

**Univerzita Karlova**

**2. lékařská fakulta**

Doktorský studijní program: Neurovědy



**MUDr. Veronika Potočková**

Poškození tenkých nervových vláken v periferním  
a autonomním nervovém systému u diabetiků

Small fiber neuropathy in peripheral and autonomic  
nervous system in patients with diabetes

Disertační práce

Školitel: MUDr. Radim Mazanec, Ph.D.

Praha, 2022

### **Prohlášení**

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

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

V Praze, 31. 5. 2022

VERONIKA POTOČKOVÁ

.....

## **Poděkování**

V první řadě děkuji svému školiteli MUDr. Radimu Mazancovi, Ph.D. za odborné vedení, motivaci a trpělivost v průběhu studia. Velké poděkování patří mým kolegyním MUDr. Šárce Malé, Ph.D., MUDr. Lucii Hoskovcové a MUDr. Marcelu Chudé za spolupráci při sběru a třídění dat, dále všem spoluautorům publikací, na jejichž podkladě byla sestavena tato disertační práce. V neposlední řadě děkuji prof. MUDr. Petru Marusičovi, Ph.D. a doc. MUDr. Aleši Tomkovi, Ph.D., že mi umožnili věnovat se postgraduálnímu studiu.

# Poškození tenkých nervových vláken v periferním a autonomním nervovém systému u diabetiků

## Abstrakt

Tato disertační práce chce upozornit na důležitost časně detekce poškození tenkých nervových vláken v somatickém a autonomním nervovém systému u diabetiků 1. a 2. typu (T1DM a T2DM). Pouze brzké stanovení diagnózy umožňuje předejít závažným komplikacím, které s sebou pokročilé formy distální symetrické polyneuropatie (DSPN) a autonomní neuropatie přinášejí. Hlavními cíli studií, které jsou podkladem této práce bylo zhodnotit možnost využití termického kvantitativního testování senzitivity (TQST) k identifikaci diabetiků s vyšším rizikem kardiální autonomní neuropatie (CAN) a DSPN s poškozením tenkých nervových vláken. Dále posoudit vliv přítomnosti CAN na rozvoj aterosklerózy, a konečně stanovit prevalenci a rizikové faktory deprese a anxiety u diabetiků s neuropatií (bolestivou i nebolestivou formou) i u pacientů bez diabetické neuropatie (DN). Výsledky prokázaly, že TQST lze použít jako screeningový nástroj k identifikaci diabetiků, kteří jsou ohroženi diagnózou CAN. Byl zjištěn významný vliv CAN na hodnoty karotické intimomediální šíře u T1DM pacientů, což naznačuje, že přítomnost CAN může hrát roli v patogenezi aterosklerózy. Další práce demonstrovala, že míra poškození tenkých nervových vláken odrážející se v hodnotách termických prahů je u T1DM pacientů závislá na délce trvání diabetu a v rámci screeningu má význam provádět TQST zejména distálně na dorzu nohy. Vysoká prevalence příznaků deprese a úzkosti byla stanovena u pacientů s bolestivou DN, ale rovněž i u diabetiků s nebolestivou DN a diabetiků bez neuropatie. Jako významné rizikové faktory emočního stresu byly identifikovány intenzita bolesti, katastrofické myšlení, nižší věk, ženské pohlaví, přítomnost T2DM a tíže DSPN.

## Klíčová slova

Anxieta, bolest, deprese, diabetická neuropatie, distální symetrická polyneuropatie, kardiální autonomní neuropatie, karotická intimomediální šíře, tenká nervová vlákna, termické kvantitativní testování senzitivity

# **Small fiber neuropathy in peripheral and autonomic nervous system in patients with diabetes**

## **Abstract**

This dissertation thesis wants to draw attention to the relevance of early detection of small nerve fibers damage in the somatic and autonomic nervous systems in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus (T1DM, T2DM). Only early diagnosis can prevent the severe complications that progressive forms of diabetic neuropathy (DN) bring. The main objectives of this work were to evaluate the possibility of using thermal quantitative sensory testing (TQST) to identify patients with diabetes at higher risk of cardiac autonomic neuropathy (CAN) and distal symmetric polyneuropathy (DSPN) with predominant small nerve fibers impairment. Other aims were to assess the impact of CAN on the development of carotid atherosclerosis and to determine the prevalence and risk factors for depression and anxiety in diabetic patients with and without DN. The results show that TQST can be used as a screening tool to identify patients with a higher risk of CAN. We demonstrated a significant effect of CAN presence on carotid intima-media thickness in patients with T1DM, independently of known risk factors of atherosclerosis. Such a finding suggests that CAN may play a role in the pathogenesis of carotid atherosclerosis. Another study showed that the degree of small nerve fiber damage is dependent on the duration of DM. As part of DSPN screening, it makes sense to test thermal thresholds mainly distally on the lower limbs on the dorsum of the foot. We found a high prevalence of depressive and anxiety symptoms not only in patients with painful DN but also in patients with painless DN and patients without neuropathy. Pain intensity, catastrophic thinking, lower age, female gender, the presence of T2DM, and the severity of DSPN, were identified as the most significant risk factors for emotional stress.

## **Keywords**

Anxiety, cardiac autonomic neuropathy, carotid intima-media thickness, depression, diabetic neuropathy, distal symmetric polyneuropathy, pain, small nerve fibers, thermal quantitative sensory testing

## SEZNAM ZKRATEK

<b>ANS</b>	Autonomní nervový systém
<b>BDI II</b>	Beck depression inventory II
<b>BMI</b>	Index tělesné hmotnosti (z angl. body mass index)
<b>CAN</b>	Kardiální autonomní neuropatie (z angl. cardiac autonomic neuropathy)
<b>CARTs</b>	Testy kardiovaskulárních autonomních reflexů (z angl. cardiovascular autonomic reflex tests)
<b>CCM</b>	Korneální konfokální mikroskopie (z angl. corneal confocal microscopy)
<b>CDT</b>	Termický práh pro detekci chladu (z angl. cold detection threshold)
<b>CIMT</b>	Karotická intimomediální šíře (z angl. carotid intima-media thickness)
<b>DAN</b>	Diabetická autonomní neuropatie
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DN</b>	Diabetická neuropatie
<b>DSPN</b>	Distální symetrická polyneuropatie
<b>EMG</b>	Elektromyografie
<b>HADS</b>	Hospital anxiety and depression scale
<b>HRV</b>	Variabilita srdeční frekvence (z angl. heart rate variability)
<b>IENFD</b>	Intraepidermální hustota nervových vláken (z angl. intraepidermal nerve fiber density)
<b>LFN</b>	Neuropatie silných nervových vláken (z angl. large fiber neuropathy)
<b>MFN</b>	Neuropatie tenkých a silných nervových vláken (z angl. mixed fiber neuropathy)
<b>MNSIE</b>	Michigan neuropathy screening instrument examination
<b>MNSIQ</b>	Michigan neuropathy screening instrument questionnaire
<b>nDSPN</b>	Nebolestivá forma distální symetrické polyneuropatie
<b>NeB</b>	Neuropatická bolest
<b>PCS</b>	Pain catastrophizing scale
<b>pDSPN</b>	Bolestivá forma distální symetrické polyneuropatie (z angl. painful DSPN)
<b>QST</b>	Kvantitativní testování senzitivity (z angl. quantitative sensory testing)
<b>SAS</b>	Survey of autonomic symptoms
<b>SFN</b>	Neuropatie tenkých vláken (z angl. small fiber neuropathy)
<b>STAI-Y</b>	State-Trait Anxiety Inventory Form Y
<b>T1DM</b>	Diabetes mellitus 1. typu (z angl. type 1 diabetes mellitus)
<b>T2DM</b>	Diabetes mellitus 2. typu (z angl. type 2 diabetes mellitus)
<b>TQST</b>	Termické kvantitativní testování senzitivity (z angl. thermal quantitative sensory testing)
<b>UENS</b>	Utah early neuropathy scale
<b>WDT</b>	Termický práh pro detekci tepla (z angl. warm detection threshold)

# OBSAH

<b>1. ÚVOD .....</b>	<b>9</b>
<b>1.2. Diabetická neuropatie .....</b>	<b>10</b>
1.2.1. Úvod do problematiky .....	10
1.2.2. Typy nervových vláken .....	11
1.2.3. Klasifikace diabetické neuropatie.....	12
1.2.4. Epidemiologie.....	14
1.2.5. Etiopatogenze .....	15
1.2.6. Poškození tenkých nervových vláken .....	19
1.2.7. Management diabetické neuropatie .....	29
<b>2. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY .....</b>	<b>34</b>
<b>2.1. Práce 1: Kvantitativní testování termických prahů jako screeningový nástroj kardiální autonomní neuropatie u pacientů s diabetes mellitus .....</b>	<b>34</b>
<b>2.2. Práce 2: Kardiální autonomní neuropatie může hrát roli v patogenezi aterosklerózy u pacientů s diabetem 1. typu .....</b>	<b>34</b>
<b>2.3. Práce 3: Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých ..</b>	<b>35</b>
<b>    vláken u diabetiků 1. typu.....</b>	<b>35</b>
<b>2.4. Práce 4: Rizikové faktory pro depresi a anxiету u bolestivé a nebolestivé formy diabetické neuropatie .....</b>	<b>35</b>
<b>3. METODIKA .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1. Kvantitativní testování termických prahů jako screeningový nástroj kardiální autonomní neuropatie u pacientů s diabetes mellitus .....</b>	<b>36</b>
3.1.1. Charakteristika souboru .....	36
3.1.2. Charakteristika souboru .....	36
3.1.3. Klinické vyšetření a biochemické parametry .....	36
3.1.4. TQST a dotazníky.....	37
3.1.5. CARTs .....	38
3.1.6. Statistické metody .....	38
<b>3.2. Kardiální autonomní neuropatie může hrát roli v patogenezi aterosklerózy u pacientů s diabetem 1. typu .....</b>	<b>39</b>
3.2.1. Základní charakteristika souboru.....	39
3.2.2. Klinické vyšetření a zhodnocení mikrovaskulárních komplikací .....	39
3.2.3. Stanovení CAN.....	40
3.2.4. Ultrazvuk karotických tepen.....	40
3.2.5. Statistická analýza .....	41
<b>3.3. Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých vláken u diabetiků 1. typu .....</b>	<b>41</b>
3.3.1. Charakteristika souboru .....	41
3.3.2. Kvantitativní testování termických a vibračních prahů .....	41
3.3.3. Statistická analýza .....	42
<b>3.4. Rizikové faktory pro depresi a anxiету u bolestivé a nebolestivé formy diabetické neuropatie .....</b>	<b>43</b>
3.4.1. Charakteristika souboru .....	43
3.4.2. Hodnocení bolesti a tíže neuropatie.....	44
3.4.3. Psychologická skóre a dotazníky .....	44
3.4.4. Statistická analýza .....	45
<b>4. VÝSLEDKY .....</b>	<b>46</b>

4.1. Kvantitativní testování termických prahů jako screeningový nástroj kardiální autonomní neuropatie u pacientů s diabetes mellitus .....	46
4.2. Kardiální autonomní neuropatie může hrát roli v patogenezi aterosklerózy u pacientů s diabetem 1. typu .....	51
4.3. Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých vláken u diabetiků 1. typu .....	52
4.4. Rizikové faktory pro depresi a anxiету u bolestivé a nebolestivé formy diabetické neuropatie .....	54
<b>5. DISKUZE .....</b>	<b>56</b>
5.1. Kvantitativní testování termických prahů jako screeningový nástroj kardiální autonomní neuropatie u pacientů s diabetes mellitus .....	56
5.2. Kardiální autonomní neuropatie může hrát roli v patogenezi aterosklerózy u pacientů s diabetem 1. typu .....	57
5.3. Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých vláken u diabetiků 1. typu .....	58
5.4. Rizikové faktory pro depresi a anxiету u bolestivé a nebolestivé formy diabetické neuropatie .....	60
5.4.1. Prevalence deprese a úzkosti .....	60
5.4.2. Rizikové faktory úzkosti a deprese.....	60
<b>6. ZÁVĚR .....</b>	<b>62</b>
<b>7. SOUHRN .....</b>	<b>64</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>65</b>
<b>9. LITERATURA .....</b>	<b>66</b>
<b>10. SEZNAM PUBLIKACÍ .....</b>	<b>86</b>
<b>11. PŘÍLOHY .....</b>	<b>88</b>



