация. Резултатите са разделени в 3 таблици – корелационен анализ с антропометрични и лабораторни показатели, корелационен анализ с резултати от неврологичнчите изследвания и корелационен анализ с резултати от съдовите изследвания – **таблици 37, 38 и 39**.

	Оментин1	Хемерин	Висфатин	RBP-4	Ендотелин1	IL-18
Възраст	0.306**	-0.039	-0.017	0.163	0.065	0.027
Давност на ЗД	0.195	-0.140	-0.122	-0.080	0.113	0.191
ИТМ	-0.178	0.375**	0.041	0.093	-0.168	0.158
% мазнини	-0.167	0.190	0.153	-0.025	-0.268*	-0.095

Критерии МС	-0.051	0.074	0.184	0.228	-0.118	0.250*
VFR	-0.330	0.337	-0.002	-0.075	-0.388	0.459*
Левкоцити	-0.009	-0.047	0.371**	-0.045	0.337**	0.280*
СУЕ	0.144	0.105	-0.057	0.197	-0.103	0.143
HbA1c	0.007	0.016	0.084	-0.028	0.239	-0.025
ACR	0.047	0.050	-0.085	0.125	0.255	0.038

*p<0.05; **p<0.01; Цифрите в таблицата са корелационните коефициенти.
ИТМ – индекс на телесна маса**;** VFR – Visceral Fat Rating**;** ACR – albumin/creatinine ratio; МС – метаболитен синдром

Таблица 37. Корелационен анализ по Pearson на биомаркерите с антропометрични и лабораторни показатели на изследваната популация

В представения корелационен анализ се установиха следните сигнификантни закономерности. Оментин-1 корелираше позитивно с възрастта на пациентите, а Хемерин – с индекса на телесна маса. Левкоцитният брой беше в еднопосочна корелация с нивата на Висфатин, Ендотелин-1 и Интерлевкин-18. Последният беше в позитивна корелация още с индекса на висцерална мастна тъкан и броя компоненти на метаболитния синдром.

	Оментин1	**Хемерин**	**Висфатин**	**RBP-4**	**Ендотелин1**	**IL-18**
NDS	0.128	-0.072	-0.038	0.027	0.257*	-0.093
Вибротезиометър	0.159	-0.066	0.054	0.104	0.202	0.157
MNSI общо	0.071	-0.077	-0.214	0.113	0.204	-0.166
СС ЕКП длани	-0.252*	0.166	0.138	0.158	-0.067	-0.033
СС асиметрия длани	0.051	0.171	-0.125	-0.080	-0.002	0.108
СС ЕКП стъпала	-0.199	0.111	0.190	0.001	-0.241*	0.148

СС асиметрия стъпала	0.215	-0.192	-0.152	0.064	0.246*	-0.107
СС риск за кардиална невропатия	0.412**	0.123	0.040	0.105	0.069	0.144

*p<0.05; **p<0.01; Цифрите в таблицата са корелационните коефициенти.
СС – Судоскан; ЕКП – Електрохимична кожна проводимост; NDS – Neuropathy Disability Score; MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument

Таблица 38. Корелационен анализ по Pearson на биомаркерите с резултати от неврологичните изследвания при анализираната популация

Корелационният анализ на биомаркерите с резултатите от неврологичните тестове доказа сигнификантна позитивна корелация на Оментин-1 с изчисления по Судоскан риск за кардиална автономна невропатия, както и негативна корелация с ЕКП на дланите. Допълнително Ендотелин-1 беше в еднопосочна корелация с точковия сбор от NDS и Судоскан асиметрията на стъпалата, както и в значима разнопосочна корелация с ЕКП на стъпалата.

	Оментин1	**Хемерин**	**Висфатин**	**RBP-4**	**Ендотелин1**	**IL-18**
ABI	-0.166	-0.060	0.061	-0.205	-0.284*	-0.028
TBI	-0.641**	0.339	-0.140	-0.376	-0.407	-0.271
IMT	0.112	0.155	0.025	0.026	0.105	0.243*
CAVI	0.057	-0.213	0.104	0.105	0.355	0.174
Съдова възраст	0.371	-0.045	0.247	0.312	0.485*	-0.146

*p<0.05; **p<0.01; Цифрите в таблицата са корелационните коефициенти.
ABI – Ankle/Brachial Index; TBI – Toe/Brachial Index; CAVI – Cardio-Ankle Vascular Index; IMT – Intima-Media Thickness

Таблица 39. Корелационен анализ по Pearson на биомаркерите с резултати от съдовите изследвания при анализираната популация

При съпоставката на резултатите от съдовите изследвания с нивата на анализираните биомаркери се установиха значими зависимости с Оментин-1, Ендотелин-1 и IL-18. Оментин-1 корелираше негативно с индекса палец на крака/мишница. Ендотелин-1

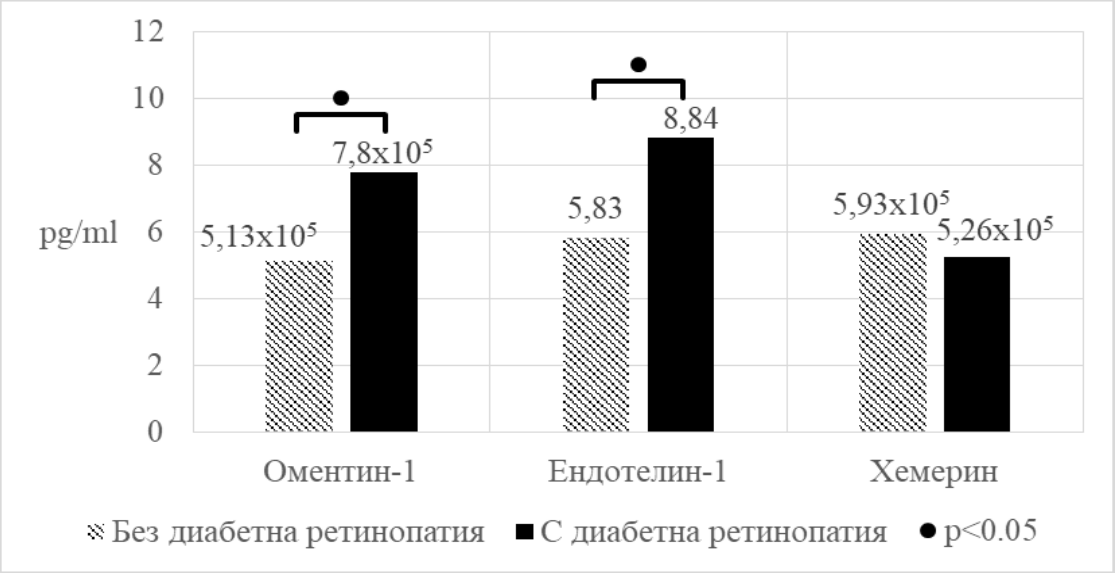
беше в разнопосочна корелация с индекса глезен/мишница и в еднопосочна със съдовата възраст. IL-18 се свързваше позитивно с дебелината на интима-медиа слоя.

Накрая се извърши комбиниран корелационен анализ на всички 9 изследвани биомаркера помежду им и се установиха следните сигнификантни зависимости:

- **Оментин-1** – позитивна корелация с **RBP-4** и **Тромбоксан А2**, както и негативна с **Хемерин**
- **RBP-4** – позитивна корелация с **Висфатин** и **Оментин-1**
- **Интерлевкин-18** – позитивна корелация с **Цистатин Ц**.

Наблюдаваните асоциации останаха сигнификантни дори след адаптиране на резултатите спрямо потенциалните интерфериращи променливи.

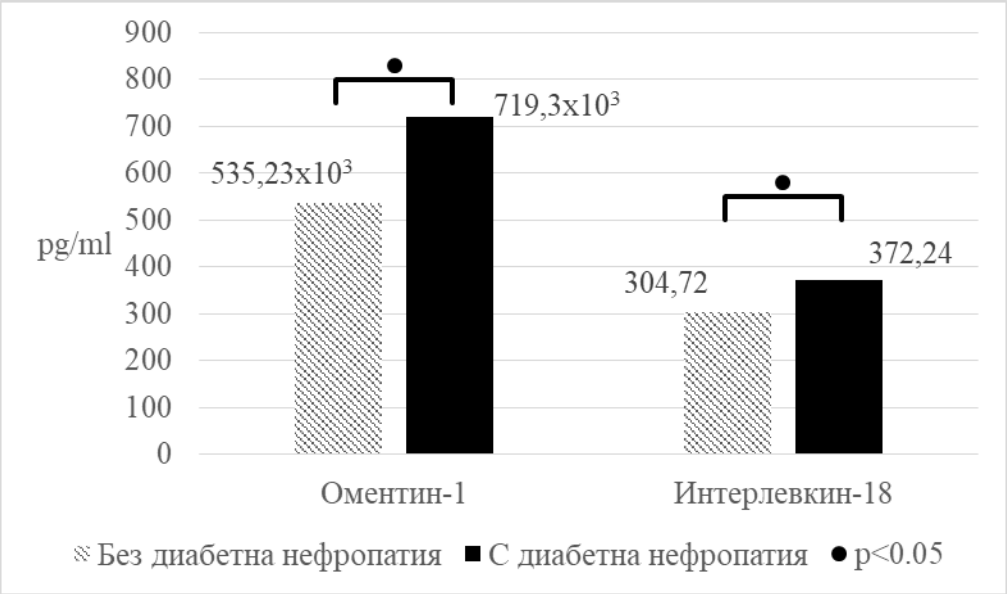
Направи се субанализ на изследваните в тази част 6 биомаркера според различни качествени параметри на популацията. Резултатите са представени по-долу.



Фигура 23. Нива на Оментин-1, Ендотелин-1 и Хемерин според наличието на диабетна ретинопатия

Сред изследваните пациенти с диабетна ретинопатия се установиха значимо по-високи нива на Оментин-1 и Ендотелин-1 в сравнение с хората без това усложнение. За останалите биомаркери не се доказа статистически значима разлика по този критерий.

При пациентите с нарушена протективна чувствителност и вибрационен праг ≥ 25 V, изследван с вибротезиометър, се измериха сигнификантно (p=0.036) по-високи нива на Интерлевкин-18 (372.14±160.75 pg/ml) спрямо тези със съхранен вибрационен усет (308.69±71.97).



Фигура 24. Нива на Оментин-1 и Интерлевкин-18 според наличието на диабетна нефропатия

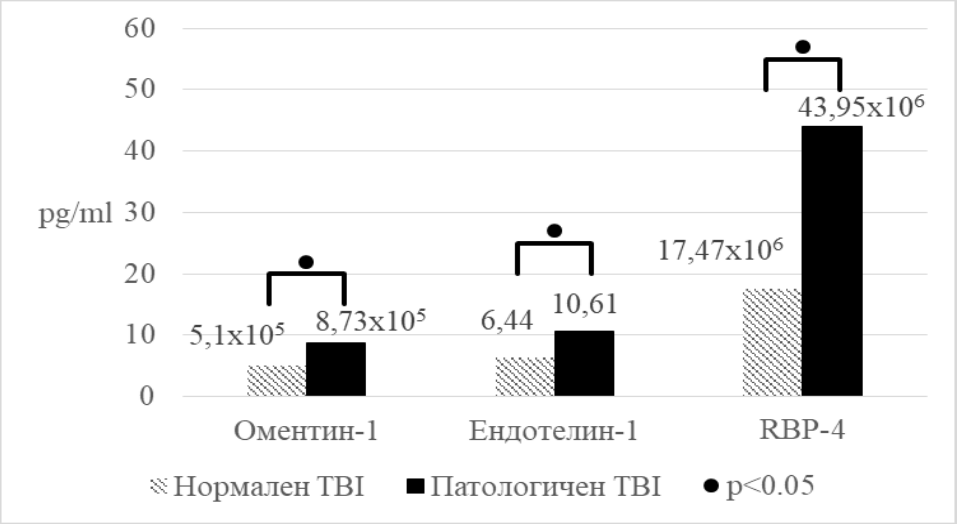
На **фигура 24** се илюстрират установените сигнификантно по-високи нива на Оментин-1 и Интерлевкин-18 сред пациентите с диабетна нефропатия спрямо тези без това усложнение. За останалите биомаркери не се намери значима разлика по този критерий.

Според наличието на метаболитен синдром се доказа статистически значима разлика в нивата на Висфатин (p=0.024). При хората с метаболитен синдром те бяха по-високи (1.83±1.29 ng/ml) спрямо тези без МС (1.22±0.58 ng/ml).

В зависимост от различните прояви на макросъдовата болест се намериха следните сигнификантни разлики в нивата на анализираните биомаркери.

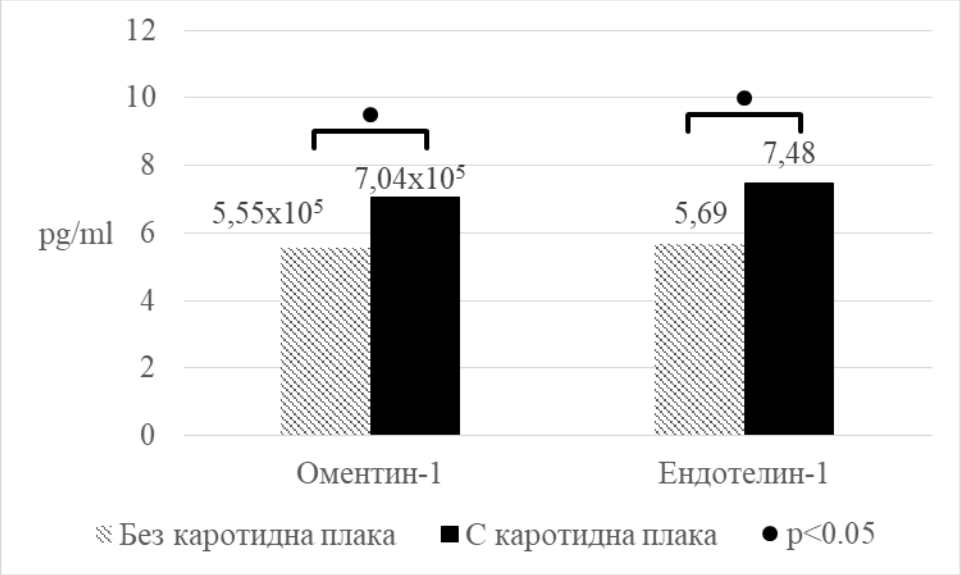
Изследваните лица с патологична стойност на индекса глезен/мишница (<0.9 или >1.3) имат значимо (p=0.026) по-високи нива на Интерлевкин-18 (380.86±168.39 pg/ml), сравнено с тези, при които е измерена нормална стойност (0.9 – 1.3) на ABI (311.55±74.66 pg/ml).

На следващите 2 графики са представени нивата на някои от включените биомаркери със сигнификантни разлики според индекса палец/мишница, както и според присъствието на плака в общата каротидна артерия **(Фигури 25 и 26)**.



Фигура 25. Нива на Оментин-1, Ендотелин-1 и RBP-4 според категорията на стойността за индекса палец/мишница (TBI)

Хората с патологична стойност на индекса палец на крака/мишница (<0.75) бяха със значимо по-високи нива на Оментин-1, Ендотелин-1 и RBP-4, спрямо лицата с нормален ИПМ (≥ 0.75).



Фигура 26. Нива на Оментин-1 и Ендотелин-1 според наличието на каротидна плака

При изследваните пациенти с плака на каротидната артерия се установиха значимо по-високи стойности на Оментин-1 и Ендотелин-1, сравнено с тези без каротидни плаки. За останалите биомаркери не се намери сигнификатна разлика по този критерии.

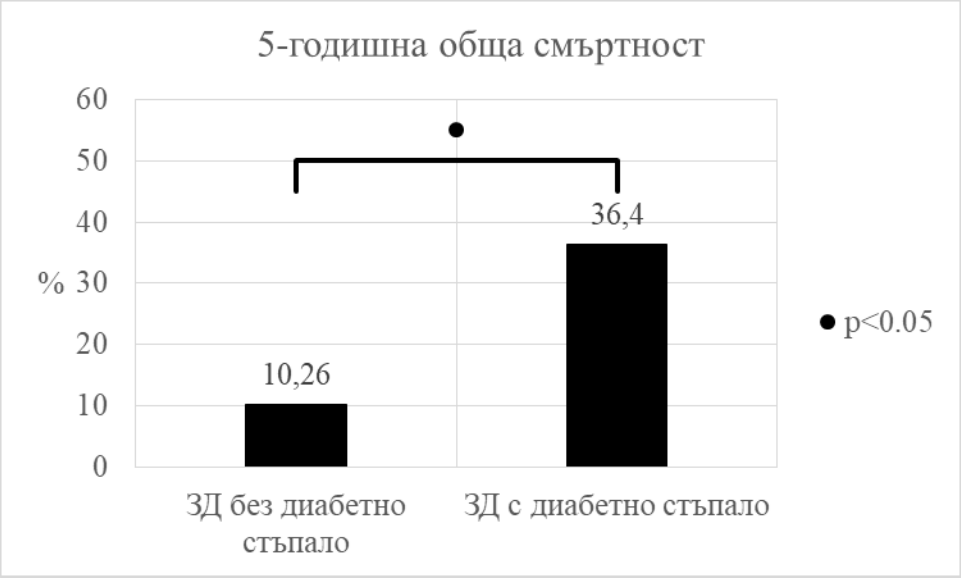
В заключениие:

- **Оментин-1** е по-висок при пациентите с диабетна ретинопатия, с диабетна нефропатия, с патологична стойност на индекса палец/мишница (TBI) и с каротидна плака
- **Ендотелин-1** е по-висок при изследваните лица с диабетна ретинопатия, с патологична стойност на индекса палец/мишница (TBI) и с каротидна плака
- **Интерлевкцин-18** е по-висок сред тези с диабетна нефропатия, с нарушен вибрационен усет и патологична стойност на индекса глезен/мишница (ABI)
- **RBP-4** е по-висок при хората с патологична стойност на TBI
- **Visfatin** е по-висок при пациентите с метаболитен синдром.

Раздел 2. Проследяващо проучване

В тази част на изследването бяха проследени 111 пациенти със захарен диабет тип 2 за среден период от 3.2 години (от 2 до 5 години), като се регистрира нивото на 5-годишната обща смъртност.

От проследените пациенти 33 бяха с диабетно стъпало, а 78 със захарен диабет тип 2 без това усложнение. На **фигура 27** е представено разпределението на 5-годишната обща смъртност в двете групи.



Фигура 27. Процентна 5-годишна обща смъртност на проследените лица без и с диабетно стъпало

От проследените лица общо 91 са живи и 20 (18.02%) са починали. Установи се, че при пациентите с диабетно стъпало починалите са 12 от общо 33 (36.4%), а при тези със ЗД, но без диабетни рани – 8 от общо 78 (10.26%). Разликата в процентния дял между двете групи е статистически значима.

Основните изходни антропометрични, лабораторни и диабетни показатели на проследените пациенти според настъпилата смъртност са представени в **таблица 40**.

	Живи	**Починали**
Възраст (години)	57.47±8.86	64.85±10.65*
Давност на ЗД (години)	7.81±9.71	16.24±9.95*
Жени (%)	56.5	40
Индекс на телесна маса (кг/м^2)	32.63±6.17	32.99±6.28
% мазнини в тялото	35.97±10.49	31.88±7.22
VFR	10.42±2.71	11.20±5.40
Систолно артериално налягане (mm Hg)	133.62±21.23	131.14±16.18
Диастолно артериално налягане (mm Hg)	81.59±10.46	77.00±7.52
Левкоцити (G/l)	8.21±2.43	9.52±3.88
СУЕ (mm/h)	20.61±20.79	26.45±28.72
HbA1c (%)	7.66±2.31	8.69±2,35
ACR (mg/mmol)	23.56±73.90	35.44±45.05
С диабетна ретинопатия (%)	26.8	66.7*
С диабетна нефропатия (%)	40.5	80.0*

***p<0.05**; VFR – Visceral Fat Rating; ACR – Albumin-creatinine ratio

Таблица 40. Основни антропометрични, лабораторни и диабетни показатели на проследените пациенти, разделени според настъпила 5-годишна смъртност

Очаквано се установи, че по-възрастните пациенти и тези с по-голяма давност на захарния диабет са със значимо по-висока смъртност. Изходно при починалите пациенти честотата на диабетна ретинопатия и диабетна нефропатия е била около 2 пъти по-висока, в сравнение с живите. По-останалите разгледани параметри се набелязаха тенденции, но в нашето изследване разликите не достигнаха статистическа значимост.

Количественото влияние на изследваните показатели върху общата смъртност беше оценено чрез бинарна логистична регресия. Резултатите от нея са представени в **таблица 41**.

Фактор	B	Ст. грешка	p	Exp(B)=OR	95% ДИ за OR	
Диабетна нефропатия	1.769	0.859	0.039	5.867	1.090	31.564
Диабетна ретинопатия	1.699	0.683	0.013	5.467	1.434	20.836
Възраст	0.090	0.029	0.002	1.094	1.033	1.159
Давност на ЗД	0.074	0.027	0.006	1.077	1.022	1.136

ДИ – доверителен интервал; p – ниво на значимост; OR – odds ratio (отношение на шансовете)

Таблица 41. Бинарна логистична регресия на представените показатели като предиктивни за обща смъртност

За четирите разгледани показателя се доказаха статистически значими регресионни модели в изследваната популация. Наличието на диабетна нефропатия и диабетна ретинопатия поотделно увеличават риска за обща смъртност с над 5 пъти. Остаряването и по-голямата давност на захарния диабет носят допълнително съответно 9.4% и 7.7% риск за фатален изход в рамките на 5 години.

Резултатите от изследванията за соматична и автономна невропатия според настъпилата 5-годишна обща смъртност са изложени в **таблица 42**.

	Живи	Починали
NDS (точки)	5.88±3.05	7.29±3.51
Вибротезиометър (V)	25.90±12.77	34.07±12.23*
MNSI общо (точки)	9.89±5.60	13.39±4.94*
СС ЕКП длани (μS)	63.62±16.26	47.94±19.80*
СС асиметрия длани (%)	7.43±7.17	13.44±19.09
СС ЕКП стъпала (μS)	70.86±21.00	55.50±26.18*
СС асиметрия стъпала (%)	6.57±11.99	21.13±19.99*
СС риск за кардиална невропатия (%)	41.59±14.40	54.31±15.57*

СС – Судоскан; ЕКП – Електрохимична кожна проводимост; NDS – Neuropathy Disability Score; MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument; ***p<0.05**

Таблица 42. Резултати от неврологичните изследвания според настъпила 5-годишна смъртност

Направи впечатление, че за повечето резултати от неврологичните изследвания се установи статистически значима разлика според настъпилата 5-годишна смъртност (при NDS нивото на статистическа значимост беше гранично: p=0.05). Пациентите, при които беше настъпила смъртност, имаха по-висок вибрационен праг на усет, по-голям сбор точки от MNSI, по-изразена Судоскан асиметрия на стъпалата, както и по-висок риск за кардиална автономна невропатия, сравнено с живите лица. Същевременно ЕКП на дланите и стъпалата беше значимо по-ниска сред екзитиралите пациенти, спрямо другата група.