# 1. ÚVOD

## 1.1. Diabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM) je heterogenní skupina metabolických onemocnění charakterizovaná hyperglykemií, která je způsobena nedostatečnou sekrecí inzulínu, dysfunkcí v mechanismu působení inzulínu, nebo kombinací obojího. Mezi nejčastější typy diabetu patří diabetes 1. (T1DM) a 2. typu (T2DM). Podkladem T1DM je většinou autoimunitně zprostředkovaná destrukce  $\beta$ -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu rezultující v absolutní deficit inzulínu. U diabetiků 2. typu je hyperglykémie důsledkem inadekvátní sekrece inzulínu a inzulínové rezistence. Chronická hyperglykémie je asociována s řadou sekundárních orgánových komplikací, mezi které řadíme diabetickou neuropatii, retinopatii, nefropatii a poškození kardiovaskulárního systému (American Diabetes Association, 2014; American Diabetes Association, 2020). Právě poškození periferního a autonomního nervového systému patří mezi vůbec nejčastější komplikace diabetu a vyskytne se v průběhu života zhruba u 50 % pacientů. (Callaghan et. al, 2012; Tesfaye et al., 2010).

K diagnostikování DM je zapotřebí průkaz lačné glykémie (koncentrace glukózy v žilní plazmě)  $\geq 7,0$  mmol/l nebo glykémie kdykoliv během dne  $\geq 11,1$  mmol/l nebo naměřit glykémii  $\geq 11,1$  mmol/l ve 120. minutě při orálním glukózovém tolerančním testu (oGTT) nebo zachycení zvýšené hladiny glykovaného hemoglobinu HbA1c  $\geq 48$  mmol/mol. Aby mohla být diagnóza DM uznána jako definitivní je nutný opakovaný průkaz hyperglykémie či zvýšené hladiny glykovaného hemoglobinu v krevních odběrech provedených v následujících dnech nebo přítomnost tzv. typických klinických příznaků. Mezi tyto typické symptomy patří polydipsie a polyurie, které jsou většinou doprovázené nevysvětlitelným váhovým úbytkem (American Diabetes Association, 2020; Karen et al., 2020). S těmito typickými příznaky se však lze setkat většinou až v pokročilé fázi onemocnění. Mezi obecné příznaky neléčeného diabetu patří rovněž zvýšená únava, nevykonnost, slabost, kolísání zrakové ostrosti, recidivující kožní a urogenitální infekce. Zejména u diabetiků 2. typu obvykle zpočátku klinické příznaky zcela chybějí, a diabetes tak často bývá zjištěn náhodně záchytem hyperglykémie v rámci preventivních prohlídek.

Ne každý pacient s poruchou glukózového metabolismu naplňuje diagnostická kritéria pro diabetes, a přesto může rozvinout jakoukoli z forem diabetické neuropatie. Byla publikována

řada prací, které prokázaly přítomnost neuropatie u pacientů již ve stádiu tzv. prediabetu (Asghar et al., 2014; Bongaerts et al., 2013; Singleton et al., 2001; Stino, Smith, 2017; Ziegler et al., 2008). Pojem prediabetes zahrnuje stanovení zvýšené lačné glykémie 5,6–6,9 mmol/l, běžně známé pod zkratkou IFG z anglického Impaired Fasting Glucose, anebo průkaz poruchy glukózové tolerance, kdy je ve 120. minutě při oGTT naměřena zvýšená hladina glykémie v rozmezí od 7,8–11,0 mmol/l. Porucha glukózové tolerance je běžně označována zkratkou IGT z anglického Impaired Glucose Tolerance. IFG a IGT se mohou u jednoho pacienta navzájem kombinovat.

Dle recentních dat zveřejněných Mezinárodní diabetickou federací (IDA, International Diabetes Federation) byl celosvětově k roku 2019 DM diagnostikován u 463 miliónů osob v dospělé populaci (20–79 let) a předpokládá se nárůst až na 700 miliónů v roce 2045. Prediabetes byl globálně zachycen k roku 2019 u téměř 374 miliónů dospělých jedinců a predikuje se vzestup na 548 miliónů osob v roce 2045. (International Diabetes Federation, 2019). V České republice trpí diabetem přibližně 9 % naší populace, což odpovídá více než 1 miliónu obyvatel a výskyt prediabetu se odhaduje mezi 2–5 % (Karen et al., 2020).

DM se tedy stal globální epidemií s rozsáhlými ekonomickými dopady, které jsou spojené s komplexní péčí o diabetiky. Prevence a včasná diagnostika DM a jejich komplikací tak zůstává nadále stěžejním cílem pro budoucnost.

## **1.2. Diabetická neuropatie**

### **1.2.1. Úvod do problematiky**

Diabetická neuropatie (DN) patří mezi převažující sekundární komplikaci diabetu 1. i 2. typu. Termín DN zastřešuje heterogenní skupinu klinických syndromů, které vznikají následkem poškození periferního a autonomního nervového systému (Feldman et al., 2019). DN je definována jako přítomnost symptomů periferní neuropatie u pacientů s diabetem nebo prediabetem po vyloučení ostatních příčin (Pop-Busui et al., 2017). Diabetes a prediabetes dnes patří celosvětově k nejčastějším příčinám neuropatie v rozvinutých zemích (Iqbal et al., 2018). Mezi nejběžnější formu DN, se kterou se lze v klinické praxi setkat, patří distální symetrická polyneuropatie (DSPN), která tvoří přibližně 75 % všech DN (Bansal et al., 2006; Dyck et al., 2011). Další často diagnostikovanou formu DN představuje kardiovaskulární autonomní neuropatie (Cardiovascular Autonomic Neuropathy, CAN),

kteřá se vyskytuje přibližně u 20 % pacientů (Spallone et al., 2011). Jedná se o velmi závažnou a stále poddiagnostikovanou komplikaci diabetu, která významně zvyšuje riziko maligních arytmí a náhlé srdeční smrti (Ewing et al., 1991).

Závažnou komplikací DSPN je rozvoj tzv. syndromu diabetické nohy. Pod tímto termínem rozumíme postižení dolních končetin od kotníku distálně, které vede k rozsáhlým ulceracím většinou špatně terapeuticky ovlivnitelných. K ulceracím dolních končetin v rámci syndromu diabetické nohy dospěje během života přibližně 25 % pacientů s DM (Singh et al., 2005). Pokročilý syndrom diabetické nohy může vyústit až v nutnost provedení amputace postižené končetiny. Smutným faktem je, že DN je celosvětově příčinou až 75 % netraumatických amputací (Caputo et al., 1994; Holzer et al., 1998; Vinik et al., 2003).

Je nutno též zdůraznit, že 20–30 % pacientů s DN trpí její bolestivou formou (Abbott et al., 2011; Sloan et al.; 2018; Veves et al., 2008). Chronická neuropatická bolest významně negativně ovlivňuje kvalitu života, narušuje spánek a zvyšuje výskyt anxiety a deprese (Finnerup et al., 2015; Gore et al., 2005). Alarmující rovněž je, že až 50 % DN je tzv. subklinických neboli asymptomatických, kdy pacient neudává žádné senzitivní, motorické ani dysautonomní neuropatické příznaky (Pop-Busui et al., 2017). I z tohoto důvodu by základní vyšetření k detekci DN měla být nedílnou součástí pravidelných kontrol u dispenzarizujících diabetologů či praktických lékařů.

### **1.2.2. Typy nervových vláken**

Periferní nervy jsou tvořeny různými typy nervových vláken, které zprostředkovávají rozličné funkce. V rámci kontextu klasifikace jednotlivých forem DN je nejracionálnější dělení na tenká a silná nervová vlákna. Zatímco vlákna silná reprezentují vlákna myelinizovaná, mají tedy větší průměr, tak vlákna tenká jsou obalena pouze slabou vrstvou myelinu nebo jsou zcela nemyelinizovaná. Mezi silná nervová vlákna, která lze běžně klinicky a elektrofyziologicky testovat patří vlákna typu A-alfa a A-beta. Tenká nervová vlákna jsou v periferním somatickém a autonomním nervovém systému zastoupena vlákny typu A-delta, B a C. Přibližně 80 % vláken ve většině periferních nervů představují vlákna tenká, z nichž nejčastějším typem jsou vlákna typu A-delta představující 32–45 % (Malik et al., 2005; Ochoa, 1978; Said et al., 2008).

Nervová vlákna typu A-alfa zprostředkovávají inervaci extrafuzálních svalových vláken, propriocepci ze šlachových a svalových vřetének, vnímání vibrací. Patří mezi vlákna silně myelinizovaná, která jsou schopna přenášet nervové vzruchy s vysokou rychlostí 70–120 m/s a jejich průměr se pohybuje v rozmezí 12–20  $\mu\text{m}$ . Dominantní funkcí aferentních vláken A-beta je registrování taktilních podnětů. Jsou rovněž obklopena poměrně silnou vrstvou myelinu, rychlost vedení těmito vlákny se pohybuje od 30 do 70 m/s a jejich průměr je nejčastěji udáván v rozmezí 5–12  $\mu\text{m}$ . Slabě myelinizovaná vlákna typu A-delta o průměru 2–5  $\mu\text{m}$  zajišťují vnímání chladu a bolesti, která je ostrá, rychlá a dobře lokalizovatelná. Vedou rychlostí 12–30 m/s. Na vnímání bolesti se podílí i tenká vlákna typu C, která naopak zajišťují percepce tupé, difúzní, pomalé komponenty bolesti. Další významnou funkcí vláken typu C je percepce tepla. Poněvadž tato vlákna jsou zcela nemyelinizovaná, vedou vzruchy velmi pomalu v průměru okolo 1 m/s a na průřezu jsou nejtěsnější 0,5–1  $\mu\text{m}$ . Autonomní pregangliová vlákna tvoří vlákna typu B, jsou slabě myelinizovaná o průměru přibližně 3  $\mu\text{m}$  s rychlostí vedení do 15 m/s. Postgangliová autonomní vlákna patří k typu C (Bednařík et al., 2004; Topp, Boyd, 2012).

### **1.2.3. Klasifikace diabetické neuropatie**

Původní klasifikace z roku 1997 dle Thomse dělila DN na formy symetrické, fokální, multifokální, smíšené a tzv. „hyperglykemickou“ neuropatii, při které pacienti vykazují mírné senzitivní neuropatické příznaky, které se rapidně zmírňují při nastolení euglykémie (Thomas, 1997). V různých modifikacích se používala až do roku 2017, kdy byla Americkou diabetickou asociací (ADA, American Diabetes Association) zveřejněna klasifikace nová, která je jednoduchá a dobře srozumitelná pro odlišení jednotlivých forem DN i pro potřeby běžné klinické praxe. Dělí DN na typické difúzní formy a na formy atypické. Mezi difúzní formy je zařazená klasická distální symetrická polyneuropatie (DSPN) a autonomní neuropatie. Atypické formy zahrnují mononeuropatie kraniálních a periferních nervů, dále mononeuritis multiplex, radikulopatie a polyradikulopatie. U jednoho konkrétního pacienta mohou koexistovat různé formy DN. Častá je například kombinace DSPN se syndromem karpálního tunelu (Carpal Tunnel Syndrome, CTS). Výhodou této klasifikace je, že zohledňuje, který typ nervových vláken je u DSPN predilekčně poškozen. Nově klasifikace upozorňuje i na nondiabetické neuropatie častěji se vyskytující právě u pacientů s diabetem mezi které řadí chronickou zánětlivou demyelinizační polyneuropatii (Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy, CIDP) a akutní bolestivou neuropatii tenkých vláken indukovanou příliš agresivní antidiabetickou léčbou u dlouhodobě špatně

kompenzovaných pacientů (TIND, treatment induced neuropathy of diabetes) (Pop-Busui et al., 2017; Sharma et al, 2020). Klasifikace je přehledně shrnuta v tab. 1.

**Tab 1.** Klasifikace diabetické neuropatie, upraveno dle (Pop-Busui et al., 2017)

<b>A. DIFÚZNÍ NEUROPATIE</b>	
<b>A.1. Distální symetrická polyneuropatie</b>	• převážně poškození tenkých nervových vláken
	• převážně poškození silných nervových vláken
	• kombinace poškození tenkých i silných nervových vláken
<b>A.2. Autonomní neuropatie</b>	• kardiovaskulární
	• gastrointestinální
	• urogenitální
	• sudomotorická
	• syndrom nerozpoznání hypoglykémie
	• dysfunkce pupilárních reakcí
<b>B. MONONEUROPATIE</b>	• kraniálních nervů (n. III, n. IV, n. VI, n. VII)
	• periferních končetinových nervů (n. ulnaris, n. medianus, n. femoralis, n. peroneus)
	• mononeuritis multiplex
<b>C. (POLY)RADIKULOPATIE</b>	• lumbosakrální radikuloplexopatie (syn. proximální diabetická amyotrofie, Bruns-Garlandův syndrom)
	• thorakoabdominální radikulopatie

#### 1.2.4. Epidemiologie

Epidemiologické studie ukazují značně heterogenní výsledky, což je dáno zejména nejednotností použitých diagnostických kritérií a vyšším rizikem rozvoje DN v závislosti na délce trvání DM. Jak již bylo řečeno v úvodu, DN během svého života rozvine v průměru 50 % diabetiků 1. i 2. typu. (Callaghan et al., 2012; Hicks, Selvin, 2019; Tesfaye et al., 2010). Zatímco roční incidence DN je přibližně dvojnásobná pro T2DM oproti T1DM, tak prevalence je u obou typů diabetu identická (Ang et al., 2017; Feldman et al., 2019; Martin et al., 2014; Pop-Busui et al., 2017). Je to pravděpodobně dáno rozdílným věkem pacientů v době stanovení diagnózy DM a určitými rozdíly v patofyziologických mechanismech, které budou podrobněji rozebrány v oddílu etiopatogeneze. Výše uvedené názorně demonstrují tyto práce. V multicentrické studii The European Diabetes (EURODIAB) Prospective Complications Study, která zahrnovala přes 3000 pacientů z 31 různých diabetických evropských center, byla DN na začátku stanovená u 28 % T1DM. Po 7 letech vzrostla prevalence v této kohortě o dalších 23,5 % (Teskfaye et al., 2005). V roce 1993 Dyck s kolektivem zveřejnil výsledky populační studie Rochester Neuropathy Study, ve které finálně zanalyzovali data od 380 pacientů, ze kterých 102 (26,8 %) trpělo diabetem 1. typu a 278 (73,2 %) diabetem 2. typu. Na základě validovaných dotazníků monitorující neuropatické symptomy (Neuropathy Symptom Score, Neuropathy Disability Score) a kondukčních studií periferních nervů byla DN prokázána u 66 % pacientů s T1DM a u 59 % s T2DM (Dyck et al., 1993).

DSPN se řadí mezi nejčastější formu DN vyskytující se cca v 75 % případů. Nejběžnějším subtypem DSPN je kombinované poškození tenkých i silných nervových vláken, běžně známé pod termínem MFN z anglického mixed fiber neuropathy (MFN) (Bansal et al., 2006; Dyck et al., 2011; Pop-Busui et al. 2017). Se subtypem DSPN s dominujícím poškozením tenkých nervových vláken tzv. small fiber neuropathy (SFN) se lze setkat zejména u pacientů s prediabetem, což naznačuje, že tenká nervová vlákna mohou být poškozena dříve než silná nervová vlákna (Breiner et al., 2014; Burgess et al., 2021; Callaghan et al., 2012; Kirthi et al., 2021, Ziegler et al., 2014). V systematické přehledové studii z roku 2021 byla v 72 % z 29 hodnocených prací prevalence DN u pacientů s prediabetem  $\geq 10$  %. Pro všechny zahrnuté pacienty se prevalence pohybovala mezi 2–77 % s mezikvartilovým rozpětím (Interquartile range, IQR) 6–36 % (Kirthi et al., 2021).

Kardiální autonomní neuropatie (CAN) je další frekventovanou formou DN vyskytující se v průměru u 20 % pacientů (Spallone et al., 2011). Jednotlivé prevalenční studie opět vykazují vysokou variabilitu danou nejednotností použitých diagnostických kritérií. Prevalence CAN kolísá mezi 1–90 % pro T1DM a mezi 20–73 % pro T2DM (Dimitropoulos et al., 2014). Přítomnost CAN u pacientů s prediabetem, kteří měli IFG v kombinaci s IGT, byla zjištěna u 11,4 % pacientů (Ziegler et al., 2015). Diabetici s CAN mají až 4x vyšší riziko mortality ve srovnání s pacienty bez CAN a daleko častěji se u nich setkáváme s cévní mozkovou příhodou, ischemickou chorobou srdeční, „tichou“ ischemií myokardu či maligními srdečními arytmiemi. (Ewing, 1991; Maser, Lenhard, 2005; Spallone et al., 2011; Vinik et al., 2003).

Mezi další častější formy DN patří i mononeuropatie, které lze registrovat u méně než 10 % pacientů. Prezентují se většinou akutní neurologickou symptomatikou rezultující z léze n. medianus, n. ulnaris, n. radialis a n. peroneus communis, ev. kraniální neuropatií n. oculomotorius či n. abducens. Při elektrofyziologickém vyšetření zjistíme nejen známky demyelinizační léze, které jsou typické pro tzv. klasické úžinové syndromy, ale i pro diabetes typickou lézi axonální. Klasické úžinové syndromy (syndrom karpálního tunelu, syndrom ulnárního sulku či léze n. peroneus communis v oblasti hlavičky fibuly) vyvine v průměru třetina diabetiků (Boulton et al., 2005).

### **1.2.5. Etiopatogeneze**

I přes extenzivní úsilí předních expertních studijních skupin (Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group, Diabetic Neuropathy Study Group of the European Association for the study of Diabetes, American Diabetes Association, International Diabetes Federation a další), zůstává kompletní patogeneze diabetické neuropatie neobjasněná (Feldman et al., 2017). I vzhledem k této skutečnosti stále neexistuje efektivní kauzální léčba diabetické neuropatie a stěžejní zůstává její prevence a zpomalení progresu. Poškození nervových struktur v rámci DN je chronicky progresivní a obvykle ireverzibilní až na raritní případy (Boulton et al., 2013). V poslední době se stále častěji objevují důkazy nejen o tom, že tenká nervová vlákna degenerují u DN jako první (Breiner et al., 2014; Burgess et al., 2021; Callaghan et al., 2012; Kirthi et al., 2021; Ziegler et al., 2014), ale že jsou schopna za určitých podmínek opětovně regenerovat. Příkladem je práce, ve které diabetici 1. typu po simultánní transplantaci pankreatu a ledvin s odstupem 3 let od operačního výkonu vykazovali vyšší denzitu a délku

tenkých nervových vláken subbazálního plexu rohovky při korneální konfokální mikroskopii (Corneal Confocal Microscopy, CCM) na rozdíl od T1DM pacientů s neuropatií, kteří transplantaci nepodstoupili (Azmi et al., 2019). Dalším příkladem je studie provedená na skupině pacientů s prediabetem, kterým po redukci hmotnosti a nastolení zdravého životního režimu vzrostla hodnota intraepidermální denzity nervových vláken (intraepidermal nerve fiber density, IENFD) při kontrolní kožní biopsii distálně i proximálně na dolních končetinách (Smith et al., 2006).

#### ***1.2.5.1. Rizikové faktory pro rozvoj somatické a autonomní periferní neuropatie***

Hlavními prediktory pro rozvoj DN jsou délka trvání diabetu a vysoká hladina glykovaného hemoglobinu (HbA1c) svědčící pro nedostatečnou kompenzaci základního onemocnění (Tesfaye et al., 2005). Nezávisle na hladinách HbA1c je s výskytem DN, a to zejména u pacientů s T2DM, asociována hypertriglyceridémie, nízké hladiny vysokodenzitního lipoproteinu (High-density lipoprotein, HDL), arteriální hypertenze a abdominální obezita. Mezi další nezávislé rizikové faktory patří kouření, nadměrná konzumace alkoholu a vyšší věk (Callaghan et al., 2015; Callaghan et al., 2016; Callaghan et al., 2018). Rovněž se uvažuje o genetické predispozici spojené s vyšším rizikem rozvoje DN. Byla studována řada kandidátních genů, nejslibněji se jeví spojitost s polymorfismy pro geny kódující angiotenzin konvertující enzym (angiotenzin-converting enzyme, *ACE*) a methylenetetrahydrofolát reduktázu (*MTHFR*) (Politi et al., 2016). Výše uvedené rizikové faktory jsou společné autonomní i somatické DN.

Náchylnější k rozvoji autonomní kardiální neuropatie jsou pacienti s již rozvinutými sekundárními komplikacemi jako je diabetická nefropatie, retinopatie a distální periferní somatická neuropatie, a ti, kteří mají významně sníženou hladinu vitamínu D a B12. (Braffet et al., 2020; Hansen et al., 2017; Maser et al., 2015). Dalším v posledních letech hodně diskutovaným rizikovým faktorem pro rozvoj DN u pacientů s T2DM je zvýšená hladina 1-deoxysfingolipidů, které vznikají při alterovaném sfingolipidovém metabolismu a vykazují neurotoxické účinky (Dohrn et al., 2015; Mwinyi et al., 2017; Tran et al., 2021; Zuellig et al., 2014).



### ***1.2.5.2. Patofyziologické mechanismy***

Diabetická neuropatie je v podstatě neurodegenerativní onemocnění periferního nervového systému, které preferenčně cílí na axony senzitivních a autonomních nervových vláken, v pokročilejší fázi i na axony vláken motorických. Předpokládá se, že diabetes poškozuje celý neuron, tedy i jeho tělo (perikaryon). Ačkoliv je DN považována za primárně axonální neuropatii, je dnes již známo, že zejména v pokročilejší fázi onemocnění chronická hyperglykémie vyvolává i přímé poškození Schwannových buněk, které jsou s axony v těsném kontaktu (Dunnigan et al., 2013; Gummy et al., 2008; Mizisin, 2014). Zůstává však nadále neobjasněno, zda jsou první destruovány periferní axony se Schwannovými buňkami nebo primárně těla neuronů a axony až sekundárně (Feldman et al., 2019).

Stěžejním spouštěčem komplexních patofyziologických procesů vedoucí k rozvoji DN je hyperglykémie, dalším metabolickým triggerem, a to zejména u T2DM, je dyslipidémie. Hlavními důsledky patofyziologických reakcí jsou aktivace prozánětlivých signálních drah, zvýšení oxidačního stresu, mitochondriální dysfunkce a porucha energetického metabolismu. Společným výsledkem těchto dějů je degenerace jednotlivých struktur periferního nervového systému (Callaghan et al., 2020).