В регресионен модел се степенува количествено предиктивната стойност на изброените неврологични показатели за настъпване на 5-годишна смъртност **(Таблица 43)**.

Фактор	**B**	**Ст. грешка**	**p**	**Exp(B)=OR**	**95% ДИ за OR**	
Нарушен вибрационен усет	1.630	0.706	0.021	5.101	1.278	20.369
MNSI общо	0.124	0.062	0.046	1.131	1.002	1.277
СС риск за КАН	0.056	0.019	0.004	1.057	1.018	1.098
СС асиметрия стъпала	0.050	0.016	0.001	1.052	1.020	1.084
СС ЕКП длани	-0.048	0.016	0.002	0.953	0.925	0.983
СС ЕКП стъпала	-0.025	0.010	0.015	0.975	0.955	0.995

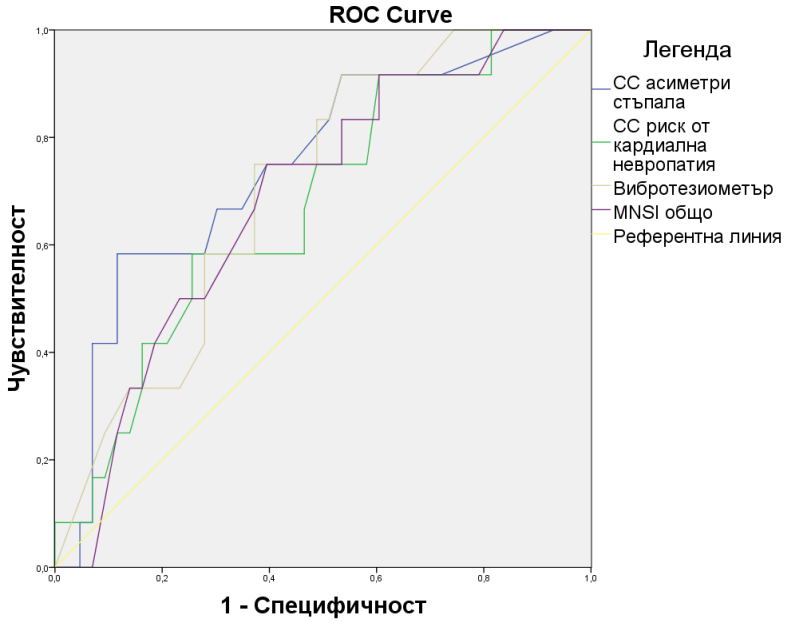
ДИ – доверителен интервал; p – ниво на значимост; OR – odds ratio (отношение на шансовете); СС – Судоскан; КАН – кардиална автономна невропатия; ЕКП – Електрохимична кожна проводимост; MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument

Таблица 43. Бинарна логистична регресия на представените неврологични тестове като предиктивни за обща смъртност

Нарушеният вибрационен усет (измерен чрез невротезиометър праг над 25 V) увеличава риска за обща смъртност 5 пъти. На второ място по количествено влияние се нарежда общият сбор от MNSI, повишаващ вероятността от фатален изход с 13%. Сред Судоскан параметрите като рискови за смъртност се доказаха оценката за кардио-

автономна невропатия и асиметрията на стъпалата, съответно с влияние 5.7% и 5.2%. В ролята на протективни фактори бяха ЕКП на дланите и ЕКП на стъпалата, като всяко тяхно повишение с 1 μS намалява риска от 5-годишна смъртност респективно с 5% и 2.5%.

Извърши се ROC-анализ с цел идентифициране на прагови стойности за неврологичните показатели, предсказващи 5-годишна обща смъртност **(Фигури 28 и 29)**.



Фигура 28. ROC-анализ, оценяващ предиктивната способност на изброените неврологични показатели за настъпване на 5-годишна обща смъртност

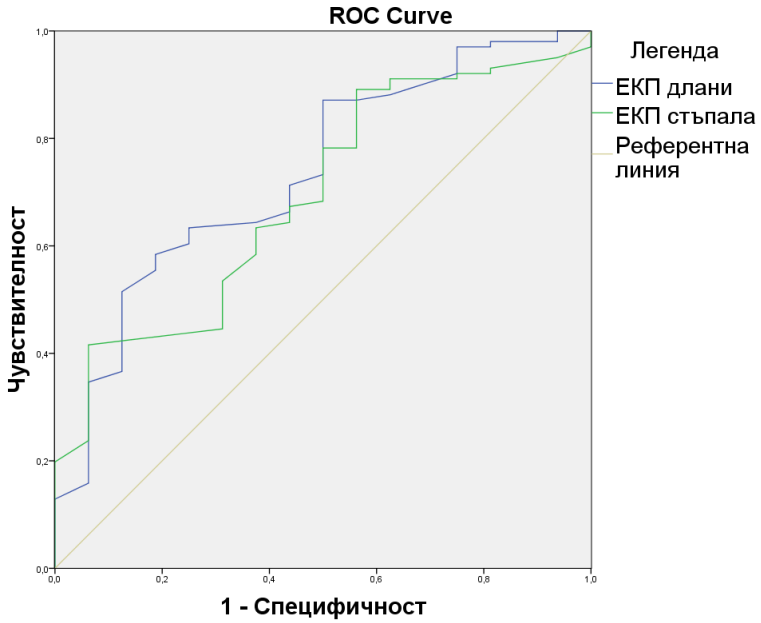
С най-голяма площ под кривата AUC=0.746 беше Судоскан асиметрията на стъпалата, следвана от вибротезиометъра с AUC=0.705. За останалите показатели ROC-кривите не бяха сигнификантни.

Определените прагови стойности за двата значими показателя са:

- CC асиметрия на стъпалата ≥ 8.5% - 75% чувствителност и 60% специфичност

- Вибрационен праг ≥ 29V - 75% чувствителност и 63% специфичност.

ROC-кривите на протективните неврологични фактори са представени на **фигура 29**.



Фигура 29. ROC-анализ, оценяващ предиктивната способност на изброените неврологични показатели за настъпване на 5-годишна смъртност

И двата показателя достигнаха статистическа значимост. С по-голяма площ под кривата беше ЕКП на дланите (AUC=0.735), спрямо ЕКП на стъпалата (AUC=0.692).

Определените прагови стойности са:

- ЕКП длани ≤ 42 μS - 87% чувствителност и 50% специфичност
- ЕКП стъпала ≤ 62 μS - 78% чувствителност и 50% специфичност.

Направи се анализ на резултатите от съдовите изследвания според настъпилата 5-годишна смъртност. Те са представени в **таблица 44**.

	Живи	Починали
IMT (mm)	0.729±0.175	0.871±0.292*
Наличие на каротидна плака (%)	59.3%	84.6
ИГМ - ABI	1.10±0.28	1.07±0.42
Патологичен ABI (%)	35.7	64.3
ИПМ - TBI	0.66±0.23	0.52±0.23
Патологичен TBI (%)	44.4	75.0
CAVI	8.22±1.89	9.05±2.14
Съдова възраст (години)	56.15±15.02	62.50±20.21

IMT – Intima-Media Thickness; ИГМ – индекс глезен/мишница; ИПМ – индекс палец/мишница; CAVI – Cardio-Ankle Vascular Index**; *p<0.05**

Таблица 44. Тестове за оценка на съдовите фактори според настъпила 5-годишна обща смъртност

Сред анализираните изходни резултати от съдовите изследвания се установи статистически значима разлика единствено за дебелината на интима-медиа слоя на общата каротидна артерия. При починалите пациенти тя е била по-голяма спрямо живите. За останалите показатели в нашето изследване се набелязаха единствено тенденции.

В регресионен модел се определи количественото влияние на IMT върху 5-годишната смъртност. Доказа се статистически значима логистична регресия (p=0.036), като нарастването в дебелината на интима-медиа слоя на общата каротидна артерия с 1 мм покачва риска за фатален изход 19.8 пъти.

Накрая бяха изследвани нивата на 9-те биомаркера според реализираната 5-годишна обща смъртност. Сравнителният анализ е представен в **таблица 45**.

	Живи	**Починали**
Цистатин Ц (ng/ml)	654.83±292.78	826.98±327.62
Васпин (ng/ml)	1.08±2.63	0.25±0.33
Тромбоксан А2 (pg/ml)	657.06±173.62	659.27±161.65
Оментин-1 (ng/ml)	593.57±258.61	701.43±308.54
Хемерин (ng/ml)	580.21±144.75	490.01±206.82*
Висфатин (ng/ml)	1.90±1.48	1.67±1.17
Retinol Binding Protein-4 (mg/l)	21.20±21.41	25.50±30.96
Ендотелин-1 (pg/ml)	7.08±5.28	8.81±5.82
Интерлевкин-18 (pg/ml)	341.66±140.64	370.41±141.27

***p<0.05**

Таблица 45. Сравнителен анализ на 9-те биомаркера според настъпила 5-годишна обща смъртност

Установи се статистически значима разлика за нивата на Хемерин между двете групи, като сред починалите изходните му нива бяха по-ниски в сравнение с живите пациенти. Така понижените стойности на Хемерин се асоциираха с по-висока 5-годишна обща смъртност в изследваната популация. За другите биомаркери не се установи сигнификантна разлика в нивата им по този критерий.

ГЛАВА IV. ОБСЪЖДАНЕ

Диабетното стъпало е усложнение с многофакторна обусловеност и разнообразна клинична изява. Въпреки че повечето проучвания по темата са фокусирани върху отделни аспекти на този проблем, диабетното стъпало е обект на мултидисциплинарен подход(287). В представения дисертационен труд е анализирана ролята на определени антропометрични, неврологични, съдови и биохимични фактори в еволюцията на диабетните улцерации. Литературните данни по въпроса за българската популация са изключително оскъдни.

Анализ на антропометричните, лабораторните и диабетните характеристики

Сред анализираната популация със захарен диабет тип 2 хората с диабетни рани на стъпалата бяха по-възрастни, с по-голяма давност на ЗД и с по-голямо процентно съотношение на мъжкия пол, в сравнение с групата без това усложнение. Данните са в потвърждение с други проучвания, при които е докладвано, че споменатите фактори се асоциират с по-висока честота на улцерации и ампутации(29, 288, 289, 290). В нашето изследване се установи, че остаряването с 1 година носи 6% риск, а всяка година живот с диабет – 11% риск за възникване на диабетна рана. Беше идентифицирана прагова стойност ≥ 7 години давност на ЗД с добра чувствителност и специфичност при откриването на хората с диабетно стъпало. Допълнително се доказа, че мъжкият пол увеличава шанса за развитие на улцерация на ходилото над 2 пъти. Напредването на възрастта и давността на диабета са свързани с повече усложнения и коморбидности, намален регенераторен капацитет на тъканите, спад в половите стероиди(291, 292). Преимущественото засягане на мъжете от това усложнение се предполага, че е поради по-ограничената ставна подвижност и по-ниските естрогенови нива при тях(290). Има проучване, в което се докладва, че локалното приложение на естрогенов крем при мишки със захарен диабет ускорява заздравяването на рани и неоваскуларизацията им. Наблюдава се увеличение в броя на рекрутираните от костния мозък колония-

формиращи единици на ендотелни прогениторни и мезенхимни стволови клетки в лезията. Това спомага за по-бързата ѝ регенерация и епителизация(293). В друг животински модел е описано, че селективното блокиране на естрогеновия рецептор бета (ERβ) в мишки с диабет ускорява заздравяването на раните им, а благоприятните ефекти се медиират от алфа рецептора - ERα(291, 294). При захарен диабет се увеличава експресията на ERβ в кожата, като при неговото стимулиране се блокира неоангиогенезата(295). Това се осъществява чрез потискане на HIF-1α (Hypoxia Inducible Factor-1 alfa) от ERβ (последният е свръхактивиран и в диабетните рани)(296). В нашето изследване се установи, че всички жени с диабетни улцерации са в менопауза, което е сигнификантно повече в сравнение с тези без рани (72%). Вероятно съучастие за това има и разликата във възрастта между двете групи, но към момента няма други подобни данни в литературата. От друга страна Kalinchenko и съавтори докладват, че провеждането на тестостерон заместителна терапия при хипогонадни мъже с диабетни улцерации и периферна артериална болест подобрява васкуларизацията, заздравяването и гранулацията на раната, както и гликемичния контрол(297). Изглежда, че хипогонадизмът и при двата пола е неблагоприятен фактор за диабетното стъпало.

При анализа на телесния състав се установи, че хората с диабетни рани имат значимо по-нисък ИТМ и телесно тегло, по-малка обиколка на ханша, както и по-малко общо съдържание на мазнини в тялото, в сравнение с пациентите без улцерации. Свободната от мазнини маса, индексът на висцерална мастна тъкан и метаболитната възраст бяха статистически сходни между двете групи. Увеличаването на телесната маса в контекста на наднорменото тегло и затлъстяването обикновено е асоциирано с множество неблагоприятни здравни ефекти(298). При някои състояния обаче по-високият ИТМ може да бъде протективен и се свързва с по-голяма продължителност на живота. Това се определя като „парадокс на обезитета“, като валидността му при хората с диабетно стъпало е изследвана от редица автори. Pinzur и сътрудници описват, че по-високият ИТМ се свързва с по-голям риск от диабетни рани(299). В друго изследване обаче се докладва J-образна крива на улцеративния риск – както много високият, така и ниският индекс на телесна маса са неблагоприятни(300). Sohn и съавтори посочват, че по-

високият ИТМ се свързва с по-нисък риск за ампутация на долен крайник при хора със захарен диабет(301). При проведен анализ върху преживяемостта на над 1000 пациенти, претърпели операция на диабетно стъпало, е установена по-голяма продължителност на живота при хората с по-висок ИТМ и при такива със съхраняващи крайника малки ампутации. Изказана е хипотезата, че неблагоприятното влияние на по-ниския ИТМ при пациентите с диабетно стъпало би могло да се свърже с намалената им мускулна маса, по-лошия хранителен статус, влошения апетит, по-голямата честотата на инфекциозни усложнения, с несистемен прием на медикаментите за контрол на артериалното налягане и дислипидемията, както и с ефекта на циркулиращи фактори (като тромбоксан и разтворимия тумор-некрозис фактор, които влияят на сърдечно-съдовия риск)(302).

В нашето изследване нарастването на количеството мазнини, телесното тегло и ИТМ се явяваха като значими протективни фактори за диабетно стъпало. Увеличаването с 1 на процентното съотношение на мазнините в тялото намаляваше улцеративния риск с 8%, а на ИТМ – със 7%. Вероятно тези ефекти са свързани не само с пасивните свойства на мастната тъкан, но и с отделяните от нея биологично активни молекули – адипокините. Определената прагова стойност от ≤34% телесни мазнини за разграничаване на хората с диабетно стъпало е със сравнително ниска чувствителност и специфичност (60%), тъй като разпределението на мастната тъкан е индивидуално при всеки човек и този показател не отразява нейния вид (бяла, кафява, бежова).

Допълнително хората с диабетно стъпало имаха значимо по-малък брой компоненти на метаболитния синдром и по-ниски стойности на чернодробни ензими, спрямо тези без това усложнение, което може да е във връзка с разликата в индекса на телесна маса. Не е ясно дали това е част от причините или е следствие на диабетното стъпало. Въпреки „по-благоприятния“ метаболитен фон, по-слабите пациенти са развили в по-голям процент диабетни рани и имат по-висока смъртност. Tuttolomondo и сътрудници определят диабетното стъпало като сърдечно-съдов маркер(226), като те използват понятието адипо-васкуларна ос, за да подчертаят връзката на мастната тъкан със сърдечно-съдовия риск при захарен диабет тип 2. Патогенетичните механизми в това

взаимодействие повлияват възпалението, имунната регулация, тромбообразуването, инсулиновата резистентност, хипергликемията, артериалното налягане, липидния профил, а медиаторите са различните адипокини като интерлевкин-6, резистин и адипонектин(226, 227).

Честотата на диабетна ретинопатия и диабетна нефропатия (оценена чрез албуминурията) беше сигнификантно по-висока при пациентите с диабетно стъпало спрямо останалите хора със ЗД. Това е в съответствие с други проучвания и е израз на сходните пътища в развитието на усложненията(303, 304). По литературни данни терминалната бъбречна недостатъчност на хемодиализно лечение увеличава риск за ампутации до 10 пъти, което се обяснява с напредналите микро- и макросъдови изменения, както и с по-голямата предразположеност към инфекции при тези хора(178, 305). Според системата за стратификация на улцеративния риск от Международната работна група за диабетно стъпало /2019г/ терминалната бъбречна недостатъчност е еквивалент на преживяна язва или ампутация на стъпалото(89). Доказаното сигнификантно прагово ниво на UACR ≥ 1.5 mg/mmol за разпознаване на хората с диабетно стъпало в изследваната при нас популация е 2 пъти по-ниско от критерия за диабетна нефропатия(306). Въпреки сравнително невисоката чувствителност и специфичност на тази стойност, тя е в подкрепа на значимостта на албуминурията и бъбречното увреждане при диабетно стъпало.

При сравнение на двете изследвани групи (с и без ДС) се установи, че те имаха сходен гликемичен контрол, но хората с диабетно стъпало се нуждаеха от повече антидиабетни медикаменти (3.32 спрямо 1.55), като по-голямата част от тях бяха на инсулинолечение (55.9% спрямо 25%). В регресионен модел се определи, че добавянето на 1 лекарство увеличава риска от диабетни рани с 65%. При прагова стойност от ≥ 2.5 хипогликемизиращи лекарства се идентифицират с 65% чувствителност и 79% специфичност хората с диабетно стъпало сред анализираната популация с диабет. Тъй като диабетното стъпало е късно усложнение, наблюдаваната зависимост се свързва с прогресията на захарния диабет и нуждата от интензифициране на терапията във времето. Има данни, че системното инсулинолечение е свързано с по-бързо и по-добро

заздравяване на диабетните рани(307), но не намерихме друга информация за количественото влияние на броя антидиабетни медикаменти върху улцеративния риск.

Пациентите с диабетно стъпало бяха с по-високи стойности на левкоцити и СУЕ спрямо тези без това усложнение, което вероятно е поради по-голямата честота на възпалителните усложнения при хората с рани(308, 309). Има данни, че при инфектирано диабетно стъпало и СУЕ ≥ 70 мм/ч обикновено се касае за остеомиелит(310). В нашето изследване се определи прагова стойност на СУЕ ≥ 15 мм/ч със задоволителна чувствителност и специфичност за идентифициране на пациентите с диабетни рани. Това е значително по-ниско от цитираното ниво при остеомиелит, вероятно поради факта, че при нашия първоначален подбор бяха изключени пациентите с тежки активни инфекции.

В заключение, настоящото проучване показа, че наред с доказаните рискови фактори за диабетно стъпало (като календарна възраст, давност на ЗД, завишени възпалителни маркери, реализирани други усложнения – диабетна нефропатия, диабетна ретинопатия), се установиха и нови предразполагащи състояния като наличието на менопауза, по-ниските ИТМ и количество мазнини в тялото, както и нуждата от прием на повече антидиабетни медикаменти. По-малкият брой компоненти на метаболитния синдром при пациентите с диабетни улцерации може да е част от „парадокса на обезитета“. Иновативно се доказа прагова стойност от ≥ 1.5 mg/mmol за отношението албумин/креатинин в урината, която е предиктивна за хората с диабетно стъпало, но е под диагностичната за диабетна нефропатия. Бяха идентифицирани дискриминативни нива и за други от базисните показатели с добра чувствителност и специфичност при разпознаване на хората с диабетни рани сред изследваната популация.

Анализ на неврологичните изследвания

Анализът на неврологичните фактори в настоящото проучване е разделен в 2 части – оценка на соматичната и на автономната невропатия.

От разгледаните методи за изследване на **соматичната невропатия** се установиха значимо по-високи NDS, MNSI, вибрационен праг и честота на нарушен вибрационен усет сред хората с диабетно стъпало спрямо тези без рани. Допълнително подразделихме групата без диабетно стъпало в 2 подгрупи – пациенти с новодиагностициран захарен диабет тип 2 и такива с многогодишен ЗД и вече установена ДПНП чрез ЕНГ. Стойностите за всички показатели прогресивно нарастваха от групата с новодиагностициран диабет през тази с многогодишен ЗД и ДН до пациентите с диабетно стъпало. Разликите между трите групи бяха сигнификантни за NDS батерията, част Б и общия сбор на MNSI, докато вибротезиометърът и част А от MNSI се оказаха по-ниско специфични. Последните бяха статистически различни само между хората с новооткрит ЗД и останалите 2 групи. Сходната дискриминативна стойност на NDS и част Б от MNSI вероятно е свързана с това, че включените в тях диагностични инструменти са почти идентични. Резултатите са с потвърдителен характер, тъй като предиктивната роля на тези изследвания по отношение на диабетната невропатия и улцеративния риск е анализирана и в предишни студии(43, 64, 65, 72, 73, 79, 311).

Според данните от вибротезиометъра, около 25% от хората с новооткрит ЗД в нашето изследване имаха нарушен вибрационен усет (праг ≥ 25 V) и следователно бяха с рисково стъпало. В литературата се посочва, че от 15 до 25% от хората с новооткрит захарен диабет имат признаци и/или симптоми на диабетна невропатия, като откриваемостта ѝ зависи от чувствителността на диагностичната методика(35, 312, 313). Цитираната сравнително висока честота на ДН в посочената група от нашето изследване вероятно се дължи на това, че е използван чувствителен количествен метод, както и поради факта, че при диагностицирането на ЗД включените индивиди са били с гликемична декомпенсация, наложила хоспитализацията им.

По литературни данни Мичиганският скринингов инструмент за невропатия се използва при търсене на невропатия при хората със ЗД тип 1 и тип 2, като няма единно становище по отношение на патологичната прагова стойност - едни автори посочват общ сбор ≥ 7, а други ≥ 4 точки (314, 315). За NDS е установено, че ≥ 3 точки са диагностични за ДПНП, а ≥ 6 точки – за стъпало с риск за улцерация. За нарушен вибрационният усет най-често се приема праг на сетивност ≥ 25 V, определен с биотезиометър(43, 64, 65, 72, 74, 75, 76, 311).

Направихме ROC-анализ в изследваната популация с цел определяне на прагови стойности за същите показатели, които да разграничават хората с диабетно стъпало сред всички пациенти със ЗД. Получените резултати са сходни с цитираните в литературата, като иновативно беше определена прагова стойност за всяка от двете части на MNSI. С най-голяма площ под кривата беше част от Б от MNSI със стойност ≥ 5 точки, следвана от: NDS ≥ 6 точки, общ сбор MNSI ≥ 10 точки, част А от MNSI ≥ 5 точки и вибрационен праг ≥ 25 V. За последните 2 показателя чувствителността и специфичността бяха по-ниски, но също статистически сигнификантни.