Zvýšená hladina glykémie vede k nadměrné oxidativní fosforylaci probíhající v mitochondriích, jejíž následkem je nadprodukce reaktivních forem kyslíku a dusíku. Mitochondriální kapacita se stává insuficientní, narůstající hladiny volných radikálů poškozují mitochondrie, které se tak stávají dysfunkčními a nejsou schopné produkovat dostatek energie ve formě ATP (adenosintrifosfátu). Důsledkem je narušení axonálního transportu postupně rezultující v degeneraci axonu. Zvýšený oxidační stres rovněž narušuje strukturu DNA a poškozuje endoplazmatické retikulum, které je nezbytné pro proteosyntézu, syntézu lipidů a steroidů, metabolismus sacharidů a ukládání vápníku (Schwartz, Blower, 2016; Sloan et al., 2018).

Hyperglykémie dále aktivuje metabolické cesty, které jsou za fyziologických podmínek potlačeny. Jsou spuštěny tzv. alternativní dráhy utilizace glukózy. Jedná se o polyolovou dráhu, která vede ke zvýšení osmotického stresu z intracelulární akumulace osmoticky aktivní fruktózy a sorbitolu, dochází ke snížení hladiny redukovaného glutathionu (antioxidans přeměňující superoxid na vodu), čímž se dále prohlubuje oxidační stres. Aktivována je rovněž hexosaminová a diacylglycerolová dráha. Nadbytek diacylglycerolu

(DAG) aktivuje enzym proteinkinázu typu C (PKC), která reguluje obrovské kvantum intracelulárních procesů. Výsledkem obou výše uvedených cest je kromě další tvorby volných radikálů také prokoagulační stav (převaha tvorby vazokonstrikčních faktorů, zvýšení hladiny inhibitoru aktivátoru plazminogenu, který je nutný pro fibrinolýzu), zvýšení genové exprese prozánětlivých cytokinů a dysfunkční buněčná signalizace zprostředkovaná inzulínovým receptorem rezultující mimo jiné v inzulínovou rezistenci. Dalším důsledkem zvýšené hladiny glukózy je glykace řady strukturálních a funkčních proteinů, které následně formují tzv. konečné produkty pokročilé glykace (advanced glycation end-products, AGE). Glykací změněné proteiny ztrácí svou původní funkci. Po vazbě na AGE receptory spouštějí buněčnou signalizaci a modifikaci genové exprese vedoucí k progresi prozánětlivé odpovědi a další produkci toxických volných radikálů (Callaghan et al. 2020; Ghotaslou et al., 2018; Sharma et al.; 2020).

Jakou roli hraje v patogenezi DN dyslipidémie, tedy porucha metabolismu tuků? Předpokládá se, že hlavní roli hraje zvýšená hladina triacylglycerolů (TAG) a nízkodenzitních lipoproteinů (low-density lipoprotein, LDL). TAG jsou zdrojem volných mastných kyselin, které jsou dále metabolizovány  $\beta$ -oxidací, která probíhá v cytosolu všech buněk periferního nervového systému. Při hypertriglyceridémii vzniká  $\beta$ -oxidací nadměrné množství acetyl-CoA (acetyl-koenzym A), který tak může být metabolizován na neurotoxický acylkarnitin. Ten se akumuluje ve spinálních gangliích a Schwannových buňkách. Nahromaděný acylkarnitin je následně uvolňován ze Schwannových buněk, a je tak schopen indukovat degeneraci axonů (Callaghan et al., 2020; Feldman et al., 2019; Rumora et al., 2019). Oxidované formy LDL jsou schopné aktivovat specifické receptory (receptory pro AGE; TLR4, Toll-like receptor 4; LOX1, receptor pro oxidované formy LDL), jejichž aktivace vede k enzymaticky navozené degradaci DNA, a tak progresi poškození nervových struktur (Eid et al., 2019). Podobně jako u hyperglykémie dochází narušením lipidového metabolismu ke zvýšené tvorbě volných radikálů a produkci prozánětlivých působků.

Na poškození nervových struktur se dále podílí mikrovaskulopatie vasa nervorum, kdy dochází ke ztlustění bazální membrány cévního endotelu a výsledkem je ischemie nervu (Thrainsdottir et al., 2003).

### ***1.2.5.3. Rizikové faktory pro rozvoj bolestivé formy diabetické neuropatie***

Proč pouze někteří pacienti rozvinou bolestivou formu diabetické neuropatie (painful diabetic neuropathy, pDN), není dosud zcela objasněno. V průměru pDN zjistíme asi u třetiny pacientů s DN (Abbott et al., 2011, Sloan et al., 2018; Veves et al., 2008). Obecně je neuropatická bolest definována jako bolest, která vzniká důsledkem léze nebo onemocnění postihující somatosenzitivní nervový systém (Treede et al., 2008). V kontextu diabetické neuropatie se jedná o bolest vznikající jako přímý následek poškození periferního somatosenzitivního systému u osob s diabetem nebo prediabetem (Tefsaye et al., 2010). Byly identifikovány určité rizikové faktory pro rozvoj pDN mezi které patří ženské pohlaví, těžký stupeň DN, renální insuficience, zvýšený body mass index (BMI) a špatná kompenzace diabetu (Hébert et al., 2017; Raputová et al., 2017; Themistocleous et al., 2016). Předpokládá se, že tyto rizikové faktory mohou být asociovány s hyperexcitabilitou sensorických neuronů (Feldman et al., 2019). Někteří autoři zjistili u pacientů s pDN zvýšenou hladinu methylglyoxalu, který je jedním z hlavních prekurzorů AGE, revidující studie však toto nepotvrdily (Bierhaus et al., 2012; Hansen et al., 2015).

### **1.2.6. Poškození tenkých nervových vláken**

S lézí tenkých nervových vláken se v rámci DSPN můžeme setkat jednak izolovaně ve formě tzv. neuropatie tenkých vláken, obvykle známé pod zkratkou SFN (small fiber neuropathy), nebo častěji v kombinaci spolu s poškozením silných nervových vláken ve formě tzv. mixed fiber neuropatie (MFN). Český ekvivalent „smíšená“ se nepoužívá, jelikož pojem „smíšená“ neuropatie je v ČR obecně chápán jako kombinovaná neuropatie motorických a senzitivních vláken bez ohledu na jejich myelinizaci. Poněvadž tenká nervová vlákna formují rovněž autonomní nervy, je terminologicky správně zařadit do tohoto oddílu disertační práce i problematiku diabetické autonomní neuropatie (DAN).

SFN je definována jako selektivní nebo predominantní poškození slabě myelinizovaných vláken typu A-delta a nemyelinizovaných vláken typu C, kdy v klinickém obraze dominuje neuropatická bolest spolu s poruchou termoalgického cití a dysautonomní příznaky (Devigili et al., 2019; Devigili et al., 2020). Přesto jsou dosavadní diagnostická kritéria SFN „rezervována“ pouze pro tenká vlákna somatická. Tzv. BESTA kritéria publikovaná v roce 2008 požadují k diagnóze SFN naplnit alespoň dvě podmínky z následujících tří: 1) klinické známky SFN (redukované termoalgické cití a/nebo alodynii či hyperalgií); 2) abnormální

hodnoty kvantitativně stanovených termických prahů v oblasti nártu (TQST, thermal quantitative sensory testing); 3) průkaz snížené intraepidermální hustoty nervových vláken (IENFD, intraepidermal nerve fiber density) v oblasti distální části dolní končetiny. Mezi vylučující kritéria patří detekce dysfunkce silných nervových vláken, tj. porucha vibračního cití, redukovaná výbavnost či nevýbavnost reflexů Achillovy šlachy nebo elektrofyziologický průkaz neuropatie pomocí elektromyografie (EMG) (Devigili et al., 2008). Kritéria NEURODIAB navržená v roce 2010 specificky pro pacienty s diabetem dovolují stanovit diagnózu SFN jako „možnou“ na základě přítomnosti neuropatických symptomů a/nebo klinických známek SFN (blíže nespecifikovaných), jako „pravděpodobnou“, pokud pacienti vykazují navíc normální parametry při kondukčních studiích n. suralis a jako diagnózu „definitivní“, jsou-li dvě předchozí podmínky podpořeny nálezem redukované IENFD a/nebo patologickým TQST (Tefsaye et al., 2010). Přehodnocující a validační studie obou výše uvedených kritérií zjistily, že diagnostická spolehlivost je srovnatelná. Kombinace klinických známek SFN a abnormálního TQST a/nebo redukovaná IENFD vedou spolehlivěji k diagnóze než pouhá kombinace patologického TQST spolu s IENFD při absenci klinických příznaků. Limitujícím faktorem obou definic je, že jsou vhodná pouze k diagnostikování izolované SNF a vylučuje pacienty s MFN (Devigili et al., 2019). I v problematice DN je zvykem termín SFN ponechat pouze pro somatický periferní nervový systém a DAN je považována za samostatnou skupinu neuropatií.

#### ***1.2.6.1. Diabetická somatická neuropatie – klinická prezentace a možnosti diagnostiky***

Klasická somatická forma DN neboli distální symetrická polyneuropatie (DSPN) se řadí mezi tzv. length-dependentní (tj. v závislosti na délce) neuropatie, což znamená, že se první klinické příznaky manifestují distálně na dolních končetinách. Obvykle začínají na prstech či ploskách a postupně se šíří proximálně. Pokud hranice příznaků vystoupá ke kolenům, většinou se přidávají neuropatické symptomy i na horních končetinách iniciálně akrálně. Běžně tento vzorec také nazýváme tzv. podkolenkovitá a rukavicová distribuce příznaků (Feldman et al., 2019).

Charakter neuropatických symptomů je dán typem nervových vláken, která jsou poškozena. Hlavními příznaky z léze tenkých nervových vláken jsou bolest, dysestézie (senzitivní vjemy, které jsou vnímané jako vysoce nepříjemné až bolestivé), alodynies (pocit vnímání běžně nebolestivého podnětu jako bolestivého) a dále hypestézie (snížená citlivost) pro

vnímání chladných, teplých a algických podnětů. Bolest je pacienty nejčastěji popisována jako pálivá, mravenčivá, bodavá, píchavá, lancinující či „jako od elektrického výboje“. Mezi symptomy rezultující z poškození silných senzitivních nervových vláken řadíme taktilní hypestézii až anestézii (snížené až vyhaslé dotykové čítí), poruchu rovnováhy z důvodu narušené propiocepce a parestézie (abnormální nebolestivé senzitivní pocity různého charakteru, např. brnění, mravenčení či mrtvení). Svalová slabost, tíha, únava končetin, krampy či fascikulace jsou příznaky z dysfunkce silných motorických nervových vláken (Bednařík, 2004; Devigili et al., 2020; Pop-Busui et al., 2017).

Mezi běžně dostupné diagnostické nástroje DSPN umožňující hodnotit funkci tenkých nervových vláken patří vyšetření algické percepce za použití tzv. Neurotipsů (jednorázová pomůcka s ostrým a tupým hrotem), a dále orientační vyšetření termického čítí pomocí tzv. Tip Therm<sup>®</sup> válečku, který má jeden konec chladnější vyrobený z kovu a druhý teplejší konec z plastu. Silná nervová vlákna lze testovat zhodnocením taktilní citlivosti na plošce pomocí 10g Semmes-Weinsteinova monofilamenta, vyšetřením vibračního čítí kalibrovanou 124-Hz ladičkou, průkazem snížených či vyhaslých myotatických reflexů distálně na dolních končetinách a stanovením svalové síly podle svalového testu (Pop-Busui et al., 2017).

K diagnostice DSPN se dále využívá řada validovaných dotazníků kombinující dotazy zaměřené na subjektivní neuropatické příznaky a na výsledky jednoduchých testů popsanych v předcházejícím odstavci. Mezi dotazníky s jasně stanovenými cut-offovými hodnotami patří Toronto Clinical Neuropathy Score, modified Toronto Clinical Neuropathy Score a Michigan Diabetic Neuropathy Score. Ke zhodnocení funkce tenkých nervových vláken se používá např. dotazník Utah Early Neuropathy Scale, který velmi podrobně mapuje algickou percepci v oblasti dolních končetin. K monitoraci neuropatické bolesti u diabetiků lze využít dotazník LANSS (Leeds Assessment of Neuropathy Symptoms and Signs) nebo DN4 (Douleur Neuropathique en 4) (Bouhassira et al., 2013; Bril, Perkins, 2002; Feldman et al., 1994; Singleton et al., 2008).

Anamnéza, kvalitativní a semikvantitativní vyšetření základních modalit čítí a zhodnocení výbavnosti myotatických reflexů je pro většinu pacientů dostačující ke stanovení diagnózy DSPN (Pop-Busui et al., 2017; Tesfaye et al., 2010). V případě pochybností existují další

neurofyziologické, psychofyzikální a morfologické metody, které nám pomohou ověřit diagnózu zejména u incipientních či asymptomatických forem DN.

Základní běžně dostupnou elektrofyziologickou metodou umožňující zhodnotit funkci silných nervových vláken typu A-beta a A-alfa je elektromyografie (EMG). Kondukční studie distálních končetinových nervů vykazují v počátečních fázích DSPN snížení amplitudy SNAP (senzitivní nervový akční potenciál) n. suralis. SNAP časem zcela vymizí a registrujeme i pokles amplitud CMAP (sumační svalový akční potenciál) n. peroneus či n. tibialis. Redukce amplitud SNAP a CMAP je elektrofyziologickým korelátem axonální ztráty. V pokročilejším stádiu neuropatie lze detekovat i zpomalení rychlosti nervového vedení a dále pokles amplitud SNAP a CMAP i na distálních nervech horních končetin (n. ulnaris, n. medianus, n. radialis superficialis). Jak již bylo vysvětleno v rámci etiopatogeneze, dochází i k degeneraci Schwannových buněk tvořících myelin, čímž lze mimo jiné (pokročilá axonální ztráta) vysvětlit detekci snížených kondukčních rychlostí. Při axonální lézi motorických vláken navíc můžeme zachytit pomocí jehlové EMG nečetnou patologickou spontánní aktivitu charakteru fibrilací a pozitivních ostrých vln zejména v distálních svalech nohy. Při volní aktivitě vidíme redukovanou náborovou křivku a neurogenní přestavbu MUPs (akční potenciál motorické jednotky), která je charakterizována vyšší amplitudou a prodlouženým trváním MUPs a četnějšími polyfázemi (Perkins, Brill, 2014).

Nejčastěji využívanou funkční metodou v diagnostice SFN u diabetiků je kvantitativní testování termických prahů (thermal quantitative sensory testing, TQST), které je i součástí diagnostických kritérií. Metoda kvantitativního testování senzitivity (quantitative sensory testing, QST) spočívá v registraci odpovědí, které jsou vyvolané přesně definovanými standardizovanými senzitivními stimuly (obecně mechanické nebo termické podněty). QST tak umožňuje stanovení prahových hodnot pro vnímání jednotlivých modalit cití (Backonja et al., 2013). TQST je jednoduchá neinvazivní psychofyzikální vyšetřovací metoda, která umožňuje pomocí teplotního stimulátoru stanovit termické prahy pro vnímání tepla (warm detection threshold, WDT) a chladu (cold detection threshold, CDT). Testovat lze na jakékoliv části těla, ale pro potřeby zhodnocení DSPN vyšetřujeme zejména distálně na dorzu nohy bilaterálně. Vlákná typu C se podílejí na preceptci tepla a jejich poškození se odráží ve vyšší hodnotě WDT oproti zdravým kontrolám a pacientům bez DN. Vlákná typu A-delta se účastní percepce chladu, při jejich lézi detekujeme nižší prahové hodnoty CDT

ve srovnání s kontrolami a pacienty bez DN. Metoda je psychofyzikální, což znamená, že vyšetření vyžaduje velmi těsnou spolupráci a koncentraci pacienta (Shy et al., 2003; Ziegler et al., 2015).

Mezi morfometrické metody hodnotící tenká nervová vlákna patří kožní biopsie, korneální konfokální mikroskopie (CCM) a biopsie nervu. Kožní biopsie s průkazem snížené intraepidermální hustoty nervových vláken (intraepidermal nerve fiber density, IENFD) je stále považována za „zlatý standard“ k potvrzení diagnózy SFN. Jedná se o minimálně invazivní proceduru, při které se odebírá pomocí průbojníku malý vzorek kůže v průměru 3–5 mm přibližně 10 cm nad laterálním kotníkem (Devigili et al., 2020; Tesfaye et al., 2010). Nervová vlákna v oblasti epidermis jsou všechna nemyelinizovaná (McCarthy et al., 1995). Intraepidermální vlákna lze vizualizovat imunofluorescenčně či imunohistochemicky s využitím protilátek proti panaxonálnímu markeru PGP-9.5 (protein gene product 9.5) (Lauria et al., 2005). IENFD pro identifikaci poškození tenkých nervových vláken vykazuje senzitivitu 61–97 % a specifitu 64–95 % (Burgess et al., 2021). V poslední době se stává stále více dostupnou další morfologická metoda, kterou je CCM. Jedná se o neinvazivní vyšetření, které umožňuje in vivo zobrazit tenká nervová vlákna typu C v subbazálním plexu rohovky. Tato C vlákna jsou větvemi n. ophthalmicus, 1. větve n. trigeminus (Papanas, Ziegler, 2015). Mezi hlavní hodnocené parametry patří délka nervových vláken (corneal nerve fiber length, CNFL), hustota nervových vláken (corneal nerve fiber density, CNFD) a hustota větvení (corneal nerve branch density, CNBD). CCM se vyznačuje vysokou senzitivitou (61–91 %) a specifitou (40–87 %) pro diagnózu DSPN (Burgess et al., 2021). Rovněž nervová biopsie umožňuje za pomoci elektronové mikroskopie prokázat úbytek tenkých nervových vláken, nejčastěji se odebírá vzorek surální nervu v oblasti laterálního malleolu (Malik et al., 2005). Rutinně se však k potvrzení diagnózy DSPN nevyužívá, její role spočívá zejména v diferenciální diagnostice zánětlivých neuropatií (Nathani et al., 2021).

Mezi další neurofyzilogické metody umožňující hodnocení tenkých vláken patří nociceptivní evokované potenciály LEPs (laserem evokované potenciály) a CHEPs (kontaktním teplem evokované potenciály) (Cassanova-Molla et al., 2011), dále Laser Doppler imaging flare (metoda hodnotící C vlákna mediovanou vazodilatací kůže v reakci na hypertermii) (Sharma et al., 2015) nebo mikroneurografie (technika umožňující pomocí speciálních wolframových jehlových elektrod přímou registraci akčních potenciálů z

nemyelinizovaných postgangliových sympatických vláken a aferentních nociceptivních vláken, záznam se pořizuje nejčastěji z kožních nervových větví n. peroneus v oblasti hlavičky fibuly) (Donadio, Liguori, 2015; Kleggetveit et al., 2012). Výše zmíněné metody se však využívají dominantně na poli výzkumu. Je nutno zdůraznit, že QST ani EP nezhodnotí, zda abnormální nález je výsledkem centrální nebo periferní léze somatosenzitivního traktu (Haanpää et al., 2011).

#### ***1.2.6.2. Diabetická autonomní neuropatie – klinická prezentace a možnosti diagnostiky***

Diabetická autonomní neuropatie (DAN) je dle Toronto Consensus Panel on Diabetic Neuropathy definována jako porucha autonomního nervového systému (ANS) u diabetu nebo prediabetu po vyloučení ostatních příčin (Spallone, 2019). Mezi nervové struktury tvořící „periferní“ část autonomního nervového systému řadíme parasymptikus, sympatikus a enterický systém. Pregangliová vlákna sympatiku i parasymptiku jsou formována axony neuronů, které jsou uloženy intramedullárně v nucleu intermediolaterale (míšní segmenty C8–L3 sympatické neurony, S2–S4 parasymptické neurony). Neurony parasymptiku se vyskytují i v oblasti mozku v jádrech III., VII., IX. a X. hlavového nervu. Pregangliová vlákna jsou následně přepojena v sympatických a parasymptických gangliích na vlákna postganglionární vedoucí k cílovým strukturám. Inervují hladkou svalovinu vnitřních orgánů, cév a kůže, dále srdce, endokrinní a exokrinní žlázy. Enterický systém tvoří plexus myentericus a submucosus, který se vyskytuje ve stěně gastrointestinálního traktu (GIT) od kardiálního žaludku po sphincter ani internus (Čihák, 1997). DAN může potenciálně postihnout jakoukoliv součást ANS, a dá se tak považovat za systémovou poruchu (Verrotti et al., 2014).

Závažnou formu DAN představuje kardiovaskulární autonomní neuropatie (CAN), která může vést k maligní arytmii a náhlé srdeční smrti (Brock et al., 2016; Ewing, 1991). Projevy CAN jsou zpočátku nenápadné a mohou být snadno přehlédnuty. Jejich podkladem je relativní zvýšení tonu sympatiku rezultující z poškození vagového nervu. Podobně jako u somatické DN jsou nejprve poškozena nejdelší nervová vlákna, která jsou v ANS zastoupena právě parasymptickými vlákny n. vagus (Pop-Busui, 2010). Mezi časné symptomy CAN patří klidová tachykardie (tepová frekvence vyšší než 100 tepů za minutu), fixovaná srdeční frekvence (snížená variabilita srdeční frekvence), intolerance fyzické zátěže, abnormální regulace krevního tlaku (TK) s absencí fyziologického poklesu TK během spánku. V pozdějších fázích CAN dochází k sympatické denervaci srdce postupující směrem od



apexu k srdeční bazi, je narušena funkce komor a konečným výsledkem je kardiomyopatie. Typickými příznaky u rozvinuté formy CAN jsou tak intolerance ortostázy, recidivující synkopy z důvodu ortostatické hypotenze (pokles systolického TK o  $> 30$  mmHg nebo pokles diastolického TK o  $> 10$  mmHg ve 2. minutě po postavení), supinní arteriální hypertenze, němé (bezbolestné) ischemie myokardu a srdeční arytmie (Azmi et al., 2019; Boulton et al., 2005; Pop-Busui, 2010; Spallone, 2019).

Mezi další závažnou komplikaci DAN řadíme tzv. syndrom nerozpoznání hypoglykémie (glykémie  $< 3$  mmol/l) (Desouza et al., 2010), který je definovaný jako výskyt příznaků neuroglykopenie (deficit glukózy v mozku) před objevením se varovných autonomních příznaků (de Galan et al., 2006; Martín-Timón, Del Cañizo-Gómez, 2015). Neuroglypenické symptomy zahrnují závratě, slabost, delirium, křeče končetin, kvantitativní poruchu vědomí od somnolence až po kóma. Hypoglykémii navozené tzv. varovné autonomní příznaky představují tremor, palpitace, anxietu, hyperhidrózu, pocit hladu a parestézie. Častěji se s touto komplikací setkáváme u pacientů s T1DM, naštěstí po nastolení euglykémie většinou příznaky rychle odeznívají (Hepburn et al., 1991).