В нашето проучване беше степенувано количественото влияние на всеки от тези показатели върху улцеративния риск, което е иновативно за българската популация. Най-голяма предиктивна стойност имаше NDS, непосредствено следван от част Б на MNSI. Всяка добавена точка при тях удвояваше риска за диабетна рана. Предиктивната стойност на останалите показатели намаляваше в следния ред: част А MNSI – 28%, общ сбор MNSI – 26%, вибротезиометър – 6%.

При разделяне на пациентите според наличието на диабетна ретинопатия се установи, че резултатите от всички използвани методи за оценка на соматичната невропатия са сигнификантно по-високи при хората с диабетна ретинопатия спрямо тези без. Иновативно се определи прагова стойност на NDS ≥ 6, която предсказва риска за развитие на диабетна ретинопатия с висока чувствителност и специфичност. Също така при корелационния анализ NDS беше в значима еднопосочна връзка с отношението албумин/креатинин в урината. Тези данни подкрепят схващането за паралелната

еволюция на микросъдовите усложнения и техните сходни патогенетични механизми(316).

Допълнително в корелационния анализ се установи еднопосочна асоциация на резултатите от изследванията за соматичната невропатия с възрастта на пациентите и давността на диабета. Тези 2 фактора са доказани като рискови за ДН и в предишни изследвания(35, 37, 38, 39, 40). По-дългата експозиция на увреждащи фактори, акселерацията на дегенеративния синдром в хода на захарния диабет, нарушенията в метаболизма на нервната клетка и забавения аксонален транспорт са само част от причините за наблюдаваните неврологични изменения във времето(39).

Артериалната хипертония е доказан рисков фактор за диабетна невропатия и се асоциира с промени в ЕНГ, повишен вибрационен праг, намалена дължина и гъстота на корнеалните нерви(40). Има данни, че приложението на АСЕ-инхибитори може да подобри нервната проводимост при хората със захарен диабет(317). Високото кръвно налягане уврежда невроните както директно, така и чрез засягане на Швановите клетки и кръвоносните съдове(318). Намери се подобна зависимост и в настоящето изследване. При подразделяне на пациентите според наличието на артериална хипертония се доказа сигнификантно по-висок брой точки на NDS в групата с високо артериално налягане спрямо тази с нормално. Беше определена нова прагова стойност на NDS $\geq$ 4, идентифицираща пациентите с артериална хипертония сред анализираната популация. При другите използвани неврологични изследвания също имаше тенденция за по-високи стойности сред хипертониците, но те не достигнаха статистическа значимост.

В заключение установихме, че в нашето изследване използваните методи за оценка на соматичната невропатия имат дискриминативна и предиктивна стойност по отношение на диабетните улцерации, но NDS и MNSI (част Б и общ сбор) бяха най-селективни. За първи път се оцени количественото влияние на всеки от показателите върху риска от развитие на диабетно стъпало при българска популация. Иновативно се определиха прагови стойности за двата компонента на MNSI поотделно, отличаващи пациентите с диабетно стъпало сред лицата със ЗД. Установи се, че ¼ от включените хоспитализирани български

пациенти с новооткрит ЗД вече имат нарушен вибрационен усет. Доказаха се за първи път прагови стойности на NDS, които предсказват риска от диабетна ретинопатия и артериална хипертония с висока чувствителност и специфичност.

Автономната судомоторна дисфункция при хората със захарен диабет често е подценявана и не се диагностицира в ежедневната клинична практика, но тя има съществено влияние при възникването и еволюцията на диабетното стъпало(48, 64). В нашето проучване судомоторната невропатия беше изследвана количествено чрез автоматизирания апарат Судоскан. Това е сравнително нов метод, като ролята му при хора с диабетни рани е слабо проучена. Бяха разгледани различията в електрохимичната кожна проводимост на крайниците, процентната асиметрия между дясна и лява страна, както и рискът за кардиална автономна невропатия.

Сред включените в настоящия анализ лица тези с диабетно стъпало имаха по-ниска ЕКП на дланите и стъпалата, сравнено с хората без това усложнение. Процентната асиметрия в проводимостта на ръцете и краката, както и рискът от кардиална автономна невропатия бяха значимо по-високи при пациентите с диабетни рани. Нервните влакна, инервиращи екринните потни жлези на дланите и стъпалата, са тънки, немиелинизирани, тип С. По правило те се засягат рано в хода на невропатния процес, като има данни, че между 5% и 30% от хората с предиабет имат судомоторна невропатия(49, 319). За разлика от повечето утвърдени методи за изследване на ДН, Судоскан има преимуществото да оценява състоянието на тънките автономни нервни влакна. Предвид на това, че диабетното стъпало е късно усложнение на ЗД и за да оценим ролята на различните Судоскан параметри в еволюцията на диабетните улцерации включихме група с предиабет към тази част на проучването. Хората със захарен диабет без диабетно стъпало отново подразделихме в 2 подгрупи (както при анализа на соматичната невропатия). При така получените 4 групи се установиха следните закономерности за судомоторните параметри. В своеобразния континуум предиабет, новооткрит ЗД, многогодишен ЗД с налична ДН, диабетно стъпало се запази тенденцията за намаляване на ЕКП на крайниците и увеличаване на асиметрията в

проводимостта им, както и нарастване на риска за кардио-автономна невропатия. За да се анализира чувствителността на всеки показател се акцентира върху етапите, на които настъпват първите статистически значими различия между групите:

1. На прехода предиабет/новодиагностициран ЗД – ЕКП на стъпалата, асиметрия на стъпалата и риск за кардио-автономна невропатия
2. На прехода новодиагностициран ЗД/многогодишен ЗД с ДН – асиметрия на дланите
3. На прехода многогодишен ЗД с ДН/диабетно стъпало – ЕКП на дланите.

От изброените показатели с по-голямо значение при диабетното стъпало се доказаха ЕКП на стъпалата и асиметрията в проводимостта им, тъй като техните стойности се различаваха също между хората с диабетни рани и групата с многогодишен ЗД и ДН. ЕКП на дланите се прояви като късен маркер, но от друга страна селективен за лицата с диабетни рани. Рискът за кардиална невропатия беше сходен между трите групи с диабет, което определи значението му в нашето изследване като параметър, отличаващ пациентите с предиабет от тези със захарен диабет.

Ролята на Судоскан в диагностиката на периферната диабетна невропатия и при определяне на риска за кардиална автономна невропатия е доказана в предишни проучвания(68, 69, 70, 71, 320). Методът е с особена полза при откриването на ранните безсимптомни форми на диабетна невропатия(321). При изследване, проведено в Германия, Судоскан е използван като средство за оценка на невропатията на тънките влакна. Докладвано е, че при хората на интензифициран инсулинов режим се наблюдава подобрение в ЕКП на дланите и стъпалата в хода на инсулинолечението, а при тези на неинсулиново лечение – влошаване на Судоскан параметрите. Също така проводимостта на ръцете и краката е била значимо по-ниска при индивидите със захарен диабет тип 2, спрямо тази при лицата с тип 1(322). Други изследвания посочват, че ЕКП на стъпалата има предиктивна стойност по отношение на улцеративния риск при хората със ЗД, както и че асиметрията в проводимостта на ходилата се асоциира с наличието на диабетната невропатия(70, 71). Но ролята на

Судоскан асиметрията на стъпалата като дискриминативен и предиктивен фактор при диабетно стъпало е докладвана за първи път от нашия колектив(50). Тъй като диабетните рани обикновено се появяват асиметрично по ходилата, то този Судоскан показател може да е свързан с наблюдаваната латерализация. Судомоторната дисфункция на крайниците води до намалено овлажняване и еластицитет на кожата, което я прави суха и къслива. Създават се условия за образуване на фисури, които могат да станат входна врата за патогенни микроорганизми. Увеличава се рискът за възникване на рани и инфекции на дълбоките тъкани. Намалената функция на потните и мастните жлези е свързана също със забавено зарастване на улцерациите(64).

В нашето изследване за първи път се направи оценка на количественото влияние и предиктивната стойност на отделните Судоскан параметри по отношение на диабетното стъпало. С най-голямо значение се доказа асиметрията на стъпалата, като нарастването ѝ с единица увеличава риска за възникване на рана с 11%. Показателят за кардиална автономна невропатия е свързан с 6% увеличение на вероятността за възникване на диабетно стъпало, а асиметрията на дланите – с 5%. По-високите стойности на ЕКП на стъпалата и дланите се доказаха като протективни фактори, съответно с 6% и 5% редукция на улцеративния риск.

Иновативно се определиха прагови стойности от ≥ 7.5 % асиметрия на стъпалата и ≤ 65 μS ЕКП на ходилата, които предсказват възникването на диабетно стъпало с висока чувствителност и специфичност.

При корелационен анализ се доказа връзка на Судоскан параметрите с резултатите от NDS, вибротезиометъра и MNSI. Най-силна асоциация се установи на тестовете за соматична невропатия с ЕКП и асиметрията на стъпалата. Вибротезиометърът и общият сбор от MNSI бяха в разнопосочна връзка с ЕКП на дланите, а NDS и MNSI – в еднопосочна с риска от кардиална автономна невропатия. Аналогични резултати са докладвани в китайска студия, включваща близо 400 лица и анализираща връзката на Судоскан с други методи за оценка на ДН при ЗД тип 2(321). В допълнение асиметрията на ходилата корелираше еднопосочно с възрастта на пациентите, давността на диабета и гликирания хемоглобин. Тези резултати са с потвърдителен

характер, тъй като посочените фактори са с доказано значение при прогресията на диабетната полиневропатия(323).

В заключение, при настоящето проучване се анализира за първи път ролята на всички Судоскан параметри в континиума от предиабет през новодиагностициран ЗД, многогодишен ЗД с ДН до диабетно стъпало. С водеща дискриминативна и предиктивна стойност за улцеративния риск се доказа асиметрията в проводимостта на стъпалата. Бяха определени прагови стойности на Судоскан показателите за отличаване на хората с диабетно стъпало сред изследваната популация, както и количественото им влияние върху вероятността за възникване на диабетни рани.

Анализ на съдовите фактори

Периферната артериална болест е ключов рисков фактор при диабетно стъпало, свързан с по-висока честота на ампутации и смъртност(4, 75, 90, 93). При оценката ѝ в нашето изследване използвахме индексите глезен/мишница и палец/мишница. Допълнително анализирахме съдовия риск чрез показателите дебелината на интима-медиа слоя на общата каротидна артерия, честота на каротидните плаки, CAVI-базирани артериална ригидност и съдова възраст.

Сред пациентите с диабетно стъпало индексите за оценка на кръвотока в долните крайници бяха значимо по-ниски и респективно честотата на ПАБ беше по-висока в сравнение с диабетиците без това усложнение. Според ИГМ - 60%, а според ИПМ - 90%, от включените лица с диабетни рани имаха някаква форма на артериална недостатъчност. По литературни данни при използване на ИГМ при около 50% от хората с диабетно стъпало се доказва ПАБ(95). Установеното по-високо ниво в нашето изследване може да е свързано с нарастващата честотата на сърдечно-съдовите заболявания и липсата на актуални данни от голямо проучване по темата(92). Очертаната тенденция предполага, че значението на исхемичната компонента при диабетно стъпало ще нараства спрямо невропатната, превръщайки диабетното стъпало

в предимно сърдечно-съдово заболяване. Някои автори предлагат дори диабетното стъпало с и без периферна артериална болест да се разглеждат като отделни състояния, тъй като те имат различни предиктори за заздравяване на раните и предполагат различен клиничен подход (324).

В нашето изследване сред хората със захарен диабет индексът палец/мишница се доказа като по-чувствителния показател за откриване на ПАБ. Това е установено и в други проучвания и се предполага, че е свързано с това, че ИПМ се влияе по-малко от медиокалцинозата на артериалната стена(325, 326). ИПМ също така корелира в по-голяма степен с албуминурията и гломерулната филтрация при ЗД, сравнено с ИГМ(327). В шведски анализ се докладва, че сред пациенти със захарен диабет тип 2 без диабетни рани 22% имат патологична стойност на ИПМ(325), което е съпоставимо с нашите данни.

При ROC-анализ ИПМ имаше по-голям площ под кривата от ИГМ. За първи път се определи прагова стойност на ИПМ $\leq$ 0.57 с висока чувствителност и специфичност при идентифициране на пациентите с диабетно стъпало. Очаквано тя е по-ниска от прага за ПАБ, тъй като тъканната деструкция на стъпалата е характерна за напредналите стадий на артериална недостатъчност. За ИГМ също се намери сигнификантна прагова стойност за диабетно стъпало $\leq$ 1.03. Тя беше по-висока от утвърдения критерий за ПАБ, но с по-ниска чувствителност и специфичност. Това може да е поради факта, че както стойности под <0.9, така и >1.3 са патологични, което допълнително разсейва дискриминативната способност на метода.

В поданализ на нашето проучване се установи, че хората с патологични стойности на ИГМ са в по-голям процент мъже, по-често са с нарушен вибрационен усет и имат 3 пъти по-висока честота на диабетна нефропатия, спрямо тези с нормални стойности на индекса. Нямаше съществена разлика в честотата на метаболитния синдром според категорията на ИГМ. Половите различия могат да се дължат на това, че сърдечно-съдовите събития при жените настъпват средно около 10 години по-късно, отколкото при мъжете(328), а средната възраст на включените пациенти попадаше в диапазона на проява на тази разлика. Също така по-голямата част от хората с диабетно стъпало в

нашето проучване бяха мъже и те имаха по-често отклонения в ИГМ. Другите 2 зависимости показват връзката между ПАБ и микросъдовите усложнения. Албуминурията е доказан сърдечно-съдов фактор при хората със захарен диабет, като наличието ѝ е признак на ендотелна дисфункция, хронично нискостепенно възпаление и повишена екстравазация на макромолекули през капилярната мрежа(329). Има данни, че при съчетанието на микро- и макросъдова болест, честотата на ампутациите значимо нараства, което е ключово за хората с диабетни рани(330).

Дебелината на интима-медиа слоя на общата каротидна артерия и процентът плаки в нея бяха значимо по-големи сред пациентите с диабетни рани, в сравнение с тези без. Според съвременните препоръки при определяне на сърдечно-съдовия риск фокусът се поставя върху наличието и площта на плаки в каротидната артерия, а не върху дебелината на вътрешния ѝ слой(283). Има проучване, което доказва, че при хора с диабетно стъпало интима-медиа слоят и плаките на каротидната артерия могат да се ползват като сурогатен маркер за периферна артериална болест(284). В нашето изследване тези параметри имаха силна предиктивна стойност по отношение на диабетното стъпало, като само наличието на каротидна плака увеличаваше улцеративния риск над 11 пъти.

Допълнително при подразделяне на изследваните лица според наличието на каротидни плаки се установи сходно полово разпределение. Артериалната хипертония е доказан сърдечно-съдов рисков фактор, като наличието ѝ в комбинация със захарен диабет тип 2 беше свързано със сигнификантно по-голям процент каротидни плаки при изследваните лица. Тези наблюдения са потвърдени и в други студии, подчертаващи преципитиращия ефект на ЗД върху развитието на атеросклерозата(331). Установи се връзка също с микросъдовите усложнения, като пациентите с каротидни плаки имаха 4 пъти по-висока честота на диабетна ретинопатия. Асоциацията ѝ с плаките на каротидната артерия е подробно анализирана в актуален обзор, който заключва, че при наличие на диабетна ретинопатия засегнатото лице би следвало да се скринира активно за каротидна болест и обратното(332).

Последният аспект от съдовите фактори, който беше разгледан, е артериалната ригидност, определена чрез CAVI. Сред изследваните лица с диабетни рани CAVI индексът беше значимо по-висок спрямо хората без това усложнение. Автоматично изчислената съдова възраст показа тенденция към по-високи стойности при пациентите с улцерации, но разликата с другата група не достигна статистическа значимост. Има изследване, в което се съобщава, че артериалната ригидност и ендотелната дисфункция са независими предиктори за диабетно стъпало, но в този анализ е използван така наречения Augmentation Index, който се влияе от артериалното налягане(333). В други студии е доказана корелацията на CAVI с показатели за периферна невропатия, артериална недостатъчност и макроваскуларен риск(137, 138). Но данни за ролята на CAVI при диабетно стъпало се докладват за първи път в настоящото изследване. Връзката на този показател с улцеративния риск е още едно доказателство за нарастващата роля на съдовите фактори при диабетното стъпало.

При корелационния анализ се демонстрира асоциацията на съдовите фактори както помежду им, така и с антропометрични, лабораторни и неврологични показатели. Възпалителните маркери (левкоцитен брой и/или СУЕ) корелираха с всички съдови изследвания, което вероятно е свързано с хроничното нискостепенно възпаление, участващо в патогенезата на атеросклерозата(334). От показателите за ПАБ направи впечатление, че ИПМ се асоцииране с много повече количествени параметри в сравнение с ИГМ, което го утвърждава като по-чувствителен показател в нашето проучване. CAVI беше в обратна корелация с ИТМ. В голяма японска студия е докладвана подобна асоциация при здрави лица, като е предположено, че натрупването на мастна тъкан води да намаляване на артериалната ригидност(335). При хора със захарен диабет такава зависимост не е публикувана, като вероятно тя също е част от така наречения „парадокс на обезитета“. В друго японско проучване се докладва пък покачване на CAVI след редукция на теглото, като авторите приемат, че зависимостта е свързана предимно с намаляването на висцералната мастна тъкан(336). Това предполага, че не ИТМ, а по-скоро телесният състав е фактор при артериалната ригидност. В нашето проучване се намери също еднопосочна корелация на CAVI с дебелината на каротидната интима-медиа, което демонстрира връзката между

морфологичните и функционалните съдови параметри. Подобна закономерност е докладвана в литературата, но при пациенти на хрониохемодиализа без захарен диабет(337). При изследваната популация бяха установени корелации на съдовите фактори и с изследванията за соматична и автономна невропатия. Най-много асоциации се доказаха за дебелината на интима-медиа слоя, ИПМ и CAVI, което е пример за тясната връзка между микро- и макросъдовия дегенеративен синдром.

Обобщено, в тази част на проучването са представени актуални данни за честотата на ПАБ според ИГМ и ИПМ в българска популация пациенти с диабетно стъпало. ИПМ се доказа като по-чувствителния показател и иновативно се определи негово прагово ниво с висока чувствителност и специфичност при идентифициране на хората с диабетно стъпало. Доказа се предиктивната стойност на изследваните каротидни параметри и количественото им влияние върху улцеративния риск. Иновативно се представи ролята на CAVI като сигнификантен параметър при хората с диабетни рани. Изложените данни в корелационния анализ са в подкрепа на зараждащата се идея за първостепенното значение на съдовите фактори в патогенезата на диабетното стъпало(226, 338) и са сериозен аргумент за отнасянето му към категорията на сърдечно-съдовите заболявания.

Анализ на резултатите от изследваните биомаркери

Търсенето на надеждни биомаркери за предсказване и ранно откриване на диабетното стъпало е обект на голям научен интерес, но все още има множество неизяснени фактори(339, 340). По-задълбоченото им изследване е оправдано поради голямото значение на първичната профилактика при това усложнение.

При анализа на първите 3 биомаркера (Цистатин Ц, Васпин и Тромбоксан А2) в нашето проучване не установихме сигнификантна разлика между хората без и с диабетно стъпало. Но при подразделяне на пациентите според давността на диабета и наличието на усложнения се доказа значимо по-високо ниво на **Цистатин Ц** сред лицата с усложнен многогодишен ЗД тип 2 спрямо тези с новооткрит диабет. Има данни в литературата, че Цистатин Ц може да се използва като ранен маркер за диабетна нефропатия, тъй като отразява както намалението на гломерулната филтрация, така и покачването на албуминурията(341). Високите нива на този маркер се свързват също с повишен риск за диабетно стъпало и по-трудно зарастване на раните(195). Определената прагова стойност на Цистатин Ц за диференциране на хората с усложнен ЗД в изследваната популация имаше сравнително ниски чувствителност и специфичност. Установи се корелация на този маркер с дебелината на интима-медиа слоя на каротидната артерия. Това вероятно е свързано с доказаната роля на Цистатин Ц като предиктивен фактор при сърдечно-съдови заболявания(194, 342). Намерените еднопосочни асоциации на биомаркера с възрастта, давността на диабета, ИТМ и Судоскан асиметрията на дланите потвърждават резултатите на други проучвания(343, 344, 345, 346).

По отношение на **Васпин** се доказа значимо по-ниско ниво сред изследваните лица с артериална хипертония, спрямо тези без. Резултатът е с потвърдителен характер, като е установено, че този маркер е свързан с намаляване на периферното съдово ремоделиране чрез вероятните му антиоксидантни и противовъзпалителни свойства(347). Има и други студии, определящи протективните сърдечно-съдови

ефекти на Васпина – при каротидни стенози, исхемична болест на сърцето, остър инсулт(263, 265, 266).

При изследването на останалите 6 биомаркера (Оментин-1, Хемерин, Висфатин, Retinol Binding Protein-4, Ендотелин-1, Интерлевкин-18) се установиха сигнификантни разлики за 3 от тях между хората без и с диабетно стъпало: индивидите с диабетни рани имаха по-високи нива на Оментин-1 и Ендотелин-1, както и по-ниски на Хемерин спрямо тези без това усложнение.

По отношение на **Хемерин** не намерихме друго изследване в литературата, което да анализира връзката му с диабетното стъпало. Разликите между двете групи по този показател останаха сигнификантни и след елиминиране на влиянието от потенциалните интерфериращи фактори. Установено е, че по-високите нива на този адипокин се асоциират с по-голяма честота на диабетна нефропатия и ретинопатия(252). Повишени стойности на Хемерин са докладвани и при хора със затлъстяване и при такива с новооткрит захарен диабет спрямо контроли(247, 248). Повечето публикувани данни за този маркер сочат, че високите му нива са свързани с неблагоприятни ефекти. Установената от нас зависимост при диабетно стъпало е в подкрепа на това, че вероятно кривата на здравния риск е J-образна, като понижените стойности също са рискови. Предполагаемите механизми, които свързват Хемерина с наблюдаваните асоциации, се реализират чрез участието му в имунната регулация и възпалението(242). Тяхната дисфункция е ключова в патогенезата на диабетното стъпало.