Další neméně závažné projevy DAN vyplývají z dysfunkce gastrointestinálního a urogenitálního traktu. Nejčastěji si pacienti stěžují na nauzeu, časnou sytost, pyrózu, profuzní průjmy, dysurické obtíže a erektilní dysfunkci. V rámci DAN se též setkáváme s poruchami pupilomotoriky, sníženou potivostí distálních částí těla s kompenzatorní hyperhidrózou obličeje a horní části trupu (Bista Karki et al., 2020; Brock et al., 2016; Chandrasekharan, Srinivasan, 2007; Tesfaye et al., 2010; Verrotti et al., 2014; Vinik, Erbas, 2013). Jednotlivé příznaky u konkrétních forem DAN shrnuje tab. 2.

K detekci a následné monitoraci dyautonomních příznaku lze s výhodou využít validovaných dotazníků. Podrobné zmapování autonomního profilu pacientů nabízí např. dotazník COMPASS 31 (Composite Autonomic Symptom Score 31) (Sletten et al., 2012), který byl validovaný pro zhodnocení přítomnosti CAN porovnáním se standardními diagnostickými testy kardiovaskulárních autonomních reflexů (CARTs). COMPASS 31 vykazoval 75 % senzitivitu a 67 % specificitu pro stanovení CAN (Greco et al., 2011). Dalším často využívaným dotazníkem je SAS (Survey of Autonomic Symptoms), jehož hlavní výhodou je relativní časová nenáročnost (Kim et al., 2024; Zilliox et al., 2011).

**Tab 2.** Symptomy u jednotlivých forem diabetické autonomní neuropatie (AN), upraveno dle (Pop-Busui et al., 2017; Azmi et al., 2019)

<b>Kardiovaskulární AN</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• klidová nebo ortostatická tachykardie</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• intolerance fyzické zátěže</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• abnormální regulace krevního tlaku</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ortostatická hypotenze</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• presynkopa, synkopa</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• němá ischemie myokardu</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• srdeční arytmie</li> </ul>	
<b>Gastrointestinální AN</b>	<b>Gastroparéza</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nauzea</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• meteorismus</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• postprandiální vomitus</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• časná sytost</li> </ul>
	<b>Dysmotilita jícnu</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pyróza</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• dysfagie tekutin</li> </ul>
	<b>Diarea</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• profuzní vodnaté průjmy</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• fekální inkontinence</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• střídání s obstipací</li> </ul>
	<b>Urogenitální AN</b>	<b>Dysfunkce močového měchýře</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• močová retence</li> </ul>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• imperativní a frekventní mikce</li> </ul>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• slabý proud moči</li> </ul>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• nykturie</li> </ul>		
<b>Sexuální dysfunkce</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• poruchy erekce</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• snížené libido</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• inadekvátní lubrikace</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• abnormální ejakulace</li> </ul>
<b>Sudomotorická dysfunkce</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• suchost kůže a sliznic, poruchy potivosti</li> </ul>
<b>Pupilomotorická dysfunkce</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• obleněná fotoreakce, porucha akomodace</li> </ul>	

Zlatým diagnostickým standardem pro stanovení CAN jsou testy kardiovaskulárních autonomních reflexů (CARTs, cardiovascular autonomic reflex tests) (Spallone et al., 2011; Spallone, 2019; Vinik et al., 2018). Tyto testy jsou rovněž známé pod označením Ewingova baterie testů podle svého objevitele, který je spolu s kolegy popsal již v 80. letech 20. století (Ewing et al., 1980). CARTs umožňují zhodnotit autonomní funkce na základě variability srdeční frekvence a krevního tlaku během specifických fyziologických provokačních manévru. Mezi tyto manévry patří ortostatický test (klidový leh bezprostředně následovaný stojem), Valsalvův manévr (výdech proti odporu 40 mmHg po dobu 15 sekund, provedení je kontraindikováno u pacientů s těžkou retinopatií pro riziko retinální hemoragie) a test hlubokého dýchání s frekvencí 6 dechů za minutu po dobu 3 minut. Hlavními hodnocenými parametry těchto testů jsou pak Ewingův poměr 30:15 (Ewing 30:15 ratio, poměr 30. a 15. R-R intervalu po postavení), Valsalvův poměr (Valsalva ratio, poměr nejdelšího R-R intervalu těsně po ukončení manévru k nejkratšímu R-R intervalu v průběhu manévru), E:I poměr (expirační:inspirační poměr tj. poměr  $R-R_{max}$  během expíria k  $R-R_{min}$  během insíria) a hodnota TK po postavení ke zhodnocení přítomnosti ortostatické hypotenze (pokles systolického TK o  $> 30$  mmHg nebo pokles diastolického TK o  $> 10$  mmHg). Pro stanovení diagnózy CAN je zapotřebí průkaz alespoň jednoho abnormálního výsledku CART (časná forma CAN). Při přítomnosti dvou a více patologických parametrů CARTs lze považovat diagnózu CAN za definitivní. Kombinace předchozího spolu s průkazem ortostatické hypotenze svědčí pro závažnou a pokročilou formu CAN (Fisher, Tahrani, 2017; Spallone, 2019; Vinik et al., 2018).

E:I poměr, Valsalvův poměr i Ewingův poměr 30:15 se řadí mezi základní hodnocené parametry v rámci tzv. časové analýzy variability srdeční frekvence (HRV, heart rate variability). O autonomní regulaci HRV nás informují i další ukazatele časové analýzy HRV, mezi které řadíme sdNN (směrodatná odchylka všech normálních R-R intervalů během EKG záznamu), jehož hodnota odráží funkci sympatiku i parasympatiku, a dále parametr rMSSD (druhá odmocnina průměrného rozdílu přilehlých po sobě jdoucích R-R intervalů), který vypovídá zejména o aktivitě parasympatiku (Vinik et al., 2018). Spektrální (frekvenční) analýza HRV vychází z faktu, že jednotlivé ukazatele kardiovaskulárních funkcí současně oscilují na různých frekvencích, které lze diferencovat a rozdělit do několika pásem. Nízkofrekvenční pásmo (LF, low frequency, 0,04–0,15 Hz) odráží aktivitu baroreflexu, tedy funkci parasympatiku i sympatiku. Pásmo vysokofrekvenční (HF, high frequency, 0,15–0,4 Hz) reprezentuje dominantně aktivitu parasympatiku, resp. n. vagus. Konkrétně se v rámci

spektrální analýzy hodnotí zejména ukazatel LF power (low frequency power, výkon nízkofrekvenčního pásma) a HF power (high frequency power, výkon vysokofrekvenčního pásma) (Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996; Opavský, 2002; Vlčková et al., 2010). Někteří autoři ve svých studiích používají ke stanovení diagnózy CAN kombinaci parametrů časové (E:I poměr, Valsalvův poměr, poměr 30:15, změna TK po postavení) i spektrální analýzy (LF power, HF power a výkon pásma velmi nízkých frekvencí – VLF power). Diagnózu CAN lze pak stanovit při přítomnosti dvou a více abnormálních výsledků (Vinik, Ziegler, 2007). Výsledky CARTs mohou být ovlivněny řadou vnějších i vnitřních faktorů, proto je nutné vyšetření provádět za striktně standardizovaných podmínek a výsledky hodnotit dle věkově vázaných norem. Hlavní faktory ovlivňující výsledky CARTs viz. tab. 3. Kvantitativně zhodnotit sympatickou inervaci srdce lze pomocí scintigrafického vyšetření s využitím radiofarmaka  $^{123}\text{I}$ -MIBG ( $^{123}\text{I}$ -metaiodobenzylguanidin), který je analogem noradrenalinu (Dimitropoulos et al., 2014; Scholte et al., 2010). Diagnostické možnosti u ostatních forem DAN shrnuje tab. 4.

**Tab 3.** Hlavní faktory zkreslující výsledky CARTs, upraveno dle (Spallone et al., 2011)

<b>ZKRESLUJÍCÍ FAKTORY</b>	<b>DOPORUČENÍ</b>
<b>Věk</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• výsledky CARTs hodnotit dle věkově vázaných norem</li> </ul>
<b>Fyzická aktivita</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vyvarovat se zvýšené fyzické aktivitě nejméně 24 hod před CARTs</li> </ul>
<b>Jídlo, pití, abusus</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vyšetřovat nalačno, nekouřit, nepít alkohol a kofeinové nápoje alespoň 2 hod před CARTs</li> </ul>
<b>Interkurentní onemocnění</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nevyšetřovat při akutním infektu, horečce, dehydrataci, zvýšeném stresu</li> </ul>
<b>Medikace</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vysadit léky ovlivňující srdeční frekvenci a TK (diuretika, sympatolytika, psychofarmaka) nejméně 24 hod před CARTs</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vyšetřovat minimálně 2 hod po poslední aplikaci krátkodobého inzulínu</li> </ul>
<b>Hladina glykémie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nevyšetřovat při glykémii <math>&lt; 3</math> a <math>&gt; 10</math> mmol/l</li> </ul>

**Tab 4.** Diagnostické metody diabetické autonomní neuropatie (DAN) mimo CAN, upraveno dle (Sharma et al., 2020; Sharma et al., 2022)

<b>Gastrointestinální DAN</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• scintigrafie žaludku</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• anorektální manometrie</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dechový test s podáním <sup>13</sup>C-oktanové kyseliny</li> </ul>
<b>Urogenitální DAN</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• stanovení postmikčního rezidua</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• urodynamická vyšetření</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• měření noční penilní tumescence</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• duplexní ultrazvuk penilních arterií</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• intrakavernózní aplikace prostaglandinu</li> </ul>
<b>Sudomotorické dysfunkce</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• QSART (quantitative sudomotor axon reflex test, kvantitativní sudomotorický test)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TST (thermoregulatory sweat testing, termoregulační potní test)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SSR (sympathetic skin respons, sympatický kožní reflex)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sudoscan™ (měření elektrochemické kožní vodivosti dlaní a plosek)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neuropad® (náplast aplikovaná na plosky, která mění barvu v přítomnosti potu)</li> </ul>
<b>Poruchy zornicových reakcí</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pupilometrie</li> </ul>

### 1.2.7. Management diabetické neuropatie

DN je až na vzácné případy (např. léčbou indukovaná diabetická neuropatie) (Gibbons, 2020; Boulton et al., 2013) ireverzibilním kauzálně nevyléčitelným onemocněním, takže stěžejní zůstává prevence vzniku a zpomalení progresu DN. Hlavními pilíři v managementu

DN jsou léčba hyperglykémie, ovlivnění přidružených kardiovaskulárních rizikových faktorů, podiatrická péče a symptomatická léčba neuropatické bolesti.

### *1.2.7.1. Screening a prevence*

Dle doporučení American Diabetes Association by měla být zhodnocena přítomnost DSPN u každého diabetika 2. typu v době stanovení diagnózy, u diabetiků 1. typu 5 let od stanovení diagnózy a u pacientů s prediabetem v případě, že si stěžují na neuropatickou symptomatiku. Následně opakovat s frekvencí 1x za rok. Mezi doporučené screeningové metody řadí vyšetření monofilamentem, ladičkou, a orientační zhodnocení termoalgického čítí (Pop-Busui et al., 2017). Pro ostatní běžné orgánové komplikace DM, kterými jsou diabetická retinopatie a nefropatie, t.č. existují velice spolehlivá screeningová vyšetření (vyšetření očního pozadí, detekce mikroalbuminurie), která umožňují zachytit již incipientní fázi onemocnění. Bohužel, v případě DSPN se v praxi často setkáváme s tím, že je diagnostikována až v pokročilém preulcerativním stádiu. Je to dáno tím, že se v rámci základního screeningu nadále používají dominantně pouze testy hodnotící funkci silných nervových vláken (ladička, reflexy, monofilamentum) a poškození tenkých nervových vláken v iniciální fázi DN může být přehlédnuto (Burgess et al., 2021). U pacientů s již diagnostikovanou retinopatií, nefropatií, DSPN a s recidivujícími epizodami nerozpoznaných hypoglykemií by měla být vždy zhodnocena přítomnost autonomní dysfunkce (Pop-Busui et al., 2017).