Данните за **Оментин-1** при диабетно стъпало също са иновативни и не са докладвани до момента в друг анализ. Този адипокин се секретира предимно от висцералната мастна тъкан и повечето проучвания го определят като протективен за развитието на атеросклероза(235). В голям международен метаанализ са докладвани по-ниски нива на Оментин-1 при лица с гестационен диабет и ЗД тип 2, сравнено с такива без въглехидратни нарушения(348). Предполага се, че тази молекула има инсулино-очувствяващи свойства(229). В нашето проучване, отчитайки произхода на адипокина, установихме, че изследваните групи не се различаваха по биоимпедансно определения индекс на висцерална мастна тъкан. Въпреки по-ниските ИТМ и общо количество

мазнини при хората с диабетни рани, те имаха значимо по-високи нива на Оментин-1 в серума. Допълнително той се доказа като предиктивен фактор по отношение на улцеративния риск. Тези факти са в подкрепа на потенциалната патогенетична роля на Оментин-1 при диабетно стъпало. Niersmann и съавтори докладват, че високите нива на този маркер се свързват с повишен сърдечно-съдов риск при хора със ЗД (238), което е в подкрепа на наблюденията ни за ролята на съдовите фактори при диабетното стъпало. В тази връзка при допълнителен анализ доказахме значимо по-високи нива на Оментин-1 при хората с каротидни плаки, както и при тези с патологични стойности на ИПМ (TBI), сравнено с лицата съответно без плаки и без ПАБ. Проучване, проведено в Южна Корея пък докладва, че хората с плаки в каротидните артерии имат по-ниски серумни стойности на Оментин-1, но не всички включени лица са били със ЗД, както и не е имало хора с диабетни рани(235). Следователно появата на улцерации при хора с диабет може да е свързано с диаметрална промяна в нивата на адипокина. Данните за асоциацията му с ИПМ се докладват за първи път. В нашето изследване установихме също връзка между серумните концентрации на Оментин-1 и микросъдовите усложнения. Пациентите с диабетна нефропатия и диабетна ретинопатия имаха по-високи нива на този биомаркер, сравнено с лицата без споменатите усложнения. Анализираният адипокин също така корелираше еднопосочно със Судоскан-изчисления риск за кардиална автономна невропатия и разнопосочно с ЕКП на дланите. По литературни данни са докладвани по-ниски нива на Оментин-1 при немска популация пациенти с диабетна сензо-моторна полиневропатия, но отново не са били включени лица с диабетно стъпало(241). Нашият извод е, че високите нива на Оментин-1 имат отношение както към макро-, така и към микросъдовите усложнения при изследваните лица със захарен диабет.

Ендотелин-1 (ET-1) не спада към групата на адипокините, а е мощен локален вазоконстриктор(207). Все повече проучвания намират различни корелации със системните му нива, но нашето изследване е първото със значими резултати в областта на диабетното стъпало. Освен доказаните по-високи нива в групата с диабетни рани спрямо тази без, определихме и значима прагова стойност на биомаркера при идентифицирането на лицата с това усложнение сред изследваната популация (≥5.5

pg/ml). От всички изследвани биомаркери Ендотелин-1 имаше най-силно и значимо количествено влияние върху улцеративния риск. Всяко негово увеличение с 1 pg/ml беше свързано с 27% по-висока вероятност за развитие на диабетна рана. В допълнителен анализ се доказаха по-високи нива на ЕТ-1 сред пациентите с патологични стойности на ИПМ (TBI) и сред тези с каротидни плаки, в сравнение с хората без тези отклонения. Установените резултати са в съответствие с публикувани данни, сочещи повишени концентрации на анализирания биомаркер при периферна артериална болест и при хора с риск от инсулт(212, 349). Ендотелин-1 имаше връзка и с микросъдовите усложнения – неговите нива бяха по-високи при лицата с диабетна ретинопатия спрямо тези без това усложнение. Биомаркерът също така беше в значима права корелация с левкоцитния брой, NDS, Судоскан асиметрията на стъпалата и CAVI-базираната съдова възраст, както и в обратна с – ЕКП на стъпалата и ИГМ. Ролята на този вазоконстриктор при диабетната микроангиопатия е анализирана и в предишни студии, като се предполага, че той засилва ендотелната дисфункция, инсулиновата резистентност, оксидативния стрес, цитокиновата продукция, клетъчната пролиферация и апоптоза(208, 213, 350). Асоциацията на изследвания показател с възпалителните маркери може да е свързана с хроничното нискостепенно възпаление при атерогенезата. Като цяло представените данни за ЕТ-1 в нашето изследване са вероятно част от биохимичното измерение на установената висока честота на периферна макро- и микросъдова болест сред хората с диабетно стъпало.

При другите включени биомаркери не се намериха значими разлики според наличието на диабетно стъпало, но част от тях бяха асоциирани с диабетните усложнения, имащи отношение към улцеративния риск. С най-много сигнификантни зависимости беше **Интерлевкин-18 (IL-18)**. Някои автори условно го класифицират към групата на адипокините, тъй като част от циркулиращата му фракция се произвежда в мастната тъкан. На него се приписват предимно проатерогенни свойства(351, 352). В нашето изследване този биомаркер беше по-висок при хората с диабетна нефропатия спрямо тези без, което е в съответствие с публикувани данни, доказващи връзката му с прогресията на това диабетно усложнение(205, 353). Позитивната корелация между IL-18 и Цистатин Ц в нашето проучване е в подкрепа на тези наблюдения. При пациентите

с нарушен вибрационен усет нивата на IL-18 също бяха завишени спрямо лицата със запазен праг на сетивност, което вероятно е свързано с паралелното развитие на микросъдовите увреждания. Намерената асоциация с аспект на диабетната невропатия (нарушен вибрационен усет) е нова информация за този биомаркер. Доказа се връзката му и с макросъдовите фактори – IL-18 беше в относително високи концентрации сред пациентите с патологични стойности на ИГМ и също така корелираше позитивно с дебелината на интима-медиа слоя на общата каротидна артерия. В предишни студии е докладвана ролята му при прогресията на атеросклерозата сред хората с повишен сърдечно-съдов риск(202, 203). Наличните до момента данни са основание за по-задълбочено и обширно изследване на този маркер в бъдещи проучвания.

Retinol Binding Protein-4 (RBP-4) е адипокин, за който установихме повишени нива сред включените пациенти с патологична стойност на ИПМ (TBI), спрямо тези с нормални нива. Повечето публикувани студии за RBP-4 описват връзката му с инсулиновата резистентност и риска от въглехидратни нарушения (274, 275, 354). Има данни също, че води до ускорено развитие на атеросклерозата и серумните му концентрации са по-високи при хора с коронарна болест(279, 280). Асоциацията на RBP-4 с периферната артериална болест се докладва за първи път в нашето изследване.

Установените по-високи нива на адипокина **Висфатин** при изследваните лица с метаболитен синдром е в потвърждение с предишни проучвания по темата, които доказват ролята му при развитието на инсулинова резистентност, затлъстяване и захарен диабет тип 2(253, 255).

В заключение, установи се сигнификантно по-висока стойност на Цистатин Ц сред хората с усложнен многогодишен ЗД, спрямо лицата с новооткрит захарен диабет. За първи път се доказаха различни нива на Хемерин, Оментин-1 и Ендотелин-1 според наличието на диабетно стъпало. Допълнително за Оментин-1 и Ендотелин-1 се разкри ролята им като значими фактори при макро- и микросъдовите усложнения. Асоциацията на Оментин-1 с ПАБ се установява за първи път в нашето изследване. ЕТ-1 имаше най-силно количествено влияние и предиктивна стойност за улцеративния риск от всички анализирани биомаркери, като за него

се определи и значима прагова стойност по този показател (≥5.5 pg/ml). За някои от другите адипокини се докладваха иновативни асоциации: на IL-18 с нарушения вибрационен усет и на RBP-4 с ПАБ. Биохимичните фактори, имащи отношение към съдовия риск, бяха най-силно свързани с развитието на диабетно стъпало.

Анализ на проспективното проучване

В обсервационното проучване бяха проследени по-голямата част от включените лица със захарен диабет по отношение на настъпилата 5-годишна обща смъртност. Установи се, че **процентът починали пациенти в групата с диабетно стъпало (36.4%) е над 3 пъти по-висок, спрямо този при хората без това усложнение (10.26%)**. Разликата беше силно сигнификантна. По литературни данни 5-годишната смъртност при лицата с диабетни улцерации варира от 24 до 44% според площта на раната, наличието на ПАБ, периферна невропатия, инфекция, анамнеза за преживяна ампутация(18, 355). Хората с исхемични рани имат по-висока смъртност спрямо тези с невропатни или невро-исхемични(19). Нашите данни са съответни на докладваните в литературата, като голяма част от включените лица имаха периферна артериална болест**.** Това е поредното доказателство за ключовото ѝ значение за прогнозата на раната, крайника и живота на засегнатия човек. Предвид на представените данни за съдовия статус при хората с диабетно стъпало и това, че повечето пациенти със ЗД умират от миокарден инфаркт или мозъчен инсулт(356, 357), вероятно смъртността в нашето изследване се припокрива в голяма степен със сърдечно-съдовата смъртност.

В последващите анализи проследените лица бяха разделени според настъпилата 5-годишна обща смъртност. При сравняване на базисните характеристики очаквано се установи, че починалите лица са били по-възрастни и с по-голяма давност на захарния диабет, в сравнение с преживелите. Тези фактори, наред с мъжкия пол, тютюнопушенето и хроничното бъбречно заболяване, са доказани предиктори за смъртност при захарен диабет(358, 359). Тенденцията за половото различие между

двете групи се набеляза и в нашето проучване, но не достигна статистическа значимост. Починалите лица имаха 2 пъти по-висока честота на диабетна нефропатия и 2.5 пъти по-висока честотата на ретинопатия при изходното изследване, сравнено с преживелите пациенти. Установи се, че наличието на всяко от тези две усложнения увеличава риска за смъртност над 5 пъти, като водещо значение имаше нефропатията. Тези резултати също са с потвърдителен характер и показват общите механизми в развитието на микро- и макросъдовата болест(360, 361).

Наред с другите микросъдови усложнения диабетната невропатия също се асоцииращe с по-висока смъртност. Направи впечатление, че повечето от използваните неврологични методи за изследване (вибротезиометър, общ сбор на MNSI, ЕКП на длани и стъпала, Судоскан асиметрия на стъпалата и риск за кардиална автономна невропатия) при изходната оценка имаха сигнификантно по-патологични стойности сред починалите лица, спрямо живите. Вероятно наблюдаваната закономерност се дължи на общите рискови фактори между микро-, макросъдовите усложнения и по-ранната смърт при ЗД – напреднала възраст, голяма давност на диабета, лош гликемичен контрол, артериална хипертония, дислипидемия, албуминурия(40). В различни студии е доказано, че наличието и влошаването на диабетната невропатия при хората със ЗД тип 2 е свързано с по-висока смъртност(362, 363, 364). Повечето публикации по темата сочат, че по отношение продължителността на живота най-голямо значение има кардиалната автономна невропатия, оценена чрез вариабилността на сърдечната честота, RR-интервала, QT-дисперсията, QT-интервала(365, 366). Тази форма на невропатия е асоциирана с по-висока честотата на внезапна сърдечна смърт(367). **Но не намерихме други данни съпоставящи изследваните от нас неврологични показатели с 5-годишната обща смъртност**. Също така, **иновативно направихме количествено степенуване на влиянието от изброените методи върху поставената крайна точка**. Всички стойности бяха сигнификантни, като **най-силен ефект имаше нарушеният вибрационен усет (праг на сетивност ≥ 25 V), който се свързваше с над 5 пъти по-висок риск за смърт**. За изследваните показатели се определиха и сигнификантни прагови стойности, предсказващи 5-годишната обща

смъртност, като те бяха очаквано по-патологични от тези при идентифициране на вероятността от диабетна улцерация:

- Судоскан асиметрията на стъпалата ≥ 8.5 % (спрямо ≥ 7.5 % за улцеративен риск)
- Биотезиометър - вибрационен праг ≥ 29 V (спрямо ≥ 25 V за улцеративен риск)
- ЕКП на дланите ≤ 42μS (спрямо ≤49 μS за улцеративен риск)
- ЕКП на стъпалата ≤ 62μS (спрямо ≤65 μS за улцеративен риск)

Последните 2 стойности бяха със сравнително ниска специфичност, но направи впечатление, че в регресионния модел ЕКП на дланите е с по-силно количествено влияние върху 5-годишната обща смъртност спрямо ЕКП на стъпалата. При улцеративния риск е обратното. Като цяло, Судоскан параметрите на ръцете (ЕКП и асиметрия) са с потенциал за по-задълбочени изследвания в насока търсене на неразкрити асоциации със захарния диабет и неговите усложнения.

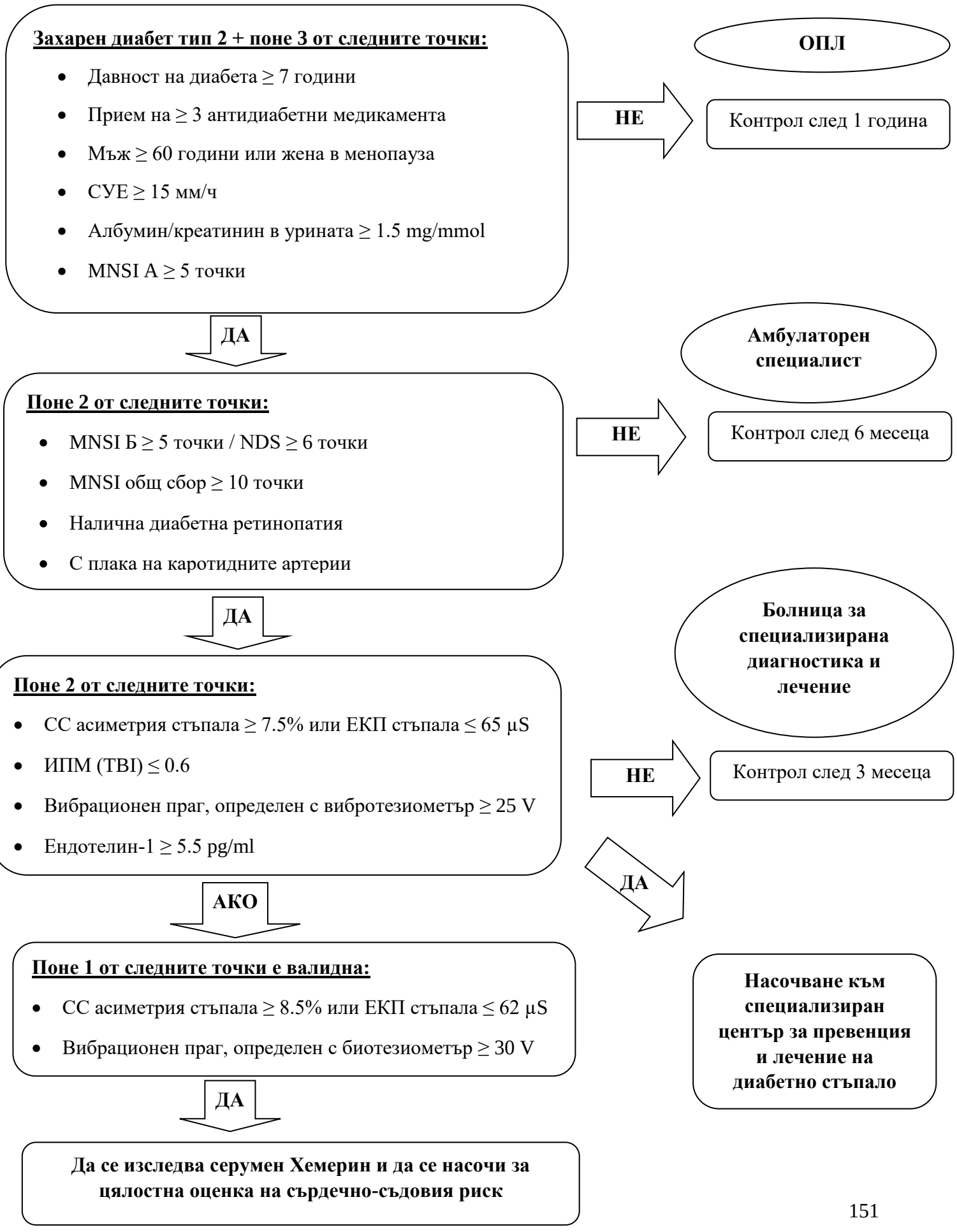
При сравняване на резултатите от съдовите изследвания се установи сигнификантна разлика единствено за дебелината на интима-медиа слоя (IMT) на общата каротидна артерия. Тя беше по-висока при починалите лица спрямо преживелите. Това е установено и в предишни проучвания, които докладват, че този параметър се асоциира с повишена обща и сърдечно-съдова смъртност(368, 369). Допълнително в нашето изследване се доказа, че по-голямата дебелина на IMT се свърза с до 20 пъти по-висок риск за 5-годишна обща смъртност (спрямо 11.5 пъти при определяне на улцеративния риск). Въпреки че фокусът на актуалните международни кардиологични препоръки е върху площта и наличието на каротидни плаки, изглежда, че при захарен диабет IMT е също важен показател с голяма дискриминативна и предиктивна стойност.

По литературни данни при хора без и със захарен диабет и патологични стойности на ИГМ (ABI) и ИПМ (TBI) се наблюдава по-висока сърдечно-съдова смъртност спрямо лицата с нормални стойности по тези показатели(370). В проведения от нас анализ се потвърди тази тенденция, но тя не достигна статистическа значимост.

Анализът на биомаркерите по отношение на смъртността доказа, че **починалите пациенти са имали значимо по-ниски изходни стойности на Хемерин спрямо живите**. Тези данни се докладват за първи път в литературата и предполагат участието на този адипокин не само в патогенезата на диабетното стъпало, но и при 5-годишната обща смъртност на хората със ЗД. Средните нивата на Хемерин в нашето проучване са още по-ниски спрямо тези при лицата с диабетни рани, което предполага линейна зависимост между серумната концентрация на този биомаркер и здравния риск. В съответствие с нашите резултати е немско проучване, което установява, че ниските нива на Хемерин (<87 ng/ml) при хора с чернодробна цироза се свързват с повишена смъртност и по-честа нужда от чернодробна трансплантация(371). Но при популация със захарен диабет не е провеждан подобен анализ.

В заключение, при нашето лонгитудинално изследване освен потвърдителните резултати, имаше и иновативни приноси като връзката на неврологичните изследвания с 5-годишната обща смъртност, определяне на количественото им влияние в това събитие и посочване на значими техни прагови стойности. Асоциацията на по-ниските нива на Хемерин със смъртността може да бъде основа за бъдещи проучвания, с цел внедряването на този биомаркер като ранен рисков показател при хората със захарен диабет тип 2.

На база всички изложени по-горе резултати изготвихме комплексен клиничен алгоритъм за подпомагане на лекуващия екип в оценката на рисковото стъпало при хората със захарен диабет тип 2 **(Фигура 30)**:



Фигура 30. Примерен клиничен алгоритъм за оценка на рисково стъпало при хора със захарен диабет тип 2

MNSI – Michigan Neuropathy Screening Instrument; СС – Судоскан; ЕКП – Електрохимична кожна проводимост; ИПМ – индекс палец/мишница

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Увеличаващата се честота на захарния диабет и растящата ефективност на лечението му са свързани и с изява на повече негови усложнения. Диабетното стъпало е сред най-тежките от тях, водещо до повишена инвалидизация и смъртност на засегнатите лица. От друга страна, то е потенциално предотвратимо при прилагане на адекватна и навременна превенция. Развитието на диабетното стъпало се обуславя от множество фактори, но не всички от тях са напълно изяснени. Това налага търсенето на нови методи за ранно определяне на риска от това усложнение и внедряването им в ежедневната клинична практика.

Диабетната рана е основна характеристика на диабетното стъпало и затова нашето изследване се фокусира върху търсенето на дискриминативни и предиктивни фактори за развитието ѝ при хора със захарен диабет тип 2. При оптимални условия е необходим мултидисциплинарен екип в подхода към това усложнение. Затова извършихме комплексен анализ на улцеративния риск, използвайки някои традиционни и иновативни неврологични, съдови и биохимични показатели. Още сред базисните характеристики се разкри новата роля на менопаузата при жените и приемът на повече антидиабетни медикаменти като предразполагащи фактори за възникването на диабетни рани. Направи впечатление също, че диабетното стъпало се вписваше в „парадокса на обезитета“, като в нашето проучване образуването на улцерации беше присъщо за „по-слабите“ хора със захарен диабет тип 2. Това наблюдение повдигна въпроса за молекулните механизми на наблюдаваната асоциация и влиянието на мастната тъкан върху улцеративния риск чрез произвежданите от нея адипокини.

Надгради се информацията за отношението на судомоторната невропатия към диабетното стъпало. За първи път се описа ролята на Судоскан асиметрията на стъпалата като дискриминативен и предиктивен показател за диабетни рани. Сред използваните методи за оценка на соматичната и автономната невропатия се установи нова тяхна асоциация с 5-годишната обща смъртност. Изведени бяха значими прагови

стойности за използваните методи с добра чувствителност и специфичност по тази крайна точка, като най-силно влияние имаше нарушеният вибрационен усет.

Анализът на съдовите фактори постави хипотезата за съвременния облик на диабетното стъпало като потенциално сърдечно-съдово заболяване. Установи се изключително висока честота на периферната артериална болест при лицата с диабетни рани, както и множество значими корелации на резултатите от съдовите изследвания с антропометрични, лабораторни, неврологични и биохимични показатели. Докладвани са нови данни за артериалната ригидност, определена чрез CAVI метода, при пациентите с диабетни улцерации. Тенденцията при заболеваемостта в икономически развитите страни предполага все по-значимо място на макросъдовата болест в патогенезата на диабетното стъпало.

Данните за изследваните биомаркери разкри иновативната роля на серумния Оментин-1 и циркулиращата фракция на Ендотелин-1 за улцеративния риск, макро- и микросъдовата болест. За първи път се доказа, че по-ниските изходни нива на Хемерин се свързват както с по-висока честотата на диабетни рани, така и с увеличена 5-годишна обща смъртност при хора със захарен диабет тип 2.

Извършеният комплексен анализ в настоящия дисертационен труд е с основна цел да внесе актуални и нови данни за диабетното стъпало сред българската популация със захарен диабет тип 2. Получените резултати и изводи могат да се използват за подобряване на подхода към проблема в клиничната практика, както и да бъдат основа за бъдещи по-задълбочени научни изследвания.

ИЗВОДИ

1. Хората със захарен диабет тип 2 и диабетни рани имат по-нисък ИТМ, брой компоненти на метаболитния синдром и по-малко количество мазнини в тялото спрямо тези без улцерации. Това усложнение се вписва в „парадокса на обезитета“.

2. Настъпването на менопаузата при жените, нуждата от прием на повече от 3 антидиабетни медикамента и отношението албумин/креатинин в урината над 1.5 mg/mmol трябва да се приемат като маркери за повишен улцеративен риск при лицата със захарен диабет тип 2.

3. NDS и MNSI са подходящи инструменти както за скрининг на диабетна невропатия, така и за откриване на рисково стъпало за улцерации при хора със захарен диабет тип 2. NDS се доказа като иновативен предиктивен показател за диабетна ретинопатия и артериална хипертония с прагови стойности съответно ≥ 6 и ≥ 4 точки.

4. Судоскан асиметрията в кожната проводимост на стъпалата над 7.5 % има най-добра дискриминативна и предиктивна стойност за ранно идентифициране на улцеративния риск при ЗД тип 2 измежду всички изследвани параметри на судомоторната функция.

5. Вибрационен праг, определен чрез биотезиометър, над 29 V, Судоскан асиметрия на стъпалата над 8.5 % и ЕКП на стъпалата под 62 μS поотделно се асоциират с повишена 5-годишна обща смъртност при хора със захарен диабет тип 2.

6. Макросъдовата болест има нарастващо значение в патогенезата на диабетното стъпало, като наличието на рана може да се приеме за еквивалент на сърдечно-съдов рисков фактор. Разпространението на артериалната недостатъчност на долните крайници при хората с диабетни улцерации вероятно е по-високо от докладваното в литературата поради наличието на значим процент субклинични

и олигосимптомни форми. Използването на чувствителен метод за скрининг - като индекс палец/мишница (toe/brachial index), намалява процента недиагностицирани случаи. Стойности на TBI под 0.57 при лица със захарен диабет тип 2 са със силна предиктивна стойност по отношение възникването на улцерации.

7. Каротидните параметри (наличието на плаки, по-голямата дебелина на интима медиа слоя - IMT) и напредващата артериална ригидност (определена чрез CAVI) са значими рискови фактори при диабетно стъпало.

8. Значение за развитието на диабетни рани има не само количеството мастна тъкан, но и концентрацията на произвежданите от нея адипокини. По-ниските нива на Хемерин и по-високите на Оментин-1 се асоциират с повишен улцеративен риск.

9. Понижените изходни концентрации на Хемерин са свързани и с увеличен риск за 5-годишна обща смъртност.

10. По-високите серумни стойности на Ендотелин-1 са предиктивни за развитието на диабетно стъпало, като може да се използва прагова стойност ≥ 5.5 pg/ml за прогнозиране настъпването на това усложнение.

СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ

I. *Според приоритетния си характер приносите могат да бъдат разгледани като такива*

<u>В световен мащаб</u>:

1. За първи път се анализира ролята на серумните Ендотелин-1, Оментин-1 и Хемерин при диабетно стъпало.
2. Анализира се връзката между серумните нивата на адипокините и 5-годишната обща смъртност при хора със захарен диабет тип 2 без и с диабетно стъпало.
3. Направи се оценка на Судоскан параметрите в континиума от предиабет през новооткрит захарен диабет, многогодишен захарен диабет с установена диабетна невропатия до диабетно стъпало.
4. В проследяващо проучване се анализира предиктивната стойност на методи за оценка на соматичната и автономната невропатия по отношение на 5-годишната обща смъртност при лица със захарен диабет тип 2 без и с диабетни рани.
5. Изследва се влиянието на каротидните параметри и CAVI-базираната артериална ригидност върху риска от възникване на улцерации при хора със захарен диабет тип 2.

В национален мащаб:

1. За първи път се прави комплексно изследване върху влиянието на неврологични, съдови и биохимични фактори по отношение развитието на диабетно стъпало сред българска популация със ЗД тип 2.
2. Извърши се количествено степенуване на предиктивната стойност на скринингови неврологични методи по отношение на риска от възникване на диабетна улцерация при лица със ЗД тип 2 у нас.
3. Представени са актуални данни за разпространението на неврологични и съдови рискови фактори за улцерация сред хоспитализирани лица със захарен диабет тип 2 в България.
4. Съпостави се диагностичната точност на различни методи за оценка на периферната артериална болест при лица със захарен диабет тип 2 без и с диабетни рани.
5. Направи се анализ на асоциациите между микро-, макросъдовите усложнения и нивата на оригинални биомаркери при българска популация със захарен диабет тип 2 без и с диабетно стъпало.
6. Анализира се връзката на телесния състав с улцеративния риск при пациенти със захарен диабет тип 2 в контекста на т. нар. „парадокс на обезитета“.
7. Оцени се влиянието от настъпването на менопаузата при жените и от броя приемани антидиабетни медикаменти върху риска от диабетно стъпало.

II. *Според значимостта си в научно-теоретичен или клинично-приложен аспект приносите могат да бъдат систематизирани като*

Приноси с научно-теоретичен характер:

1. Оцени се количественото влияние на различни неврологични, съдови и биохимични фактори върху риска от диабетно стъпало.
2. Анализира се предиктивната стойност на неврологичните изследвания по отношение на 5-годишната обща смъртност при лица със захарен диабет тип 2 без и с диабетно стъпало.
3. Доказа се значима роля на каротидните параметри и CAVI-базираната артериална ригидност върху улцеративния риск при захарен диабет тип 2.
4. Установи се връзка между серумните нива на Оментин-1, Ендотелин-1, Хемерин и риск от диабетна рана.
5. Изведе се корелация между изходните нива на Хемерин и 5-годишната обща смъртност.
6. Доказа се асоциация между концентрацията на Цистатин Ц и наличието на усложнен многогодишен захарен диабет тип 2.
7. Установи се връзка между нивата на Оментин-1, RBP-4 и периферната артериална болест, както и между концентрацията на IL-18 и нарушения вибрационен усет.

Приноси с приложен характер:

1. Изведени са значими прагови стойности за давността на захарния диабет, броя антидиабетни медикаменти и отношението албумин/креатинин в урината, които са с предиктивна стойност за възникването на диабетни рани.
2. Предложени са за първи път сигнификантни прагови стойности за всеки компонент на MNSI поотделно (А и Б), които предсказват възникването на улцерация при лица със захарен диабет тип 2.
3. Доказаха се конкретни стойности за Судоскан параметрите на стъпалата, които определят улцеративния риск с висока чувствителност и специфичност сред българска популация пациенти със захарен диабет тип 2.
4. Иновативно се установиха прагови стойности за соматичните и автономните неврологични показатели, които се свързват с повишен риск от 5-годишна обща смъртност при хора със захарен диабет тип 2.
5. Бяха предложени нови гранични стойности на индексите за оценка на ПАБ (TBI, ABI), които се асоциират с повишен улцеративен риск при ЗД тип 2.
6. Доказа се сигнификантно прагово ниво за серумната концентрация на Ендотелин-1, което има предиктивна роля по отношение възникването на диабетни рани.
7. На база на получените резултати се състави примерен клиничен алгоритъм за оценка на рисково стъпало при хора със захарен диабет тип 2.

ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ УЧАСТИЯ

Статии в чужди списания с импакт фактор

1. **Gatev T**, Gateva A, Assyov Y, Nacheva S, Petrova J, Poromanski I, Kamenov Z. The role of Sudoscan feet asymmetry in the diabetic foot. Prim Care Diabetes. 2020 Feb;14(1):47-52. doi: 10.1016/j.pcd.2019.05.003; **IF = 2.008**.
2. **Gatev T**, Byalkova V, Poromanski I, Velikova T, Vassilev D, Kamenov Z. Omentin-1 and diabetic foot. The International Journal of Lower Extremity Wounds. 2022 Jan, 5. doi: 10.1177/15347346211069813 (in press). **IF = 2.057**.
3. Gateva A, Assyov Y, **Gatev T**, Kamenov Z. Endothelial dysfunction and intima media thickness are selectively related to the different carbohydrate disturbances across the glucose continuum. Arch Physiol Biochem. 2018 Jun 8:1-5. doi: 10.1080/13813455.2018.1479762; **IF = 1.22**.

Статии в български списания

1. **Гатев Ц**, Каменов З. Съвременен подход при диабетно стъпало. Ендокринология. 2021 април. №1/2021: 73-86.

Участия в научни форуми

1. **Гатев Ц**. Судомоторна дисфункция при диабетно стъпало. Пета национална научно-практическа конференция на БЛС, 24-26 октомври 2019г, Несебър – доклад-презентация; страници 115-117 в сборника.
2. **Gatev T**, Vassilev D, Poromanski I et al. Adipocytokines (Chemerin, Visfatin and Retinol Binding Protein 4) and diabetic foot, 19th International Congress of Endocrinology 2021 (Virtual Poster), 24-28 Feb 2021, Abstract book: ICE2021-1524, p. 139.

Участия в научни проекти

1. ГРАНТ 2016: Неврологични, съдови и биохимични фактори в еволюцията на диабетното стъпало. Водещ изследовател: проф. З. Каменов, дмн. Договор № 70 Д-70/21.01.2016г.
2. МЛАД ИЗСЛЕДОВАТЕЛ 2019: Роля на адипокините в развитието на диабетното стъпало, Водещ изследовател: д-р Цветан Гатев. Договор № Д-123/23.04.2019г.
3. Стимулиране на научни изследвания в области с постигнати високи постижения – 2020: Ролята на нови биомаркери за сърдечно-съдовия риск и метаболитни промени при пациенти с обезитет преди и след бариатрична/метаболитна хирургия. Водещ изследовател: проф. З. Каменов, дмн. Договор № Д-38/04.03.2021г.
4. ГРАНТ 2018: Органокини при мъже с късен хипогонадизъм и метаболитен синдром. Водещ изследовател: проф. З. Каменов, дмн. Договор № Д-105/03.05.2018г.
5. ФНИ 2018: Нови маркери за микро- и макроваскуларни усложнения при пациенти с ранни нарушения във въглехидратната обмяна. Водещ изследовател: проф. З. Каменов, дмн. Договор № КП-06-Н23/11 – 18.12.2018г.
6. Европейски международен проект EC-GA No. 279074: Early Prevention of Diabetes Complications in People with Hyperglycaemia in Europe" (ePREDICE) FP7-HEALTH-2011.

Със специални благодарности към: *Проф. Д-р Иван Пороманski, дм, Д-р Цветелина Великова, дм и Д-р Жулиета Христова, дм.*

КНИГОПИС

1. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al. IDF diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. Diabetes Res Clin Pract. 2021:109119.
2. van Netten JJ, Bus SA, Apelqvist J, Lipsky BA, Hinchliffe RJ, Game F, et al. Definitions and criteria for diabetic foot disease. Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3268.
3. Boulton AJ, Vileikyte L, Ragnarson-Tennvall G, Apelqvist J. The global burden of diabetic foot disease. Lancet. 2005;366(9498):1719-24.
4. Armstrong DG, Boulton AJM, Bus SA. Diabetic Foot Ulcers and Their Recurrence. N Engl J Med. 2017;376(24):2367-75.
5. Mishra SC, Chhatbar KC, Kashikar A, Mehndiratta A. Diabetic foot. BMJ. 2017;359:j5064.
6. Lazzarini PA, Pacella RE, Armstrong DG, van Netten JJ. Diabetes-related lower-extremity complications are a leading cause of the global burden of disability. Diabet Med. 2018.
7. Pecoraro RE, Reiber GE, Burgess EM. Pathways to diabetic limb amputation. Basis for prevention. Diabetes Care. 1990;13(5):513-21.
8. Apelqvist J, Larsson J, Agardh CD. Long-term prognosis for diabetic patients with foot ulcers. J Intern Med. 1993;233(6):485-91.
9. Mantey I, Foster AV, Spencer S, Edmonds ME. Why do foot ulcers recur in diabetic patients? Diabet Med. 1999;16(3):245-9.
10. Moxey PW, Gogalniceanu P, Hinchliffe RJ, Loftus IM, Jones KJ, Thompson MM, et al. Lower extremity amputations--a review of global variability in incidence. Diabet Med. 2011;28(10):1144-53.
11. Bobircă F, Mihalache O, Georgescu D, Pătraşcu T. The New Prognostic-Therapeutic Index for Diabetic Foot Surgery--Extended Analysis. Chirurgia (Bucur). 2016;111(2):151-5.
12. Margolis DJ, Allen-Taylor L, Hoffstad O, Berlin JA. Diabetic neuropathic foot ulcers and amputation. Wound Repair Regen. 2005;13(3):230-6.
13. Oyibo SO, Jude EB, Tarawneh I, Nguyen HC, Armstrong DG, Harkless LB, et al. The effects of ulcer size and site, patient's age, sex and type and duration of diabetes on the outcome of diabetic foot ulcers. Diabet Med. 2001;18(2):133-8.
14. Izumi Y, Satterfield K, Lee S, Harkless LB, Lavery LA. Mortality of first-time amputees in diabetics: a 10-year observation. Diabetes Res Clin Pract. 2009;83(1):126-31.
15. Cavanagh P, Attinger C, Abbas Z, Bal A, Rojas N, Xu ZR. Cost of treating diabetic foot ulcers in five different countries. Diabetes Metab Res Rev. 2012;28 Suppl 1:107-11.
16. Driver VR, Fabbi M, Lavery LA, Gibbons G. The costs of diabetic foot: the economic case for the limb salvage team. J Vasc Surg. 2010;52(3 Suppl):17S-22S.
17. Singh N, Armstrong DG, Lipsky BA. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. JAMA. 2005;293(2):217-28.

18. Robbins JM, Strauss G, Aron D, Long J, Kuba J, Kaplan Y. Mortality rates and diabetic foot ulcers: is it time to communicate mortality risk to patients with diabetic foot ulceration? J Am Podiatr Med Assoc. 2008;98(6):489-93.
19. Moulik PK, Mtonga R, Gill GV. Amputation and mortality in new-onset diabetic foot ulcers stratified by etiology. Diabetes Care. 2003;26(2):491-4.
20. Resnick HE, Carter EA, Sosenko JM, Henly SJ, Fabsitz RR, Ness FK, et al. Incidence of lower-extremity amputation in American Indians: the Strong Heart Study. Diabetes Care. 2004;27(8):1885-91.
21. Aulivola B, Hile CN, Hamdan AD, Sheahan MG, Veraldi JR, Skillman JJ, et al. Major lower extremity amputation: outcome of a modern series. Arch Surg. 2004;139(4):395-9; discussion 9.
22. Kazmers A, Perkins AJ, Jacobs LA. Major lower extremity amputation in Veterans Affairs medical centers. Ann Vasc Surg. 2000;14(3):216-22.
23. Peng CW, Tan SG. Perioperative and rehabilitative outcomes after amputation for ischaemic leg gangrene. Ann Acad Med Singap. 2000;29(2):168-72.
24. Subramaniam B, Pomposelli F, Talmor D, Park KW. Perioperative and long-term morbidity and mortality after above-knee and below-knee amputations in diabetics and nondiabetics. Anesth Analg. 2005;100(5):1241-7, table of contents.
25. Resnick HE, Carter EA, Lindsay R, Henly SJ, Ness FK, Welty TK, et al. Relation of lower-extremity amputation to all-cause and cardiovascular disease mortality in American Indians: the Strong Heart Study. Diabetes Care. 2004;27(6):1286-93.
26. Schofield CJ, Libby G, Brennan GM, MacAlpine RR, Morris AD, Leese GP, et al. Mortality and hospitalization in patients after amputation: a comparison between patients with and without diabetes. Diabetes Care. 2006;29(10):2252-6.
27. van Netten JJ, Price PE, Lavery LA, Monteiro-Soares M, Rasmussen A, Jubiz Y, et al. Prevention of foot ulcers in the at-risk patient with diabetes: a systematic review. Diabetes Metab Res Rev. 2016;32 Suppl 1:84-98.
28. Unwin N. Epidemiology of lower extremity amputation in centres in Europe, North America and East Asia. Br J Surg. 2000;87(3):328-37.
29. Armstrong DG, Lavery LA, van Houtum WH, Harkless LB. The impact of gender on amputation. J Foot Ankle Surg. 1997;36(1):66-9; discussion 81.
30. Most RS, Sinnock P. The epidemiology of lower extremity amputations in diabetic individuals. Diabetes Care. 1983;6(1):87-91.
31. Siitonen OI, Niskanen LK, Laakso M, Siitonen JT, Pyörälä K. Lower-extremity amputations in diabetic and nondiabetic patients. A population-based study in eastern Finland. Diabetes Care. 1993;16(1):16-20.
32. Boulton AJ. The diabetic foot: a global view. Diabetes Metab Res Rev. 2000;16 Suppl 1:S2-5.
33. Sobhani S, Asayesh H, Sharifi F, Djalalinia S, Baradaran HR, Arzaghi SM, et al. Prevalence of diabetic peripheral neuropathy in Iran: a systematic review and meta-analysis. J Diabetes Metab Disord. 2014;13(1):97.
34. 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.
35. Ziegler D, Papanas N, Vinik AI, Shaw JE. Epidemiology of polyneuropathy in diabetes and prediabetes. Handb Clin Neurol. 2014;126:3-22.

36. Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993;329(14):977-86.
37. The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of neuropathy. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Ann Intern Med. 1995;122(8):561-8.
38. Partanen J, Niskanen L, Lehtinen J, Mervaala E, Siitonen O, Uusitupa M. Natural history of peripheral neuropathy in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1995;333(2):89-94.
39. Feldman EL, Stevens MJ, Greene DA. Pathogenesis of diabetic neuropathy. Clin Neurosci. 1997;4(6):365-70.
40. Танкова Ц. Захарен диабет: Парадигма; 2013. 482 p.
41. Melmed S, Polonsky K, Larsen P. Williams textbook of endocrinology. 13th edition. Philadelphia: Elsevier; 2015.
42. Vinik AI, Nevoret ML, Casellini C, Parson H. Diabetic neuropathy. Endocrinol Metab Clin North Am. 2013;42(4):747-87.
43. Abbott CA, Vileikyte L, Williamson S, Carrington AL, Boulton AJ. Multicenter study of the incidence of and predictive risk factors for diabetic neuropathic foot ulceration. Diabetes Care. 1998;21(7):1071-5.
44. Pop-Busui R, Boulton AJ, Feldman EL, Bril V, Freeman R, Malik RA, et al. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. Diabetes Care. 2017;40(1):136-54.
45. ELLENBERG M. Diabetic neuropathy precipitating after institution of diabetic control. Am J Med Sci. 1958;236(4):466-71.
46. Llewelyn JG, Thomas PK, Fonseca V, King RH, Dandona P. Acute painful diabetic neuropathy precipitated by strict glycaemic control. Acta Neuropathol. 1986;72(2):157-63.
47. Tesfaye S, Malik R, Harris N, Jakubowski JJ, Mody C, Rennie IG, et al. Arterio-venous shunting and proliferating new vessels in acute painful neuropathy of rapid glycaemic control (insulin neuritis). Diabetologia. 1996;39(3):329-35.
48. Verrotti A, Prezioso G, Scattoni R, Chiarelli F. Autonomic neuropathy in diabetes mellitus. Front Endocrinol (Lausanne). 2014;5:205.
49. Sumner CJ, Sheth S, Griffin JW, Cornblath DR, Polydefkis M. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. Neurology. 2003;60(1):108-11.
50. Gatev T, Gateva A, Assyov Y, Nacheva S, Petrova J, Poromanski I, et al. The role of Sudoscan feet asymmetry in the diabetic foot. Prim Care Diabetes. 2019.
51. Low PA. Recent advances in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Muscle Nerve. 1987;10(2):121-8.
52. Cameron NE, Cotter MA. Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Diabetes. 1997;46 Suppl 2:S31-7.
53. Hellweg R, Hartung HD. Endogenous levels of nerve growth factor (NGF) are altered in experimental diabetes mellitus: a possible role for NGF in the pathogenesis of diabetic neuropathy. J Neurosci Res. 1990;26(2):258-67.
54. Sima AA. C-peptide and diabetic neuropathy. Expert Opin Investig Drugs. 2003;12(9):1471-88.

55. Oates PJ. Polyol pathway and diabetic peripheral neuropathy. Int Rev Neurobiol. 2002;50:325-92.
56. Каменов З. Диабетна невропатия: София; 2006.
57. Cameron NE, Cotter MA, Low PA. Nerve blood flow in early experimental diabetes in rats: relation to conduction deficits. Am J Physiol. 1991;261(1 Pt 1):E1-8.
58. Cameron NE, Cotter MA, Ferguson K, Robertson S, Radcliffe MA. Effects of chronic alpha-adrenergic receptor blockade on peripheral nerve conduction, hypoxic resistance, polyols, Na(+)-K(+)-ATPase activity, and vascular supply in STZ-D rats. Diabetes. 1991;40(12):1652-8.
59. Carrington AL, Shaw JE, Van Schie CH, Abbott CA, Vileikyte L, Boulton AJ. Can motor nerve conduction velocity predict foot problems in diabetic subjects over a 6-year outcome period? Diabetes Care. 2002;25(11):2010-5.
60. Lauria G, Lombardi R. Skin biopsy: a new tool for diagnosing peripheral neuropathy. BMJ. 2007;334(7604):1159-62.
61. Tavakoli M, Petropoulos IN, Malik RA. Corneal confocal microscopy to assess diabetic neuropathy: an eye on the foot. J Diabetes Sci Technol. 2013;7(5):1179-89.
62. Alam U, Jeziorska M, Petropoulos IN, Asghar O, Fadavi H, Ponirakis G, et al. Diagnostic utility of corneal confocal microscopy and intra-epidermal nerve fibre density in diabetic neuropathy. PLoS One. 2017;12(7):e0180175.
63. Tentolouris N, Marinou K, Kokotis P, Karanti A, Diakoumopoulou E, Katsilambros N. Sudomotor dysfunction is associated with foot ulceration in diabetes. Diabet Med. 2009;26(3):302-5.
64. Panagoulias GS, Eleftheriadou I, Papanas N, Manes C, Kamenov Z, Tesic D, et al. Dryness of Foot Skin Assessed by the Visual Indicator Test and Risk of Diabetic Foot Ulceration: A Prospective Observational Study. Front Endocrinol (Lausanne). 2020;11:625.
65. Kamenov ZA, Petrova JJ, Christov VG. Diagnosis of diabetic neuropathy using simple somatic and a new autonomic (neuropad) tests in the clinical practice. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2010;118(4):226-33.
66. Bordier L, Dolz M, Monteiro L, Névoret ML, Calvet JH, Bauduceau B. Accuracy of a Rapid and Non-Invasive Method for the Assessment of Small Fiber Neuropathy Based on Measurement of Electrochemical Skin Conductances. Front Endocrinol (Lausanne). 2016;7:18.
67. Smith AG, Lessard M, Reyna S, Doudova M, Singleton JR. The diagnostic utility of Sudoscan for distal symmetric peripheral neuropathy. J Diabetes Complications. 2014;28(4):511-6.
68. Casellini CM, Parson HK, Richardson MS, Nevoret ML, Vinik AI. Sudoscan, a noninvasive tool for detecting diabetic small fiber neuropathy and autonomic dysfunction. Diabetes Technol Ther. 2013;15(11):948-53.
69. Yajnik CS, Kantikar V, Pande A, Deslypere JP, Dupin J, Calvet JH, et al. Screening of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with diabetes using non-invasive quick and simple assessment of sudomotor function. Diabetes Metab. 2013;39(2):126-31.
70. Sheshah E, Madanat A, Al-Greesheh F, Al-Qaisi D, Al-Harbi M, Aman R, et al. Electrochemical skin conductance to detect sudomotor dysfunction, peripheral neuropathy and the risk of foot ulceration among Saudi patients with diabetes mellitus. J Diabetes Metab Disord. 2015;15:29.