Léčba hyperglykémie s těsnou kompenzací hladin krevní glukózy je zásadní v prevenci vzniku a progresi DN zejména pro pacienty s T1DM. Efekt kompenzace hyperglykémie u diabetiků 2. typu není potvrzený. (Callghan et al., 2012, Feldman et al., 2019). Nízký benefit intenzivní antidiabetické terapie u T2DM pravděpodobně souvisí s tím, že pacienti často trpí asymptomatickou hyperglykemií již řadu let před stanovením diagnózy DM, a mají častěji přidružené další rizikové faktory pro rozvoj DN, zejména dyslipidémii (Pop-Busui et al., 2017). Doporučena je rovněž pravidelná fyzická aktivita (aerobní trénink) a individuálně nastavená dieta. Studie, které sledovaly vliv diety a pravidelného cvičení na rozvoj či progresi DN prokázaly nárůst IENFD v kožní biopsii u diabetiků, kteří dodržovali nastavený jídelníček a pravidelný pohyb oproti pacientům, kteří toto nedodržovali (Balducci et al., 2006; Singleton et al., 2014; Smith et al., 2006).

### ***1.2.7.2. Látky modifikující přirozený průběh diabetické neuropatie (disease-modifying drugs, DMD)***

Byla testována celá řada látek, které mohou potenciálně zasahovat do patofyziologických procesů DN. Pouze některé však ve výsledku prokázaly klinický efekt. Patří mezi ně alfa-lipoová kyselina (známá též pod názvem kyselina thioktová), která působí jako silný antioxidant a vykazuje protizánětlivé účinky (Rochette et al., 2015). V metaanalýze studií hodnotících efekt kyseliny alfa-lipoové na ovlivnění příznaků DN (studie ALADIN I, ALADIN III, SYDNEY a NATHAN II) bylo prokázáno, že infuzní podávání kyseliny alfa-lipoové v dávce 600 mg denně po dobu tří týdnů (ve všední dny) významně snížilo výskyt neuropatických příznaků u pacientů se symptomatickou formou DN oproti placebo, hodnoceno dle TSS (Total Symptom Score) a NIS (Neuropathy Impairment Score) (Ziegler et al., 2004). Někteří autoři prokázali příznivý efekt benfotiaminu (derivát vitamínu B1, redukuje tvorbu AGEs) u DN na NSS (Neuropathy Symptom Score) i na parametrech kondukčních studií n. peroneus (Haupt et al., 2005; Stracke et al., 1996; Stracke et al., 2008). V Japonsku a Indii byl registrovaný pro léčbu symptomatické DN jeden z inhibitorů aldózoreduktázy, konkrétně epalrestat, který zasahuje do polyolové dráhy. Bylo prokázáno, že signifikantně zlepšuje neuropatické příznaky i zpomaluje progresi DN (Gotto et al., 1995; Hotto et al., 2006). Jiné inhibitory aldózoreduktázy (tolrestat, zenarestat, lidorestat) se nepoužívají, protože mají závažné organotoxické účinky (Boulton et al., 2013). Dalším registrovaným přípravkem je Actovegin<sup>®</sup>, jehož součástí je vysoce purifikovaný ultrafiltrát telecí krve s více než 200 biologicky aktivními látkami, které vykazují antioxidační a neuroprotektivní účinky (Stelmakh et al., 2016). Podávání tohoto ultrafiltrátu (20 dní intravenózně 2000 mg denně, následných 140 dní per os 1800 mg denně) významně zlepšilo neuropatické příznaky dle TSS (Total Symptom Score) a NIS (Neuropathy Impairment Score), snížilo hodnoty vibračních percepčních prahů distálně na končetinách a pozitivně ovlivnilo kvalitu života hodnocenou dotazníkem SF-36 ve skupině T2DM pacientů se symptomatickou DN oproti pacientům na placebo (Ziegler et al., 2009).

Lewis s kolektivem publikoval studii, ve které prokázali pozitivní efekt omega-3 nenasycených mastných kyselin (PUFA, polyunsaturated fatty acids). Sledovali po dobu 1 roku 40 T1DM pacientů s DSPN, kterým podávali PUFA (denně 560 mg kyseliny dokosapentaenové, 750 mg kyseliny eikosapentaenové a 1020 mg kyseliny dokosahexaenové). Zjistili, že došlo ke zlepšení jednoho z morfometrických parametrů tenkých nervových vláken subbazálního plexu rohovky hodnocených pomocí CCM,

konkrétně nárůst CNLF (délka korneálních nervových vláken). Další parametry TQST, kondukční nervové studie ani CARTs se po léčbě, v porovnání s kontrolní skupinou, signifikantně nelišily (Lewis et al., 2017).

### ***1.2.7.3. Léčba bolesti***

V léčbě bolestivé DN (painful DN, pDN) je snaha o tzv. opioid-free strategii, tedy vyvarovat se chronického užívání opioidních analgetik (Feldman et al., 2019). Zahájení léčby pDN se doporučuje pomocí monoterapie jedním z preparátů první volby, mezi které patří pregabalin (PGB) a duloxetin. Obvyklá denní dávka PGB je 300–600 mg, pro duloxetin 60–120 mg (Attal et al., 2010; Bril et al., 2011; Handelsman et al., 2015; Pop-Busui et al., 2017). Některé odborné společnosti řadí mezi lék 1. volby i amitriptylin (tricyklická antidepresiva, TCA) (Attal et al., 2010; Handelsman et al., 2015). Alternativou k PGB je gabapentin (GBP) v terapeutickém rozmezí 900–3600 mg za den. PGB a GBP jsou analoga kyseliny gama-aminomáselné a vážou se na  $\alpha$ 2- $\delta$  podjednotku napětově řízených kalciových kanálů. Duloxetin se řadí mezi skupinu SNRI (inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu). Při selhání monoterapie výše uvedenými medikamenty je doporučeno využít kombinovanou terapii preparáty první volby. Studie COMBO-DN (Combination versus Monotherapy of pregabalin and duloxetine in Diabetic Neuropathy) však zjistila, že analgetický efekt vysokých dávek PGB (600 mg denně) a duloxetinu (120 mg denně) v monoterapii je převážně srovnatelný s kombinovanou terapií 60 mg duloxetinu s 300 mg PGB denně (Teshfaye et al., 2013). Při nedostatečném analgetickém efektu přistupujeme k preparátům 2. volby, mezi které jsou nejčastěji řazeny tramadol (agonista opioidních  $\mu$ -receptorů a SNRI), tapentadol (agonista opioidních  $\mu$ -receptorů a inhibitor zpětného vychytávání noradrenalinu) a opioidy (oxykodon). Dále lze využít lokální aplikaci 5% lidokainových (inaktivace rychlých napětově řízených sodíkových kanálů) nebo 8% kapsaicinových (selektivní agonista vaniloidního receptoru TRPV1) náplastí (Attal et al., 2010; Bril et al., 2011; Gimbel et al., 2003; Handelsman et al., 2015; Iqbal et al., 2018; Watson et al., 2003).

### ***1.2.7.4. Farmakologická léčba autonomní DN***

V léčbě časných stádií CAN, kdy dominuje vagová dysfunkce, lze použít ACE inhibitory (ACE, angiotenzin konvertující enzym) a kardioselektivní betablokátory (metoprolol), u kterých bylo prokázáno zvýšení variability srdeční frekvence a zlepšení sympatikovagální balance, pozitivní ovlivnění klidové a posturální tachykardie (Boulton et al., 2005;



Ebbehøj et al., 2002). V pokročilejších fázích CAN s již rozvinutou ortostatickou hypotenzí (OH) je doporučeno nasazení preparátu se sympatomimetickou aktivitou. U všech je nutná velmi pozvolná titrace, pečlivá monitorace vedlejších nežádoucích účinků a vybrat vždy nejschůdnější alternativu vzhledem k přidruženým komorbiditám pacienta. K dispozici je midodrin (agonista  $\alpha_1$ -adrenoreceptoru), fludrokortison (mineralokortikoidní, méně glukokortikoidní účinky). Bohužel, častým závažným nežádoucím účinkem je supinní hypertenze (Low et al., 1997; Purewal, Watkins, 1995; Pop-Busui et al., 2017). Subkutánně aplikovaný oktreotid (syntetický analog somatostatinu) lze s výhodou použít u pacientů s postprandiální arteriální hypotenzí (Hoeldtke et al., 2007). V léčbě OH se dále využívá pyridostigmin (inhibitor acetylcholinesterázy), jehož výhodou je, že nezhoršuje supinní hypertenzi (Singer et al., 2006).

Potenciál zlepšit autonomní funkce u CAN mají u pacientů s T2DM i některá perorální antidiabetika. Např. u gliflozinů (inhibitory sodíko-glukózového transportéru 2, SGLT2i) byl klinicky prokázán sympatikoinhibiční efekt (Spallone, 2010; Yamamoto et al., 2002) a u metforminu podávaného v dávce 850 mg 2x denně bylo zjištěno zlepšení sympatikoparasympatické balance na základě výsledků spektrální analýzy HRV (LF/HF ratio) oproti placebo (Manzella et al., 2004).

Farmakoterapie diabetické gastroparézy spočívá v podávání prokinetik (metoklopramid), nově se testují agonisté motilinových, ghrelinových a neurokininových receptorů (Kumar et al., 2018). U diabetických průjmů se používají běžná antimotilika (zpomalují střevní peristaltiku a zvyšují tonus análního sfinkteru), antibiotická léčba (metronidazol a tetracyklin) k eradikaci nadměrného bakteriálního růstu, u těžkých forem se prokázalo efektivní podání ramosetronu (antagonista 5-HT<sub>3</sub> serotoninového receptoru) (Murao, Hosokawa, 2010). Močové urgencye i nykturii lze ovlivnit antimuskariniky (např. oxybutinin, tolterodin) (Azmi et al., 2019). V léčbě erektilní dysfunkce se používají dominantně inhibitory fosfodiesterázy typu 5. Další možností je intrauretrální nebo intrakavernózní aplikace prostagladinu E1 (Pop-Busui et al., 2017). V léčbě sudomotorických dysfunkcí byl prokázán efekt lokálně aplikovaného glykopyrolátu (anticholinergní účinek) u pacientů s tzv. diabetic gustatory sweating (excesivní hyperhidróza hlavy a krku v bezprostřední návaznosti na konzumaci jídla) (Patel et al., 2021; Pop-Busui et al., 2017).

## **2. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY**

Naše práce chce primárně upozornit na důležitost časně diagnostiky diabetické neuropatie (DN) se zaměřením na poškození tenkých nervových vláken v somatickém a autonomním nervovém systému. Jedním z hlavních cílů bylo zhodnotit možnost využití TQST (termického kvantitativního testování senzitivity) v detekci poškození tenkých nervových vláken u distálních symetrických forem diabetické neuropatie (SFN a MFN) a kardiální autonomní neuropatie (CAN) u pacientů s T1DM a T2DM, dále posoudit vliv přítomnosti CAN na rozvoj aterosklerózy a stanovit prevalenci a rizikové faktory deprese a anxiety u diabetiků s bolestivou a nebolestivou formou neuropatie i u pacientů bez DN.