71. Jin J, Wang W, Gu T, Chen W, Lu J, Bi Y, et al. The Application of SUDOSCAN for Screening Diabetic Peripheral Neuropathy in Chinese Population. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2018;126(8):472-7.
72. Young MJ, Breddy JL, Veves A, Boulton AJ. The prediction of diabetic neuropathic foot ulceration using vibration perception thresholds. A prospective study. Diabetes Care. 1994;17(6):557-60.
73. 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. Diabet Med. 2002;19(5):377-84.
74. Kästenbauer T, Sauseng S, Sokol G, Auinger M, Irsigler K. A prospective study of predictors for foot ulceration in type 2 diabetes. J Am Podiatr Med Assoc. 2001;91(7):343-50.
75. Boyko EJ, Ahroni JH, Stensel V, Forsberg RC, Davignon DR, Smith DG. A prospective study of risk factors for diabetic foot ulcer. The Seattle Diabetic Foot Study. Diabetes Care. 1999;22(7):1036-42.
76. McNeely MJ, Boyko EJ, Ahroni JH, Stensel VL, Reiber GE, Smith DG, et al. The independent contributions of diabetic neuropathy and vasculopathy in foot ulceration. How great are the risks? Diabetes Care. 1995;18(2):216-9.
77. Goel A, Shivaprasad C, Kolly A, Sarathi H A V, Atluri S. Comparison of electrochemical skin conductance and vibration perception threshold measurement in the detection of early diabetic neuropathy. PLoS One. 2017;12(9):e0183973.
78. Sharma S, Kerry C, Atkins H, Rayman G. The Ipswich Touch Test: a simple and novel method to screen patients with diabetes at home for increased risk of foot ulceration. Diabet Med. 2014;31(9):1100-3.
79. Nongmaithem M, Bawa AP, Pithwa AK, Bhatia SK, Singh G, Gooptu S. A study of risk factors and foot care behavior among diabetics. J Family Med Prim Care. 2016;5(2):399-403.
80. Nathan DM, Group DER. The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: overview. Diabetes Care. 2014;37(1):9-16.
81. Stolar M. Glycemic control and complications in type 2 diabetes mellitus. Am J Med. 2010;123(3 Suppl):S3-11.
82. Ziegler D, Low PA, Litchy WJ, Boulton AJ, Vinik AI, Freeman R, et al. Efficacy and safety of antioxidant treatment with α-lipoic acid over 4 years in diabetic polyneuropathy: the NATHAN 1 trial. Diabetes Care. 2011;34(9):2054-60.
83. Tankova T, Koev D, Dakovska L. Alpha-lipoic acid in the treatment of autonomic diabetic neuropathy (controlled, randomized, open-label study). Rom J Intern Med. 2004;42(2):457-64.
84. Tankova T, Cherninkova S, Koev D. Treatment for diabetic mononeuropathy with alpha-lipoic acid. Int J Clin Pract. 2005;59(6):645-50.
85. Христов В, Темелкова Н, Каменов З. Ефект на препарата тиоктацид при пациенти с диабетна невропатия. Българска медицина. 2001(9):9-11.
86. Христов В, Каменов З. Лечение с алфа - липоева киселина на болезнената диабетна полиневропатия: ПИКС-ООД, София; 1999.
87. Yost M. Critical limb ischemia: United States Epidemiology 2016 supplement. Atlanta; 2016.

88. Hirsch AT, Criqui MH, Treat-Jacobson D, Regensteiner JG, Creager MA, Olin JW, et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. JAMA. 2001;286(11):1317-24.
89. Schaper NC, van Netten JJ, Apelqvist J, Bus SA, Hinchliffe RJ, Lipsky BA, et al. Practical Guidelines on the prevention and management of diabetic foot disease (IWGDF 2019 update). Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3266.
90. Kumar S, Ashe HA, Parnell LN, Fernando DJ, Tsigos C, Young RJ, et al. The prevalence of foot ulceration and its correlates in type 2 diabetic patients: a population-based study. Diabet Med. 1994;11(5):480-4.
91. Walters DP, Gatling W, Mullee MA, Hill RD. The distribution and severity of diabetic foot disease: a community study with comparison to a non-diabetic group. Diabet Med. 1992;9(4):354-8.
92. Marso SP, Hiatt WR. Peripheral arterial disease in patients with diabetes. J Am Coll Cardiol. 2006;47(5):921-9.
93. Morbach S, Furchert H, Gröblinghoff U, Hoffmeier H, Kersten K, Klauke GT, et al. Long-term prognosis of diabetic foot patients and their limbs: amputation and death over the course of a decade. Diabetes Care. 2012;35(10):2021-7.
94. Junrungsee S, Kosachunhanun N, Wongthanee A, Rerkasem K. History of foot ulcers increases mortality among patients with diabetes in Northern Thailand. Diabet Med. 2011;28(5):608-11.
95. Prompers L, Huijberts M, Apelqvist J, Jude E, Piaggesi A, Bakker K, et al. High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. Diabetologia. 2007;50(1):18-25.
96. Rigato M, Pizzol D, Tiago A, Putoto G, Avogaro A, Fadini GP. Characteristics, prevalence, and outcomes of diabetic foot ulcers in Africa. A systemic review and meta-analysis. Diabetes Res Clin Pract. 2018;142:63-73.
97. Younis BB, Shahid A, Arshad R, Khurshid S, Ahmad M, Yousaf H. Frequency of foot ulcers in people with type 2 diabetes, presenting to specialist diabetes clinic at a Tertiary Care Hospital, Lahore, Pakistan. BMC Endocr Disord. 2018;18(1):53.
98. Spreen MI, Gremmels H, Teraa M, Sprengers RW, Verhaar MC, Statius van Eps RG, et al. Diabetes Is Associated With Decreased Limb Survival in Patients With Critical Limb Ischemia: Pooled Data From Two Randomized Controlled Trials. Diabetes Care. 2016;39(11):2058-64.
99. Elgzyri T, Larsson J, Thörne J, Eriksson KF, Apelqvist J. Outcome of ischemic foot ulcer in diabetic patients who had no invasive vascular intervention. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2013;46(1):110-7.
100. Richter L, Freisinger E, Lüders F, Gebauer K, Meyborg M, Malyar NM. Impact of diabetes type on treatment and outcome of patients with peripheral artery disease. Diab Vasc Dis Res. 2018;15(6):504-10.
101. Blinc A, Kozak M, Šabovič M, Božič Mijovski M, Stegnar M, Poredoš P, et al. Survival and event-free survival of patients with peripheral arterial disease undergoing prevention of cardiovascular disease. Int Angiol. 2017;36(3):216-27.
102. Lipsky BA, Senneville É, Abbas ZG, Aragón-Sánchez J, Diggle M, Embil JM, et al. Guidelines on the diagnosis and treatment of foot infection in persons with diabetes (IWGDF 2019 update). Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3280.

103. Dolan NC, Liu K, Criqui MH, Greenland P, Guralnik JM, Chan C, et al. Peripheral artery disease, diabetes, and reduced lower extremity functioning. Diabetes Care. 2002;25(1):113-20.
104. Boyko EJ, Ahroni JH, Davignon D, Stensel V, Prigeon RL, Smith DG. Diagnostic utility of the history and physical examination for peripheral vascular disease among patients with diabetes mellitus. J Clin Epidemiol. 1997;50(6):659-68.
105. Edmonds ME, Morrison N, Laws JW, Watkins PJ. Medial arterial calcification and diabetic neuropathy. Br Med J (Clin Res Ed). 1982;284(6320):928-30.
106. Forsythe RO, Apelqvist J, Boyko EJ, Fitridge R, Hong JP, Katsanos K, et al. Effectiveness of bedside investigations to diagnose peripheral artery disease among people with diabetes mellitus: A systematic review. Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3277.
107. Randhawa MS, Reed GW, Grafmiller K, Gornik HL, Shishehbor MH. Prevalence of Tibial Artery and Pedal Arch Patency by Angiography in Patients With Critical Limb Ischemia and Noncompressible Ankle Brachial Index. Circ Cardiovasc Interv. 2017;10(5).
108. Vriens B, D'Abate F, Ozdemir BA, Fenner C, Maynard W, Budge J, et al. Clinical examination and non-invasive screening tests in the diagnosis of peripheral artery disease in people with diabetes-related foot ulceration. Diabet Med. 2018;35(7):895-902.
109. Wukich DK, Shen W, Raspovic KM, Suder NC, Baril DT, Avgerinos E. Noninvasive Arterial Testing in Patients With Diabetes: A Guide for Foot and Ankle Surgeons. Foot Ankle Int. 2015;36(12):1391-9.
110. Barshes NR, Flores E, Belkin M, Kougias P, Armstrong DG, Mills JL. The accuracy and cost-effectiveness of strategies used to identify peripheral artery disease among patients with diabetic foot ulcers. J Vasc Surg. 2016;64(6):1682-90.e3.
111. Bunte MC, Jacob J, Nudelman B, Shishehbor MH. Validation of the relationship between ankle-brachial and toe-brachial indices and infragenicular arterial patency in critical limb ischemia. Vasc Med. 2015;20(1):23-9.
112. Forsythe RO, Apelqvist J, Boyko EJ, Fitridge R, Hong JP, Katsanos K, et al. Performance of prognostic markers in the prediction of wound healing or amputation among patients with foot ulcers in diabetes: A systematic review. Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3278.
113. Ince P, Game FL, Jeffcoate WJ. Rate of healing of neuropathic ulcers of the foot in diabetes and its relationship to ulcer duration and ulcer area. Diabetes Care. 2007;30(3):660-3.
114. Hinchliffe RJ, Forsythe RO, Apelqvist J, Boyko EJ, Fitridge R, Hong JP, et al. Guidelines on diagnosis, prognosis, and management of peripheral artery disease in patients with foot ulcers and diabetes (IWGDF 2019 update). Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3276.
115. Dinh T, Tecilazich F, Kafanas A, Doupis J, Gnardellis C, Leal E, et al. Mechanisms involved in the development and healing of diabetic foot ulceration. Diabetes. 2012;61(11):2937-47.
116. Ren Y, Gu G, Yao M, Driver VR. Role of matrix metalloproteinases in chronic wound healing: diagnostic and therapeutic implications. Chin Med J (Engl). 2014;127(8):1572-81.
117. Lazaro JL, Izzo V, Meaume S, Davies AH, Lobmann R, Uccioli L. Elevated levels of matrix metalloproteinases and chronic wound healing: an updated review of clinical evidence. J Wound Care. 2016;25(5):277-87.

118. Tayebjee MH, Tan KT, MacFadyen RJ, Lip GY. Abnormal circulating levels of metalloprotease 9 and its tissue inhibitor 1 in angiographically proven peripheral arterial disease: relationship to disease severity. J Intern Med. 2005;257(1):110-6.
119. Menghini R, Uccioli L, Vainieri E, Pecchioli C, Casagrande V, Stoehr R, et al. Expression of tissue inhibitor of metalloprotease 3 is reduced in ischemic but not neuropathic ulcers from patients with type 2 diabetes mellitus. Acta Diabetol. 2013;50(6):907-10.
120. Edmonds M, Lázaro-Martínez JL, Alfayate-García JM, Martini J, Petit JM, Rayman G, et al. Sucrose octasulfate dressing versus control dressing in patients with neuroischaemic diabetic foot ulcers (Explorer): an international, multicentre, double-blind, randomised, controlled trial. Lancet Diabetes Endocrinol. 2018;6(3):186-96.
121. Volkin DB, Verticelli AM, Marfia KE, Burke CJ, Mach H, Middaugh CR. Sucralfate and soluble sucrose octasulfate bind and stabilize acidic fibroblast growth factor. Biochim Biophys Acta. 1993;1203(1):18-26.
122. Kulahin N, Kiselyov V, Kochoyan A, Kristensen O, Kastrup JS, Berezin V, et al. Dimerization effect of sucrose octasulfate on rat FGF1. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2008;64(Pt 6):448-52.
123. Meaume S, Truchetet F, Cambazard F, Lok C, Debure C, Dalac S, et al. A randomized, controlled, double-blind prospective trial with a Lipido-Colloid Technology-Nano-OligoSaccharide Factor wound dressing in the local management of venous leg ulcers. Wound Repair Regen. 2012;20(4):500-11.
124. Conte MS, Bradbury AW, Kolh P, White JV, Dick F, Fitridge R, et al. Global vascular guidelines on the management of chronic limb-threatening ischemia. J Vasc Surg. 2019;69(6S):3S-125S.e40.
125. FONTAINE R, KIM M, KIENY R. [Surgical treatment of peripheral circulation disorders]. Helv Chir Acta. 1954;21(5-6):499-533.
126. Suggested standards for reports dealing with lower extremity ischemia. Prepared by the Ad Hoc Committee on Reporting Standards, Society for Vascular Surgery/North American Chapter, International Society for Cardiovascular Surgery. J Vasc Surg. 1986;4(1):80-94.
127. Rutherford RB, Baker JD, Ernst C, Johnston KW, Porter JM, Ahn S, et al. Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version. J Vasc Surg. 1997;26(3):517-38.
128. Hardman RL, Jazaeri O, Yi J, Smith M, Gupta R. Overview of classification systems in peripheral artery disease. Semin Intervent Radiol. 2014;31(4):378-88.
129. Gershater MA, Löndahl M, Nyberg P, Larsson J, Thörne J, Eneroth M, et al. Complexity of factors related to outcome of neuropathic and neuroischaemic/ischaemic diabetic foot ulcers: a cohort study. Diabetologia. 2009;52(3):398-407.
130. Mills JL, Conte MS, Armstrong DG, Pomposelli FB, Schanzer A, Sidawy AN, et al. The Society for Vascular Surgery Lower Extremity Threatened Limb Classification System: risk stratification based on wound, ischemia, and foot infection (WIfI). J Vasc Surg. 2014;59(1):220-34.e1-2.
131. Weaver ML, Hicks CW, Canner JK, Sherman RL, Hines KF, Mathioudakis N, et al. The Society for Vascular Surgery Wound, Ischemia, and foot Infection (WIfI) classification system predicts wound healing better than direct angiosome perfusion in diabetic foot wounds. J Vasc Surg. 2018;68(5):1473-81.

132. Forsythe RO, Apelqvist J, Boyko EJ, Fitridge R, Hong JP, Katsanos K, et al. Effectiveness of revascularisation of the ulcerated foot in patients with diabetes and peripheral artery disease: A systematic review. Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3279.
133. National Institute for Health, Excellence C. NICE Guidelines [CG119] Diabetic Foot Problems. 2011.
134. Young MJ, McCardle JE, Randall LE, Barclay JI. Improved survival of diabetic foot ulcer patients 1995-2008: possible impact of aggressive cardiovascular risk management. Diabetes Care. 2008;31(11):2143-7.
135. Sun CK. Cardio-ankle vascular index (CAVI) as an indicator of arterial stiffness. Integr Blood Press Control. 2013;6:27-38.
136. Miyoshi T, Ito H, Horinaka S, Shirai K, Higaki J, Orimo H. Protocol for Evaluating the Cardio-Ankle Vascular Index to Predict Cardiovascular Events in Japan: A Prospective Multicenter Cohort Study. Pulse (Basel). 2017;4(Suppl 1):11-6.
137. Ando A, Miyamoto M, Kotani K, Okada K, Nagasaka S, Ishibashi S. Cardio-Ankle Vascular Index and Indices of Diabetic Polyneuropathy in Patients with Type 2 Diabetes. J Diabetes Res. 2017;2017:2810914.
138. Furuya F, Motosugi A, Haraguchi K, Hanai S, Ishii T, Yamaguchi Y, et al. Association between the Cardio-Ankle Vascular Index and Diabetes Mellitus-Related Peripheral Arterial Disease in Chronic Hemodialysis Patients. Blood Purif. 2019;47 Suppl 2:25-30.
139. Litzelman DK, Slemenda CW, Langefeld CD, Hays LM, Welch MA, Bild DE, et al. Reduction of lower extremity clinical abnormalities in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. A randomized, controlled trial. Ann Intern Med. 1993;119(1):36-41.
140. Larsen K, Fabrin J, Holstein PE. Incidence and management of ulcers in diabetic Charcot feet. J Wound Care. 2001;10(8):323-8.
141. van Schie CH, Vermigli C, Carrington AL, Boulton A. Muscle weakness and foot deformities in diabetes: relationship to neuropathy and foot ulceration in caucasian diabetic men. Diabetes Care. 2004;27(7):1668-73.
142. Cheng Q, Hu J, Yang P, Cao X, Deng X, Yang Q, et al. Sarcopenia is independently associated with diabetic foot disease. Sci Rep. 2017;7(1):8372.
143. Allan J, Munro W, Figgins E. Foot deformities within the diabetic foot and their influence on biomechanics: A review of the literature. Prosthet Orthot Int. 2016;40(2):182-92.
144. Crisp AJ, Heathcote JG. Connective tissue abnormalities in diabetes mellitus. J R Coll Physicians Lond. 1984;18(2):132-41.
145. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation: role in the pathogenesis of diabetic complications. Clin Chem. 1986;32(10 Suppl):B37-41.
146. Lavery LA, Armstrong DG, Vela SA, Quebedeaux TL, Fleischli JG. Practical criteria for screening patients at high risk for diabetic foot ulceration. Arch Intern Med. 1998;158(2):157-62.
147. Delbridge L, Perry P, Marr S, Arnold N, Yue DK, Turtle JR, et al. Limited joint mobility in the diabetic foot: relationship to neuropathic ulceration. Diabet Med. 1988;5(4):333-7.
148. Mueller MJ, Diamond JE, Delitto A, Sinacore DR. Insensitivity, limited joint mobility, and plantar ulcers in patients with diabetes mellitus. Phys Ther. 1989;69(6):453-9; discussion 9-62.

149. Birke JA, Franks BD, Foto JG. First ray joint limitation, pressure, and ulceration of the first metatarsal head in diabetes mellitus. Foot Ankle Int. 1995;16(5):277-84.
150. Zimny S, Schatz H, Pfohl M. The role of limited joint mobility in diabetic patients with an at-risk foot. Diabetes Care. 2004;27(4):942-6.
151. Boulton AJ, Hardisty CA, Betts RP, Franks CI, Worth RC, Ward JD, et al. Dynamic foot pressure and other studies as diagnostic and management aids in diabetic neuropathy. Diabetes Care. 1983;6(1):26-33.
152. Ctercteko GC, Dhanendran M, Hutton WC, Le Quesne LP. Vertical forces acting on the feet of diabetic patients with neuropathic ulceration. Br J Surg. 1981;68(9):608-14.
153. Fernando DJ, Masson EA, Veves A, Boulton AJ. Relationship of limited joint mobility to abnormal foot pressures and diabetic foot ulceration. Diabetes Care. 1991;14(1):8-11.
154. Stokes IA, Faris IB, Hutton WC. The neuropathic ulcer and loads on the foot in diabetic patients. Acta Orthop Scand. 1975;46(5):839-47.
155. Veves A, Murray HJ, Young MJ, Boulton AJ. The risk of foot ulceration in diabetic patients with high foot pressure: a prospective study. Diabetologia. 1992;35(7):660-3.
156. Caselli A, Pham H, Giurini JM, Armstrong DG, Veves A. The forefoot-to-rearfoot plantar pressure ratio is increased in severe diabetic neuropathy and can predict foot ulceration. Diabetes Care. 2002;25(6):1066-71.
157. Armstrong DG, Lavery LA, Vela SA, Quebedeaux TL, Fleischli JG. Choosing a practical screening instrument to identify patients at risk for diabetic foot ulceration. Arch Intern Med. 1998;158(3):289-92.
158. Quebedeaux TL, Lavery LA, Lavery DC. The development of foot deformities and ulcers after great toe amputation in diabetes. Diabetes Care. 1996;19(2):165-7.
159. Murdoch DP, Armstrong DG, Dacus JB, Laughlin TJ, Morgan CB, Lavery LA. The natural history of great toe amputations. J Foot Ankle Surg. 1997;36(3):204-8; discussion 56.
160. Parving HH, Viberti GC, Keen H, Christiansen JS, Lassen NA. Hemodynamic factors in the genesis of diabetic microangiopathy. Metabolism. 1983;32(9):943-9.
161. Rayman G, Williams SA, Spencer PD, Smaje LH, Wise PH, Tooke JE. Impaired microvascular hyperaemic response to minor skin trauma in type I diabetes. Br Med J (Clin Res Ed). 1986;292(6531):1295-8.
162. Zimny S, Dessel F, Ehren M, Pfohl M, Schatz H. Early detection of microcirculatory impairment in diabetic patients with foot at risk. Diabetes Care. 2001;24(10):1810-4.
163. Vane JR, Anggård EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. N Engl J Med. 1990;323(1):27-36.
164. Veves A, Akbari CM, Primavera J, Donaghue VM, Zacharoulis D, Chrzan JS, et al. Endothelial dysfunction and the expression of endothelial nitric oxide synthetase in diabetic neuropathy, vascular disease, and foot ulceration. Diabetes. 1998;47(3):457-63.
165. Caballero AE, Arora S, Saouaf R, Lim SC, Smakowski P, Park JY, et al. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. Diabetes. 1999;48(9):1856-62.
166. Szabó C, Zanchi A, Komjáti K, Pacher P, Krolewski AS, Quist WC, et al. Poly(ADP-Ribose) polymerase is activated in subjects at risk of developing type 2 diabetes and is associated with impaired vascular reactivity. Circulation. 2002;106(21):2680-6.

167. Arora S, Pomposelli F, LoGerfo FW, Veves A. Cutaneous microcirculation in the neuropathic diabetic foot improves significantly but not completely after successful lower extremity revascularization. J Vasc Surg. 2002;35(3):501-5.
168. Caselli A, Rich J, Hanane T, Uccioli L, Veves A. Role of C-nociceptive fibers in the nerve axon reflex-related vasodilation in diabetes. Neurology. 2003;60(2):297-300.
169. Hamdy O, Abou-Elenin K, LoGerfo FW, Horton ES, Veves A. Contribution of nerve-axon reflex-related vasodilation to the total skin vasodilation in diabetic patients with and without neuropathy. Diabetes Care. 2001;24(2):344-9.
170. Parkhouse N, Le Quesne PM. Impaired neurogenic vascular response in patients with diabetes and neuropathic foot lesions. N Engl J Med. 1988;318(20):1306-9.
171. Monteiro-Soares M, Russell D, Boyko EJ, Jeffcoate W, Mills JL, Morbach S, et al. Guidelines on the classification of diabetic foot ulcers (IWGDF 2019). Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3273.
172. Boulton AJ, Armstrong DG, Albert SF, Frykberg RG, Hellman R, Kirkman MS, et al. Comprehensive foot examination and risk assessment: a report of the task force of the foot care interest group of the American Diabetes Association, with endorsement by the American Association of Clinical Endocrinologists. Diabetes Care. 2008;31(8):1679-85.
173. Crawford F, Cezard G, Chappell FM, Murray GD, Price JF, Sheikh A, et al. A systematic review and individual patient data meta-analysis of prognostic factors for foot ulceration in people with diabetes: the international research collaboration for the prediction of diabetic foot ulcerations (PODUS). Health Technol Assess. 2015;19(57):1-210.
174. Bakker K, Apelqvist J, Lipsky BA, Van Netten JJ, Schaper NC. The 2015 IWGDF guidance on the prevention and management of foot problems in diabetes. Int Wound J. 2016;13(5):1072.
175. Тодорова А, Димова Р, Чакърова Н, Сердарова М, Танкова Ц. Основни характеристики на пациенти със захарен диабет в различни рискови категории за развитие на диабетно стъпало. Наука Ендокринология. 2021;1(1):13-21.
176. Lavery LA, Peters EJ, Williams JR, Murdoch DP, Hudson A, Lavery DC, et al. Reevaluating the way we classify the diabetic foot: restructuring the diabetic foot risk classification system of the International Working Group on the Diabetic Foot. Diabetes Care. 2008;31(1):154-6.
177. GOLDNER MG. The fate of the second leg in the diabetic amputee. Diabetes. 1960;9:100-3.
178. Papanas N, Liakopoulos V, Maltezos E, Stefanidis I. The diabetic foot in end stage renal disease. Ren Fail. 2007;29(5):519-28.
179. Apelqvist J, Bakker K, van Houtum WH, Schaper NC, Board IWGotDFIE. Practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot: based upon the International Consensus on the Diabetic Foot (2007) Prepared by the International Working Group on the Diabetic Foot. Diabetes Metab Res Rev. 2008;24 Suppl 1:S181-7.
180. Rayman G, Vas PR, Baker N, Taylor CG, Gooday C, Alder AI, et al. The Ipswich Touch Test: a simple and novel method to identify inpatients with diabetes at risk of foot ulceration. Diabetes Care. 2011;34(7):1517-8.
181. Association AD. Peripheral arterial disease in people with diabetes. Diabetes Care. 2003;26(12):3333-41.

182. Fernando M, Crowther R, Lazzarini P, Sangla K, Cunningham M, Buttner P, et al. Biomechanical characteristics of peripheral diabetic neuropathy: A systematic review and meta-analysis of findings from the gait cycle, muscle activity and dynamic barefoot plantar pressure. Clin Biomech (Bristol, Avon). 2013;28(8):831-45.
183. Fernando ME, Crowther RG, Pappas E, Lazzarini PA, Cunningham M, Sangla KS, et al. Plantar pressure in diabetic peripheral neuropathy patients with active foot ulceration, previous ulceration and no history of ulceration: a meta-analysis of observational studies. PLoS One. 2014;9(6):e99050.
184. Lavery LA, Higgins KR, Lanctot DR, Constantinides GP, Zamorano RG, Armstrong DG, et al. Home monitoring of foot skin temperatures to prevent ulceration. Diabetes Care. 2004;27(11):2642-7.
185. Lavery LA, Higgins KR, Lanctot DR, Constantinides GP, Zamorano RG, Athanasiou KA, et al. Preventing diabetic foot ulcer recurrence in high-risk patients: use of temperature monitoring as a self-assessment tool. Diabetes Care. 2007;30(1):14-20.
186. Armstrong DG, Holtz-Neiderer K, Wendel C, Mohler MJ, Kimbriel HR, Lavery LA. Skin temperature monitoring reduces the risk for diabetic foot ulceration in high-risk patients. Am J Med. 2007;120(12):1042-6.
187. Reiber GE, Vileikyte L, Boyko EJ, del Aguila M, Smith DG, Lavery LA, et al. Causal pathways for incident lower-extremity ulcers in patients with diabetes from two settings. Diabetes Care. 1999;22(1):157-62.
188. Waaijman R, de Haart M, Arts ML, Wever D, Verlouw AJ, Nollet F, et al. Risk factors for plantar foot ulcer recurrence in neuropathic diabetic patients. Diabetes Care. 2014;37(6):1697-705.
189. van Netten JJ, Bril A, van Baal JG. The effect of flexor tenotomy on healing and prevention of neuropathic diabetic foot ulcers on the distal end of the toe. J Foot Ankle Res. 2013;6(1):3.
190. Mueller MJ, Sinacore DR, Hastings MK, Strube MJ, Johnson JE. Effect of Achilles tendon lengthening on neuropathic plantar ulcers. A randomized clinical trial. J Bone Joint Surg Am. 2003;85(8):1436-45.
191. Armstrong DG, Lavery LA, Sariaya M, Ashry H. Leukocytosis is a poor indicator of acute osteomyelitis of the foot in diabetes mellitus. J Foot Ankle Surg. 1996;35(4):280-3.
192. Murty MS, Sharma UK, Pandey VB, Kankare SB. Serum cystatin C as a marker of renal function in detection of early acute kidney injury. Indian J Nephrol. 2013;23(3):180-3.
193. Mathews PM, Levy E. Cystatin C in aging and in Alzheimer's disease. Ageing Res Rev. 2016;32:38-50.
194. Angelidis C, Deftereos S, Giannopoulos G, Anatoliotakis N, Bouras G, Hatzis G, et al. Cystatin C: an emerging biomarker in cardiovascular disease. Curr Top Med Chem. 2013;13(2):164-79.
195. Ai L, Hu Y, Zhang X, Zeng H, Zhao J, Chai Y, et al. High cystatin C levels predict undesirable outcome for diabetic foot ulcerations. Wound Repair Regen. 2016;24(3):560-7.
196. Liu F, Shen J, Zhao J, Zeng H, Li L, Lu F, et al. Cystatin C: a strong marker for lower limb ischemia in Chinese type 2 diabetic patients? PLoS One. 2013;8(7):e66907.
197. Gerdes N, Sukhova GK, Libby P, Reynolds RS, Young JL, Schönbeck U. Expression of interleukin (IL)-18 and functional IL-18 receptor on human vascular endothelial cells,

smooth muscle cells, and macrophages: implications for atherogenesis. J Exp Med. 2002;195(2):245-57.
198. Gracie JA, Robertson SE, McInnes IB. Interleukin-18. J Leukoc Biol. 2003;73(2):213-24.
199. Dinarello CA. Interleukin-18 and the pathogenesis of inflammatory diseases. Semin Nephrol. 2007;27(1):98-114.
200. Tripodi D, Maccauro G, Anogeianaki A, Castellani ML, Pandolfi F, Felaco P, et al. Impact of IL-18 on inflammation. J Biol Regul Homeost Agents. 2011;25(1):7-11.
201. Mallat Z, Corbaz A, Scoazec A, Besnard S, Lesèche G, Chvatchko Y, et al. Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability. Circulation. 2001;104(14):1598-603.
202. Zirlik A, Abdullah SM, Gerdes N, MacFarlane L, Schönbeck U, Khera A, et al. Interleukin-18, the metabolic syndrome, and subclinical atherosclerosis: results from the Dallas Heart Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27(9):2043-9.
203. Everett BM, Bansal S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Interleukin-18 and the risk of future cardiovascular disease among initially healthy women. Atherosclerosis. 2009;202(1):282-8.
204. Hivert MF, Sun Q, Shrader P, Mantzoros CS, Meigs JB, Hu FB. Circulating IL-18 and the risk of type 2 diabetes in women. Diabetologia. 2009;52(10):2101-8.
205. Fujita T, Ogihara N, Kamura Y, Satomura A, Fuke Y, Shimizu C, et al. Interleukin-18 contributes more closely to the progression of diabetic nephropathy than other diabetic complications. Acta Diabetol. 2012;49(2):111-7.
206. Sabuncu T, Eren MA, Tabur S, Dag OF, Boduroglu O. High serum concentration of interleukin-18 in diabetic patients with foot ulcers. J Am Podiatr Med Assoc. 2014;104(3):222-6.
207. Marasciulo FL, Montagnani M, Potenza MA. Endothelin-1: the yin and yang on vascular function. Curr Med Chem. 2006;13(14):1655-65.
208. Kalani M. The importance of endothelin-1 for microvascular dysfunction in diabetes. Vasc Health Risk Manag. 2008;4(5):1061-8.
209. Bakrania B, Duncan J, Warrington JP, Granger JP. The Endothelin Type A Receptor as a Potential Therapeutic Target in Preeclampsia. Int J Mol Sci. 2017;18(3).
210. Barst RJ. Sitaxsentan: a selective endothelin-A receptor antagonist, for the treatment of pulmonary arterial hypertension. Expert Opin Pharmacother. 2007;8(1):95-109.
211. Böhm F, Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. Cardiovasc Res. 2007;76(1):8-18.
212. Tsui JC, Dashwood MR. A role for endothelin-1 in peripheral vascular disease. Curr Vasc Pharmacol. 2005;3(4):325-32.
213. Pek SLT, Lim SC, Ang K, Kwan PY, Tang WE, Sum CF, et al. Endothelin-1 predicts incident diabetic peripheral neuropathy in Type 2 Diabetes: a cohort study. Eur J Endocrinol. 2020;182(4):429-38.
214. Atic R, Deveci E. Endothelin 1, NF-κB, and ADAM-15 expression in diabetic foot wounds. Bratisl Lek Listy. 2019;120(1):58-64.
215. Parise LV, Venton DL, Le Breton GC. Arachidonic acid-induced platelet aggregation is mediated by a thromboxane A2/prostaglandin H2 receptor interaction. J Pharmacol Exp Ther. 1984;228(1):240-4.

216. Cheng Y, Austin SC, Rocca B, Koller BH, Coffman TM, Grosser T, et al. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A2. Science. 2002;296(5567):539-41.
217. Negishi M, Sugimoto Y, Ichikawa A. Molecular mechanisms of diverse actions of prostanoid receptors. Biochim Biophys Acta. 1995;1259(1):109-19.
218. Naveh-Floman N, Moisseiev J. Prostanoids and thromboxane A2 involvement in diabetic retinopathy. Metab Pediatr Syst Ophthalmol. 1982;6(3-4):321-5.
219. Neri Serneri GG, Coccheri S, Marubini E, Violi F, Group DEiAVDiDDS. Picotamide, a combined inhibitor of thromboxane A2 synthase and receptor, reduces 2-year mortality in diabetics with peripheral arterial disease: the DAVID study. Eur Heart J. 2004;25(20):1845-52.
220. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. Arch Med Sci. 2013;9(2):191-200.
221. Fantuzzi G, Mazzone T. Adipose tissue and atherosclerosis: exploring the connection. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27(5):996-1003.
222. Boden G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. Diabetes. 1997;46(1):3-10.
223. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. J Clin Invest. 1996;97(11):2601-10.
224. Matsuda M, Shimomura I, Sata M, Arita Y, Nishida M, Maeda N, et al. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis. J Biol Chem. 2002;277(40):37487-91.
225. Tuttolomondo A, La Placa S, Di Raimondo D, Bellia C, Caruso A, Lo Sasso B, et al. Adiponectin, resistin and IL-6 plasma levels in subjects with diabetic foot and possible correlations with clinical variables and cardiovascular co-morbidity. Cardiovasc Diabetol. 2010;9:50.
226. Tuttolomondo A, Maida C, Pinto A. Diabetic foot syndrome as a possible cardiovascular marker in diabetic patients. J Diabetes Res. 2015;2015:268390.
227. Tuttolomondo A, Maida C, Pinto A. Diabetic foot syndrome: Immune-inflammatory features as possible cardiovascular markers in diabetes. World J Orthop. 2015;6(1):62-76.
228. Schäffler A, Neumeier M, Herfarth H, Fürst A, Schölmerich J, Büchler C. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. Biochim Biophys Acta. 2005;1732(1-3):96-102.
229. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006;290(6):E1253-61.
230. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. Diabetes. 2007;56(6):1655-61.
231. Yamawaki H, Tsubaki N, Mukohda M, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. Biochem Biophys Res Commun. 2010;393(4):668-72.
232. Yamawaki H, Kuramoto J, Kameshima S, Usui T, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun. 2011;408(2):339-43.

233. Biscetti F, Nardella E, Bonadia N, Angelini F, Pitocco D, Santoliquido A, et al. Association between plasma omentin-1 levels in type 2 diabetic patients and peripheral artery disease. Cardiovasc Diabetol. 2019;18(1):74.
234. Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, Takahashi R, Takeshita K, Kataoka Y, et al. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. Atherosclerosis. 2011;219(2):811-4.
235. Yoo HJ, Hwang SY, Hong HC, Choi HY, Yang SJ, Seo JA, et al. Association of circulating omentin-1 level with arterial stiffness and carotid plaque in type 2 diabetes. Cardiovasc Diabetol. 2011;10:103.
236. Matsuo K, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Uemura Y, Hiramatsu-Ito M, et al. Omentin functions to attenuate cardiac hypertrophic response. J Mol Cell Cardiol. 2015;79:195-202.
237. Narumi T, Watanabe T, Kadowaki S, Kinoshita D, Yokoyama M, Honda Y, et al. Impact of serum omentin-1 levels on cardiac prognosis in patients with heart failure. Cardiovasc Diabetol. 2014;13:84.
238. Niersmann C, Carstensen-Kirberg M, Maalmi H, Holleczek B, Roden M, Brenner H, et al. Higher circulating omentin is associated with increased risk of primary cardiovascular events in individuals with diabetes. Diabetologia. 2020;63(2):410-8.
239. Pan HY, Guo L, Li Q. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract. 2010;88(1):29-33.
240. Herder C, Ouwens DM, Carstensen M, Kowall B, Huth C, Meisinger C, et al. Adiponectin may mediate the association between omentin, circulating lipids and insulin sensitivity: results from the KORA F4 study. Eur J Endocrinol. 2015;172(4):423-32.
241. Herder C, Bongaerts BW, Ouwens DM, Rathmann W, Heier M, Carstensen-Kirberg M, et al. Low serum omentin levels in the elderly population with Type 2 diabetes and polyneuropathy. Diabet Med. 2015;32(11):1479-83.
242. Ernst MC, Sinal CJ. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. Trends Endocrinol Metab. 2010;21(11):660-7.
243. Neves KB, Nguyen Dinh Cat A, Lopes RA, Rios FJ, Anagnostopoulou A, Lobato NS, et al. Chemerin Regulates Crosstalk Between Adipocytes and Vascular Cells Through Nox. Hypertension. 2015;66(3):657-66.
244. Gu P, Cheng M, Hui X, Lu B, Jiang W, Shi Z. Elevating circulation chemerin level is associated with endothelial dysfunction and early atherosclerotic changes in essential hypertensive patients. J Hypertens. 2015;33(8):1624-32.
245. Liang Z, Yu K, Wu B, Zhong Y, Zeng Q. [The elevated levels of plasma chemerin and C-reactive protein in patients with acute coronary syndrome]. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. 2015;31(7):953-6.
246. Aksan G, İnci S, Nar G, Soylu K, Gedikli Ö, Yüksel S, et al. Association of serum chemerin levels with the severity of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. Int J Clin Exp Med. 2014;7(12):5461-8.
247. Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Ramírez B, Valentí V, Moncada R, et al. Peripheral mononuclear blood cells contribute to the obesity-associated inflammatory state independently of glycemic status: involvement of the novel proinflammatory adipokines chemerin, chitinase-3-like protein 1, lipocalin-2 and osteopontin. Genes Nutr. 2015;10(3):460.

248. Fatima SS, Butt Z, Bader N, Pathan AZ, Hussain S, Iqbal NT. Role of multifunctional Chemerin in obesity and preclinical diabetes. Obes Res Clin Pract. 2015;9(5):507-12.
249. Bobbert T, Schwarz F, Fischer-Rosinsky A, Maurer L, Möhlig M, Pfeiffer AF, et al. Chemerin and prediction of Diabetes mellitus type 2. Clin Endocrinol (Oxf). 2015;82(6):838-43.
250. Zhou Z, Chen H, Ju H, Sun M. Circulating chemerin levels and gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. Lipids Health Dis. 2018;17(1):169.
251. Li Y, Shi B, Li S. Association between serum chemerin concentrations and clinical indices in obesity or metabolic syndrome: a meta-analysis. PLoS One. 2014;9(12):e113915.
252. Gu P, Wang W, Yao Y, Xu Y, Wang L, Zang P, et al. Increased Circulating Chemerin in Relation to Chronic Microvascular Complications in Patients with Type 2 Diabetes. Int J Endocrinol. 2019;2019:8693516.
253. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. Science. 2005;307(5708):426-30.
254. Kralisch S, Klein J, Lossner U, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, et al. Interleukin-6 is a negative regulator of visfatin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2005;289(4):E586-90.
255. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, et al. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91(1):295-9.
256. Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. Mol Cell Biol. 1994;14(2):1431-7.
257. El Samahi MH, Ismail NA, Matter RM, Selim A, Ibrahim AA, Nabih W. Study of Visfatin Level in Type 1 Diabetic Children and Adolescents. Open Access Maced J Med Sci. 2017;5(3):299-304.
258. Kamińska A, Kopczyńska E, Bieliński M, Borkowska A, Junik R. Visfatin concentrations in obese patients in relation to the presence of newly diagnosed glucose metabolism disorders. Endokrynol Pol. 2015;66(2):108-13.
259. Kong Q, Xia M, Liang R, Li L, Cu X, Sun Z, et al. Increased serum visfatin as a risk factor for atherosclerosis in patients with ischaemic cerebrovascular disease. Singapore Med J. 2014;55(7):383-7.
260. Zheng LY, Xu X, Wan RH, Xia S, Lu J, Huang Q. Association between serum visfatin levels and atherosclerotic plaque in patients with type 2 diabetes. Diabetol Metab Syndr. 2019;11:60.
261. Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, Øie E, Dahl A, Michelsen A, et al. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. Circulation. 2007;115(8):972-80.
262. Hung WC, Yu TH, Hsu CC, Lu LF, Chung FM, Tsai IT, et al. Plasma visfatin levels are associated with major adverse cardiovascular events in patients with acute ST-elevation myocardial infarction. Clin Invest Med. 2015;38(3):E100-9.
263. Kadoglou NP, Fotiadis G, Lambadiari V, Maratou E, Dimitriadis G, Liapis CD. Serum levels of novel adipokines in patients with acute ischemic stroke: potential contribution to diagnosis and prognosis. Peptides. 2014;57:12-6.

264. Kobat MA, Celik A, Balin M, Altas Y, Baydas A, Bulut M, et al. The investigation of serum vaspin level in atherosclerotic coronary artery disease. J Clin Med Res. 2012;4(2):110-3.
265. Aust G, Richter O, Rohm S, Kerner C, Hauss J, Klöting N, et al. Vaspin serum concentrations in patients with carotid stenosis. Atherosclerosis. 2009;204(1):262-6.
266. Kadoglou NP, Gkontopoulos A, Kapelouzou A, Fotiadis G, Theofilogiannakos EK, Kottas G, et al. Serum levels of vaspin and visfatin in patients with coronary artery disease-Kozani study. Clin Chim Acta. 2011;412(1-2):48-52.
267. Al-Azzam SI, Alzoubi KH, Abeeleh JA, Mhaidat NM, Abu-Abeeleh M. Effect of statin therapy on vaspin levels in type 2 diabetic patients. Clin Pharmacol. 2013;5:33-8.
268. Youn BS, Klöting N, Kratzsch J, Lee N, Park JW, Song ES, et al. Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. Diabetes. 2008;57(2):372-7.
269. Jian W, Peng W, Xiao S, Li H, Jin J, Qin L, et al. Role of serum vaspin in progression of type 2 diabetes: a 2-year cohort study. PLoS One. 2014;9(4):e94763.
270. Ye Y, Hou XH, Pan XP, Lu JX, Jia WP. Serum vaspin level in relation to postprandial plasma glucose concentration in subjects with diabetes. Chin Med J (Engl). 2009;122(21):2530-3.
271. Gulcelik NE, Karakaya J, Gedik A, Usman A, Gurlek A. Serum vaspin levels in type 2 diabetic women in relation to microvascular complications. Eur J Endocrinol. 2009;160(1):65-70.
272. Zovich DC, Orologa A, Okuno M, Kong LW, Talmage DA, Piantedosi R, et al. Differentiation-dependent expression of retinoid-binding proteins in BFC-1 beta adipocytes. J Biol Chem. 1992;267(20):13884-9.
273. Tsutsumi C, Okuno M, Tannous L, Piantedosi R, Allan M, Goodman DS, et al. Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. J Biol Chem. 1992;267(3):1805-10.
274. Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. Nature. 2005;436(7049):356-62.
275. Graham TE, Yang Q, Blüher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. N Engl J Med. 2006;354(24):2552-63.
276. Umeno A, Yoshino K, Hashimoto Y, Shichiri M, Kataoka M, Yoshida Y. Multi-Biomarkers for Early Detection of Type 2 Diabetes, Including 10- and 12-(Z,E)-Hydroxyoctadecadienoic Acids, Insulin, Leptin, and Adiponectin. PLoS One. 2015;10(7):e0130971.
277. Ram J, Snehalatha C, Selvam S, Nanditha A, Shetty AS, Godsland IF, et al. Retinol binding protein-4 predicts incident diabetes in Asian Indian men with prediabetes. Biofactors. 2015;41(3):160-5.
278. Jin C, Lin L, Han N, Zhao Z, Liu Z, Luo S, et al. Plasma retinol-binding protein 4 in the first and second trimester and risk of gestational diabetes mellitus in Chinese women: a nested case-control study. Nutr Metab (Lond). 2020;17:1.
279. Li F, Xia K, Li C, Yang T. Retinol-binding protein 4 as a novel risk factor for cardiovascular disease in patients with coronary artery disease and hyperinsulinemia. Am J Med Sci. 2014;348(6):474-9.

280. Wang J, Chen H, Liu Y, Zhou W, Sun R, Xia M. Retinol binding protein 4 induces mitochondrial dysfunction and vascular oxidative damage. Atherosclerosis. 2015;240(2):335-44.
281. Vanoli D, Lindqvist P, Wiklund U, Henein M, Näslund U. Fully automated on-screen carotid intima-media thickness measurement: a screening tool for subclinical atherosclerosis. J Clin Ultrasound. 2013;41(6):333-9.
282. Polak JF, Pencina MJ, Pencina KM, O'Donnell CJ, Wolf PA, D'Agostino RB. Carotid-wall intima-media thickness and cardiovascular events. N Engl J Med. 2011;365(3):213-21.
283. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, Bailey CJ, Ceriello A, Delgado V, et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. Eur Heart J. 2020;41(2):255-323.
284. Zhang M, Wen X, Zhou C, Huang J, He Y. Carotid intima-media thickness and plaques in internal carotid artery as surrogate markers of lower limb arterial lesions in Chinese patients with diabetic foot. Braz J Med Biol Res. 2019;52(7):e8432.
285. Aerden D, Massaad D, von Kemp K, van Tussenbroek F, Debing E, Keymeulen B, et al. The ankle--brachial index and the diabetic foot: a troublesome marriage. Ann Vasc Surg. 2011;25(6):770-7.
286. Tay WL, Lo ZJ, Hong Q, Yong E, Chandrasekar S, Tan GWL. Toe Pressure in Predicting Diabetic Foot Ulcer Healing: A Systematic Review and Meta-analysis. Ann Vasc Surg. 2019;60:371-8.
287. Korzon-Burakowska A, Dziemidok P. Diabetic foot - the need for comprehensive multidisciplinary approach. Ann Agric Environ Med. 2011;18(2):314-7.
288. Dinh T, Veves A. The influence of gender as a risk factor in diabetic foot ulceration. Wounds. 2008;20(5):127-31.
289. Pataky Z, Vischer U. Diabetic foot disease in the elderly. Diabetes Metab. 2007;33 Suppl 1:S56-65.
290. Nehring P, Mrozikiewicz-Rakowska B, Krzyżewska M, Sobczyk-Kopcioł A, Płoski R, Broda G, et al. Diabetic foot risk factors in type 2 diabetes patients: a cross-sectional case control study. J Diabetes Metab Disord. 2014;13:79.
291. Sunkari VG, Botusan IR, Savu O, Grünler J, Zheng X, Gustafsson J, et al. Selective blockade of estrogen receptor beta improves wound healing in diabetes. Endocrine. 2014;46(2):347-50.
292. Kamenov ZA, Parapunova RA, Georgieva RT. Earlier development of diabetic neuropathy in men than in women with type 2 diabetes mellitus. Gend Med. 2010;7(6):600-15.
293. Zhuge Y, Regueiro MM, Tian R, Li Y, Xia X, Vazquez-Padron R, et al. The effect of estrogen on diabetic wound healing is mediated through increasing the function of various bone marrow-derived progenitor cells. J Vasc Surg. 2018;68(6S):127S-35S.
294. Han Y, Li X, Zhou S, Meng G, Xiao Y, Zhang W, et al. 17ß-estradiol antagonizes the down-regulation of ERα/NOS-3 signaling in vascular endothelial dysfunction of female diabetic rats. PLoS One. 2012;7(11):e50402.
295. Giddabasappa A, Eswaraka JR, Barrett CM, Bauler MN, Wu Z, Yepuru M, et al. β-LGND2, an ERβ selective agonist, inhibits pathologic retinal neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012;53(8):5066-75.

296. Botusan IR, Sunkari VG, Savu O, Catrina AI, Grünler J, Lindberg S, et al. Stabilization of HIF-1alpha is critical to improve wound healing in diabetic mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105(49):19426-31.
297. Kalinchenko S, Zemlyanoy A, Gooren LJ. Improvement of the diabetic foot upon testosterone administration to hypogonadal men with peripheral arterial disease. Report of three cases. Cardiovasc Diabetol. 2009;8:19.
298. Haslam DW, James WP. Obesity. Lancet. 2005;366(9492):1197-209.
299. Pinzur M, Freeland R, Juknelis D. The association between body mass index and foot disorders in diabetic patients. Foot Ankle Int. 2005;26(5):375-7.
300. Sohn MW, Budiman-Mak E, Lee TA, Oh E, Stuck RM. Significant J-shaped association between body mass index (BMI) and diabetic foot ulcers. Diabetes Metab Res Rev. 2011;27(4):402-9.
301. Sohn MW, Budiman-Mak E, Oh EH, Park MS, Stuck RM, Stone NJ, et al. Obesity paradox in amputation risk among nonelderly diabetic men. Obesity (Silver Spring). 2012;20(2):460-2.
302. Lin CW, Hsu BR, Tsai JS, Yang HM, Lin JR, Lin CH, et al. Effect of limb preservation status and body mass index on the survival of patients with limb-threatening diabetic foot ulcers. J Diabetes Complications. 2017;31(1):180-5.
303. Karam T, Kamath YS, Rao LG, Rao KA, Shenoy SB, Bhandary SV. Diabetic retinopathy in patients with diabetic foot syndrome in South India. Indian J Ophthalmol. 2018;66(4):547-50.
304. Hwang DJ, Lee KM, Park MS, Choi SH, Park JI, Cho JH, et al. Association between diabetic foot ulcer and diabetic retinopathy. PLoS One. 2017;12(4):e0175270.
305. Ndip A, Rutter MK, Vileikyte L, Vardhan A, Asari A, Jameel M, et al. Dialysis treatment is an independent risk factor for foot ulceration in patients with diabetes and stage 4 or 5 chronic kidney disease. Diabetes Care. 2010;33(8):1811-6.
306. Selby NM, Taal MW. An updated overview of diabetic nephropathy: Diagnosis, prognosis, treatment goals and latest guidelines. Diabetes Obes Metab. 2020;22 Suppl 1:3-15.
307. Vatankhah N, Jahangiri Y, Landry GJ, Moneta GL, Azarbal AF. Effect of systemic insulin treatment on diabetic wound healing. Wound Repair Regen. 2017;25(2):288-91.
308. Тодорова А. Диагностика и лечение на инфекции при диабетно стъпало. Ендокринология. 2018;1(1):3-13.
309. Armstrong DG, Perales TA, Murff RT, Edelson GW, Welchon JG. Value of white blood cell count with differential in the acute diabetic foot infection. J Am Podiatr Med Assoc. 1996;86(5):224-7.
310. van Asten SA, Jupiter DC, Mithani M, La Fontaine J, Davis KE, Lavery LA. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein to monitor treatment outcomes in diabetic foot osteomyelitis. Int Wound J. 2017;14(1):142-8.
311. Каменов З. Клинични и експериментални изследвания при диабетна невропатия 2010.
312. Weerasuriya N, Siribaddana S, Wijeweera I, Dissanayeka A, Wijesekera J, Fernando DJ. The prevalence of peripheral neuropathy in newly diagnosed patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Ceylon Med J. 1998;43(1):19-21.
313. Lehtinen JM, Uusitupa M, Siitonen O, Pyörälä K. Prevalence of neuropathy in newly diagnosed NIDDM and nondiabetic control subjects. Diabetes. 1989;38(10):1307-13.

314. 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.
315. Herman WH, Pop-Busui R, Braffett BH, Martin CL, Cleary PA, Albers JW, et al. Use of the Michigan Neuropathy Screening Instrument as a measure of distal symmetrical peripheral neuropathy in Type 1 diabetes: results from the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications. Diabet Med. 2012;29(7):937-44.
316. Kitada M, Zhang Z, Mima A, King GL. Molecular mechanisms of diabetic vascular complications. J Diabetes Investig. 2010;1(3):77-89.
317. Ponirakis G, Petropoulos IN, Alam U, Ferdousi M, Asghar O, Marshall A, et al. Hypertension Contributes to Neuropathy in Patients With Type 1 Diabetes. Am J Hypertens. 2019;32(8):796-803.
318. Gregory JA, Jolivalt CG, Goor J, Mizisin AP, Calcutt NA. Hypertension-induced peripheral neuropathy and the combined effects of hypertension and diabetes on nerve structure and function in rats. Acta Neuropathol. 2012;124(4):561-73.
319. Gabriel R, Boukichou Abdelkader N, Acosta T, Gilis-Januszewska A, Gómez-Huelgas R, Makrilakis K, et al. Early prevention of diabetes microvascular complications in people with hyperglycaemia in Europe. ePREDICE randomized trial. Study protocol, recruitment and selected baseline data. PLoS One. 2020;15(4):e0231196.
320. Selvarajah D, Cash T, Davies J, Sankar A, Rao G, Grieg M, et al. SUDOSCAN: A Simple, Rapid, and Objective Method with Potential for Screening for Diabetic Peripheral Neuropathy. PLoS One. 2015;10(10):e0138224.
321. Mao F, Liu S, Qiao X, Zheng H, Xiong Q, Wen J, et al. Sudoscan is an effective screening method for asymptomatic diabetic neuropathy in Chinese type 2 diabetes mellitus patients. J Diabetes Investig. 2017;8(3):363-8.
322. Calvet JH, Dupin J, Winiecki H, Schwarz PE. Assessment of small fiber neuropathy through a quick, simple and non invasive method in a German diabetes outpatient clinic. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2013;121(2):80-3.
323. Liu X, Xu Y, An M, Zeng Q. The risk factors for diabetic peripheral neuropathy: A meta-analysis. PLoS One. 2019;14(2):e0212574.
324. Prompers L, Schaper N, Apelqvist J, Edmonds M, Jude E, Mauricio D, et al. Prediction of outcome in individuals with diabetic foot ulcers: focus on the differences between individuals with and without peripheral arterial disease. The EURODIALE Study. Diabetologia. 2008;51(5):747-55.
325. Spångéus A, Wijkman M, Lindström T, Engvall JE, Östgren CJ, Nystrom FH, et al. Toe brachial index in middle aged patients with diabetes mellitus type 2: not just a peripheral issue. Diabetes Res Clin Pract. 2013;100(2):195-202.
326. Ababneh M, Al Ayed MY, Robert AA, Al Dawish MA. Clinical Utility of the Ankle-Brachial Index and Toe Brachial Index in Patients with Diabetic Foot Ulcers. Curr Diabetes Rev. 2020;16(3):270-7.
327. Fukui M, Tanaka M, Hamaguchi M, Senmaru T, Sakabe K, Asano M, et al. Toe-brachial index is associated more strongly with albuminuria or glomerular filtration rate than ankle-brachial index in patients with type 2 diabetes. Hypertens Res. 2012;35(7):745-9.

328. Maas AH, Appelman YE. Gender differences in coronary heart disease. Neth Heart J. 2010;18(12):598-602.
329. Stehouwer CD, Smulders YM. Microalbuminuria and risk for cardiovascular disease: Analysis of potential mechanisms. J Am Soc Nephrol. 2006;17(8):2106-11.
330. Beckman JA, Duncan MS, Damrauer SM, Wells QS, Barnett JV, Wasserman DH, et al. Microvascular Disease, Peripheral Artery Disease, and Amputation. Circulation. 2019;140(6):449-58.
331. Liu A, Yu Z, Wang N, Wang W. Carotid atherosclerosis is associated with hypertension in a hospital-based retrospective cohort. Int J Clin Exp Med. 2015;8(11):21932-8.
332. Drinkwater JJ, Davis TME, Davis WA. The relationship between carotid disease and retinopathy in diabetes: a systematic review. Cardiovasc Diabetol. 2020;19(1):54.
333. Tuttolomondo A, Casuccio A, Guercio G, Maida C, Del Cuore A, Di Raimondo D, et al. Arterial stiffness, endothelial and cognitive function in subjects with type 2 diabetes in accordance with absence or presence of diabetic foot syndrome. Cardiovasc Diabetol. 2017;16(1):2.
334. Geng S, Chen K, Yuan R, Peng L, Maitra U, Diao N, et al. The persistence of low-grade inflammatory monocytes contributes to aggravated atherosclerosis. Nat Commun. 2016;7:13436.
335. Nagayama D, Imamura H, Sato Y, Yamaguchi T, Ban N, Kawana H, et al. Inverse relationship of cardioankle vascular index with BMI in healthy Japanese subjects: a cross-sectional study. Vasc Health Risk Manag. 2017;13:1-9.
336. Nagayama D, Endo K, Ohira M, Yamaguchi T, Ban N, Kawana H, et al. Effects of body weight reduction on cardio-ankle vascular index (CAVI). Obes Res Clin Pract. 2013;7(2):e139-e45.
337. Gohda T, Gotoh H, Gotoh Y, Yamaguchi S, Tomino Y. Association of the cardioankle vascular index and ankle-brachial index with carotid artery intima media thickness in hemodialysis patients. Int J Nephrol. 2013;2013:401525.
338. Dietrich I, Braga GA, de Melo FG, da Costa Silva Silva ACC. The Diabetic Foot as a Proxy for Cardiovascular Events and Mortality Review. Curr Atheroscler Rep. 2017;19(11):44.
339. Pichu S, Patel BM, Apparsundaram S, Goyal RK. Role of biomarkers in predicting diabetes complications with special reference to diabetic foot ulcers. Biomark Med. 2017;11(4):377-88.
340. Wang Y, Shao T, Wang J, Huang X, Deng X, Cao Y, et al. An update on potential biomarkers for diagnosing diabetic foot ulcer at early stage. Biomed Pharmacother. 2021;133:110991.
341. Jeon YL, Kim MH, Lee WI, Kang SY. Cystatin C as an early marker of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. Clin Lab. 2013;59(11-12):1221-9.
342. Ogawa Y, Goto T, Tamasawa N, Matsui J, Tando Y, Sugimoto K, et al. Serum cystatin C in diabetic patients. Not only an indicator for renal dysfunction in patients with overt nephropathy but also a predictor for cardiovascular events in patients without nephropathy. Diabetes Res Clin Pract. 2008;79(2):357-61.

343. Mao F, Liu S, Qiao X, Zheng H, Xiong Q, Wen J, et al. SUDOSCAN, an effective tool for screening chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes. Exp Ther Med. 2017;14(2):1343-50.
344. Odden MC, Tager IB, Gansevoort RT, Bakker SJ, Katz R, Fried LF, et al. Age and cystatin C in healthy adults: a collaborative study. Nephrol Dial Transplant. 2010;25(2):463-9.
345. Muntner P, Winston J, Uribarri J, Mann D, Fox CS. Overweight, obesity, and elevated serum cystatin C levels in adults in the United States. Am J Med. 2008;121(4):341-8.
346. Ma CC, Duan CC, Huang RC, Tang HQ. Association of circulating cystatin C levels with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. Arch Med Sci. 2020;16(3):648-56.
347. Kameshima S, Sakamoto Y, Okada M, Yamawaki H. Vaspin prevents elevation of blood pressure through inhibition of peripheral vascular remodelling in spontaneously hypertensive rats. Acta Physiol (Oxf). 2016;217(2):120-9.
348. Pan X, Kaminga AC, Wen SW, Acheampong K, Liu A. Omentin-1 in diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2019;14(12):e0226292.
349. Markova A, Boyanov M, Bakalov D, Kundurdjiev A, Tsakova A. Cardiovascular Biomarkers and Calculated Cardiovascular Risk in Orally Treated Type 2 Diabetes Patients: Is There a Link? Horm Metab Res. 2021;53(1):41-8.
350. Salvatore S, Vingolo EM. Endothelin-1 role in human eye: a review. J Ophthalmol. 2010;2010:354645.
351. Skurk T, Kolb H, Müller-Scholze S, Röhrig K, Hauner H, Herder C. The proatherogenic cytokine interleukin-18 is secreted by human adipocytes. Eur J Endocrinol. 2005;152(6):863-8.
352. Гатева А. Предиабет2020.
353. Yaribeygi H, Atkin SL, Sahebkar A. Interleukin-18 and diabetic nephropathy: A review. J Cell Physiol. 2019;234(5):5674-82.
354. Karamfilova V, Gateva A, Alexiev A, Zheleva N, Velikova T, Ivanova-Boyanova R, et al. The association between retinol-binding protein 4 and prediabetes in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. Arch Physiol Biochem. 2019:1-6.
355. Jeyaraman K, Berhane T, Hamilton M, Chandra AP, Falhammar H. Mortality in patients with diabetic foot ulcer: a retrospective study of 513 cases from a single Centre in the Northern Territory of Australia. BMC Endocr Disord. 2019;19(1):1.
356. Raghavan S, Vassy JL, Ho YL, Song RJ, Gagnon DR, Cho K, et al. Diabetes Mellitus-Related All-Cause and Cardiovascular Mortality in a National Cohort of Adults. J Am Heart Assoc. 2019;8(4):e011295.
357. Dal Canto E, Ceriello A, Rydén L, Ferrini M, Hansen TB, Schnell O, et al. Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications. Eur J Prev Cardiol. 2019;26(2_suppl):25-32.
358. McEwen LN, Kim C, Karter AJ, Haan MN, Ghosh D, Lantz PM, et al. Risk factors for mortality among patients with diabetes: the Translating Research Into Action for Diabetes (TRIAD) Study. Diabetes Care. 2007;30(7):1736-41.
359. Li FR, Yang HL, Zhou R, Zheng JZ, Chen GC, Zou MC, et al. Diabetes duration and glycaemic control as predictors of cardiovascular disease and mortality. Diabetes Obes Metab. 2021;23(6):1361-70.

360. van Hecke MV, Dekker JM, Stehouwer CD, Polak BC, Fuller JH, Sjolie AK, et al. Diabetic retinopathy is associated with mortality and cardiovascular disease incidence: the EURODIAB prospective complications study. Diabetes Care. 2005;28(6):1383-9.
361. Afkarian M, Sachs MC, Kestenbaum B, Hirsch IB, Tuttle KR, Himmelfarb J, et al. Kidney disease and increased mortality risk in type 2 diabetes. J Am Soc Nephrol. 2013;24(2):302-8.
362. Cusick M, Meleth AD, Agrón E, Fisher MR, Reed GF, Knatterud GL, et al. Associations of mortality and diabetes complications in patients with type 1 and type 2 diabetes: early treatment diabetic retinopathy study report no. 27. Diabetes Care. 2005;28(3):617-25.
363. Forsblom CM, Sane T, Groop PH, Tötterman KJ, Kallio M, Saloranta C, et al. Risk factors for mortality in Type II (non-insulin-dependent) diabetes: evidence of a role for neuropathy and a protective effect of HLA-DR4. Diabetologia. 1998;41(11):1253-62.
364. Hsu WC, Chiu SY, Yen AM, Chen LS, Fann CY, Liao CS, et al. Somatic neuropathy is an independent predictor of all- and diabetes-related mortality in type 2 diabetic patients: a population-based 5-year follow-up study (KCIS No. 29). Eur J Neurol. 2012;19(9):1192-8.
365. Rathmann W, Ziegler D, Jahnke M, Haastert B, Gries FA. Mortality in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy. Diabet Med. 1993;10(9):820-4.
366. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, Freeman R. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a meta-analysis. Diabetes Care. 2003;26(6):1895-901.
367. Suarez GA, Clark VM, Norell JE, Kottke TE, Callahan MJ, O'Brien PC, et al. Sudden cardiac death in diabetes mellitus: risk factors in the Rochester diabetic neuropathy study. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2005;76(2):240-5.
368. Roumeliotis A, Roumeliotis S, Panagoutsos S, Theodoridis M, Argyriou C, Tavridou A, et al. Carotid intima-media thickness is an independent predictor of all-cause mortality and cardiovascular morbidity in patients with diabetes mellitus type 2 and chronic kidney disease. Ren Fail. 2019;41(1):131-8.
369. Murakami S, Otsuka K, Hotta N, Yamanaka G, Kubo Y, Matsuoka O, et al. Common carotid intima-media thickness is predictive of all-cause and cardiovascular mortality in elderly community-dwelling people: Longitudinal Investigation for the Longevity and Aging in Hokkaido County (LILAC) study. Biomed Pharmacother. 2005;59 Suppl 1:S49-53.
370. Hyun S, Forbang NI, Allison MA, Denenberg JO, Criqui MH, Ix JH. Ankle-brachial index, toe-brachial index, and cardiovascular mortality in persons with and without diabetes mellitus. J Vasc Surg. 2014;60(2):390-5.
371. Horn P, von Loeffelholz C, Forkert F, Stengel S, Reuken P, Aschenbach R, et al. Low circulating chemerin levels correlate with hepatic dysfunction and increased mortality in decompensated liver cirrhosis. Sci Rep. 2018;8(1):9242.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Neuropathy Disability Score (NDS)

		десен крак	ляв крак
Чувствителност при ‘убождане’ по плантарната повърхност на стъпалото / докосване с монофиламент	нормален = 0 нарушен = 1		
Чувствителност на кожата към топло/студено върху дорзалната повърхност на стъпалото	нормален = 0 нарушен = 1		
Вибрационен праг на усещане с камертон с честота 128Hz върху палеца на крака.	нормален = 0 нарушен = 1		
Ахилови рефлекси	запазени = 0 налични след разсейване = 1 липсващи = 2		

NDS ≥ 3 – ДН със загуба на протективен усет

NDS ≥ 6 – повишен риск от улцерации на стъпалото

Приложение 2. Мичигански инструмент за скрининг на невропатия (MNSI)

МИЧИГАНСКИ ИНСТРУМЕНТ ЗА СКРИНИГ НА НЕВРОПАТИЯ (MNSI)

А. Анамнеза (да се попълни от пациента)

Моля, да отговорите на следните въпроси за усещанията си в краката и стъпалата. Отбележете да или не според това как се чувствате обикновено. Благодарим.

АНАМНЕЗА	ДА	НЕ
1. Усещате ли краката и/или стъпалата си изтръпнали?	☐	☐
2. Имате ли изгаряща болка в краката и/или стъпалата си?	☐	☐
3. Твърде чувствителни ли са стъпалата Ви при допир?	☐	☐
4. Получавате ли мускулни крампи в краката и/или стъпалата си?	☐	☐
5. Имате ли усещане за мравучкане в краката или стъпалата си?	☐	☐
6. Боли ли Ви, когато завивките докосват кожата Ви?	☐	☐
7. Когато влизате във ваната или под душа, можете ли да различите топлата от студената вода?	☐	☐
8. Имали ли сте някога отворена рана на стъпалото?	☐	☐
9. Казвал ли Ви е Вашият лекар, че имате диабетна невропатия?	☐	☐
10. Чувствате ли слабост през повечето време?	☐	☐
11. Симптомите Ви влошават ли се през нощта?	☐	☐
12. Болят ли Ви краката докато ходите?	☐	☐
13. Усещате ли краката си докато ходите?	☐	☐
14. Кожата на стъпалата Ви толкова суха ли е, че се напуква?	☐	☐
15. Имали ли сте ампутация?	☐	☐
Общо брой точки:		

Б. Обективно изследване (да се попълни от лекаря)

1. **Външен вид на стъпалата**

Дясно	**Ляво**
а. Нормален 0. Да 1. Не	Нормален 0. Да 1. Не
б. Ако е „Не”, провери следните и огради:	Ако е „Не”, провери следните и огради:
Деформации	Деформации
Суха кожа, калус	Суха кожа, калус
Инфекция	Инфекция
Фисури	Фисури
Други:	Други: .....

2. **Улцерации**

Дясно	**Ляво**
0. Липсва 1. Налична	0. Липсва 1. Налична

3. **Ахилов рефлекс**

Дясно	**Ляво**
• 0. Липсва	0. Липсва
• 0.5. Наличен след Jendrassik maneuver	0.5. Наличен след Jendrassik maneuver
• 1. Наличен	1. Наличен

4. **Вибрационен усет на палеца на крака**

Дясно	**Ляво**
0.Наличен 0.5.Отслабен 1.Липсва	0.Наличен 0.5.Отслабен 1.Липсва

5. **Монофиламент - усет**

Дясно	**Ляво**
0.Нормален 0.5.Редуциран 1.Липсва	0.Нормален 0.5.Редуциран 1.Липсва

Подпис на лекаря:_____ Общ брой точки:_____/10 точки