### **2.1. Práce 1: Kvantitativní testování termických prahů jako screeningový nástroj kardiální autonomní neuropatie u pacientů s diabetes mellitus**

Řada autorů se ve svých studiích zabývala vyšetřením termických prahů (TQST) a kardiiovaskulárních autonomních reflexů (CARTs) u pacientů s diabetes mellitus, ale nikoliv jejich potenciální zástupností (Orlov et al., 2012; Tavakoli et al., 2015; Ziegler et al., 2015). Poněvadž stejná tenká nervová vlákna typu C jsou součástí postgangliových autonomních nervů i somatických periferních nervů, lze předpokládat, že abnormální výsledky CARTs by mohly korelovat s abnormálními výsledky TQST. Hypotéza: TQST lze využít k identifikaci diabetiků s vyšším rizikem přítomnosti CAN. Hlavním cílem práce bylo zhodnotit, zda TQST lze použít jako jednoduchou screeningovou metodu k detekci pacientů ohrožených diagnózou CAN namísto ad hoc používaných CARTs, které je nutno provádět za striktně standardizovaných podmínek, a jejichž provedení a vyhodnocení zaujímá podstatně více času. Další součástí této práce bylo stanovení rizikových faktorů pro CAN.

### **2.2. Práce 2: Kardiální autonomní neuropatie může hrát roli v patogenezi aterosklerózy u pacientů s diabetem 1. typu**

Výsledky několika dříve publikovaných studií naznačují, že snížená variabilita srdeční frekvence a přítomnost CAN u pacientů s DM mohou přispívat k rozvoji a progresi aterosklerózy (Cannani et al., 2013; Dayem et al., 2015; Fakhrzadeh et al., 2012; Jung et al., 2013; Meyer et al., 2004; Rodrigues et al., 2010). Tloušťka komplexu intimy-médie karotických arterií (CIMT, carotid intima-media thickness) je zástupným markerem aterosklerózy. Hypotéza: Diabetici 1. typu s CAN mají vyšší hodnoty CIMT na rozdíl od

diabetiků 1. typu bez CAN. Hlavním cílem této práce bylo zhodnotit, zda existuje souvislost mezi přítomností CAN a CIMT u pacientů s T1DM.

### **2.3. Práce 3: Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých vláken u diabetiků 1. typu**

TQST je nedílnou součástí testování funkce tenkých nervových vláken a je zahrnuto v diagnostických kritériích SFN. Hlavní hypotéza: S délkou trvání diabetu 1. typu narůstají abnormality termických prahů pro detekci tepla a chladu. Hlavními cíli studie bylo zhodnotit, zda existují signifikantní rozdíly v hodnotách termických prahů mezi pacienty s T1DM a zdravými kontrolami. Dále stanovit změnu termických prahů v závislosti na délce trvání diabetu a zhodnotit význam testování WDT a CDT na horních končetinách v rámci detekce SNF či MFN u T1DM pacientů, když většina DN je tzv. length-dependentních.

### **2.4. Práce 4: Rizikové faktory pro depresi a anxiety u bolestivé a nebolestivé formy diabetické neuropatie**

Většina dosud publikovaných studií hodnotí psychické dopady neuropatie převážně u diabetiků s bolestivými formami DN (pDN). Lze předpokládat, že i samotný fakt diagnózy chronického onemocnění DM a obavy plynoucí z potenciálních komplikací budou negativně ovlivňovat kvalitu života pacientů a zvyšovat výskyt psychických onemocnění. Hlavní hypotézy: Vyšší prevalence úzkosti a deprese se vyskytuje u pacientů s nebolestivou formou neuropatie i u diabetiků bez neuropatie oproti zdravým kontrolám. Cílem této multicentrické observační studie bylo zhodnotit prevalenci symptomů deprese a anxiety nejen u pacientů s pDN, ale i u forem nebolestivých a u pacientů bez neuropatie. Dále se práce zaměřila na vytipování rizikových faktorů (biologických, socioekonomických a klinických) vedoucí ke zvýšenému emočnímu stresu a následnému rozvoji anxiety a deprese v jednotlivých podskupinách diabetiků i u kontrolních subjektů.

### 3. METODIKA

#### 3.1. Kvantitativní testování termických prahů jako screeningový nástroj kardiální autonomní neuropatie u pacientů s diabetes mellitus

##### 3.1.2. Charakteristika souboru

Do této průřezové studie bylo zařazeno celkem 87 pacientů s diabetem (T1DM, n = 55; T2DM, n = 32) a 52 zdravých kontrol odpovídajícího věku a pohlaví. Osoby, u kterých byla prokázána jiná možná příčina somatické či autonomní neuropatie, nebo které vykazovaly významný kognitivní deficit (nutnost těsné spolupráce během diagnostických testů), byly ze studie vyřazeny. Dva pacienti s diabetem (T2DM) a tři zdravé kontroly museli být nakonec vyloučeni z důvodu nově zjištěné fibrilace síní, zachycené během EKG monitorace při provádění CARTs. Finálně byla analyzována data od 85 pacientů s diabetem (55 pacientů s T1DM + 30 pacientů s T2DM) a 49 zdravých kontrol. Hlavní charakteristiky studovaných subjektů jsou shrnuty v tab. 5

**Tab. 5** Hlavní charakteristiky studovaných subjektů

	<b>Kontrolní skupina</b>	<b>DM</b>	<b>P-hodnota</b>
<b>Počet subjektů</b>	49	85	
<b>Pohlaví Ž/M</b>	30/19	43/42	0,4379
<b>Věk (roky)</b>	53,9 (12,2)	50,7 (14,5)	0,4379
<b>HbA1c (mmol/mol)</b>	38,3 (3,4)	69,9 (19,1)	< 0,001

Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr (směrodatná odchylka).

##### 3.1.3. Klinické vyšetření a biochemické parametry

Všichni podstoupili neurologické vyšetření zaměřené na senzitivní a motorické neuropatické příznaky, dále byla zhodnocena přítomnost sekundárních diabetických komplikací (retinopatie, nefropatie). Po 10 minutách klidu byl každé osobě změřen krevní tlak kalibrováním tonometrem na obou horních končetinách, následně byla použita průměrná

hodnota. Bylo provedeno biochemické vyšetření krve a moči monitorující metabolismus glukózy, renální a jaterní parametry, funkce štítné žlázy, základní nutriční parametry a albuminurii. Funkce tenkých somatických nervových vláken byla vyšetřena pomocí Neurotipsů (rozlišení ostrého a tupého podnětu hodnotící algickou percepcí) a TipThermu (rozlišení teplého a studeného konce pomůcky hodnotící termické cití). Funkce silných nervových vláken byla hodnocena vyšetřením vibračních prahů pomocí kalibrované 128-Hz ladičky a taktilní cití pomocí 10g nylonového Semmes-Weinsteinova monofilamenta.

### **3.1.4. Kvantitativní testování termických prahů a dotazníky**

Termické prahy byly naměřeny tepelným stimulátorem (SENSELab-TERMOTEST MSA, Somedic) pomocí termody (kapalinou chlazený Peltierův článek) s kontaktní plochou 25 × 50 mm vyrobenou z nealergenního stříbra. Byly stanoveny prahy pro detekci chladu (CDT, cold detection threshold) a prahy pro vnímání tepla (WDT, warm detection threshold) v oblasti tenaru, tibie a dorzu nohy (nárt) bilaterálně. Jako vyšetřovací algoritmus byla použita nerandomizovaná metoda s měřením reakčního času neboli metoda limitů. Vyšetření trvalo přibližně 20 minut. V každé testované oblasti bylo zaznamenáno pět hodnot pro vnímání tepla a pět hodnot pro vnímání chladu. Prahová hodnota (WDT a CDT) byla softwarem automaticky stanovena jako průměr z těchto pěti hodnot na daném regionu těla. K vyhodnocení CDT a WDT byla použita dříve publikovaná normativní data (Magerl et al., 2010). Pro všechny studijní subjekty byly vyplněny následující validované dotazníky: Michigan Neuropathy Screening Instrument Questionnaire (MNSIQ), Michigan Neuropathy Screening Instrument Examination (MNSIE), Utah Early Neuropathy Scale (UENS), Survey of Autonomic Symptoms (SAS) a painDetect (Freynhagen et al., 2006; Herman et al., 2012; Singleton et al., 2008; Zilliox et al., 2011). Přítomnost neuropatických symptomů byla přiznána osobám s MNSIQ  $\geq 4$  body, neuropatická komponenta bolesti při painDetect skóre  $\geq 18$  bodů (Herman et al., 2012; Freynhagen et al., 2006). Distální symetrická polyneuropatie (DSPN) byla vyšetřena podle doporučení American Diabetes Association a byla stanovena u subjektů, které měly skóre MNSIE  $\geq 2$  body (Barbosa et al., 2017; Moghtaderi et al., 2005; Pop-Busui et al., 2017).

### 3.1.5. Testy kardiovaskulárních autonomních reflexů

Testy kardiovaskulárních autonomních reflexů (CARTs) byly vyšetřeny pomocí zařízení Fan study (Schwarzer, Německo) za standardizovaných podmínek (Spallone et al., 2011). Byl proveden ortostatický test (5minutový klidový leh bezprostředně následovaný 5minutovým stojem), Valsalvův manévr (výdech proti odporu 40 mmHg po dobu 15 sekund, provedení je kontraindikováno u pacientů s těžkou retinopatií pro riziko retinální hemoragie), test hlubokého dýchání s frekvencí 6 dechů za minutu po dobu 3 minut a monitorace změn krevního tlaku (TK) během stoje k detekci ortostatické hypotenze. Celkové vyšetření bez vyhodnocení výsledků trvá přibližně 40 minut. Hodnocené byly parametry časové analýzy variability srdeční frekvence, konkrétně Ewingův 30:15 poměr (poměr 30. a 15. R-R intervalu po postavení), Valsalvův poměr (poměr nejdelšího R-R intervalu těsně po ukončení manévru ku nejkratšímu R-R intervalu v průběhu manévru), E:I poměr (tj. poměr  $R-R_{max}$  během expíria k  $R-R_{min}$  během inspíria) a přítomnost ortostatické hypotenze (pokles systolického TK o  $> 30$  mmHg a/nebo pokles diastolického TK o  $> 10$  mmHg po 2 minutách po postavení) (Boulton et al., 2005). Podle American Diabetes Association je pro stanovení diagnózy CAN zapotřebí průkaz alespoň jednoho abnormálního výsledku CART. Byly použity následující dříve publikované normativní hodnoty: Ewing 30:15 poměr  $> 1,03$ ; E:I poměr: věk 20–24 let  $> 1,17$ , věk 25 – 29 let  $> 1,15$ , věk 30–34 let  $> 1,13$ , věk 35–39 let  $> 1,12$ , věk 40–44 let  $> 1,10$ , věk 45– 49 let  $> 1,08$ , věk 50–54 let  $> 1,07$ , věk 55–59 let  $> 1,06$ , věk 60–64 let  $> 1,04$ , věk 65– 69 let  $> 1,03$  a věk 70–75 let  $> 1,02$ ; a Valsalvův poměr  $> 1,2$  (Boulton et al., 2005).

### 3.1.6. Statistické metody

Statistická analýza byla provedena pomocí R package verze 3.4.4 (R Core Team, 2018, Vídeň, Rakousko). Rozdíly ve spojitých proměnných v jednotlivých studijních skupinách byly testovány pomocí dvouvýběrových testů. Pro parametricky distribuovaná data byl použit t-test a pro neparametricky distribuovaná data Mann-Whitney-Wilcoxonův test. Rozdíly v kategoriálních proměnných mezi studovanými skupinami byly testovány pomocí  $\chi^2$  testu nebo Fisherova exaktního testu. Ke stanovení teplotního prahu s nejlepší prediktivní hodnotou pro identifikaci CAN-positivních/negativních pacientů byla provedena ROC analýza. Dosažené úrovně testu byly upraveny pro vícenásobné srovnání pomocí Holmovy metody. Upravené úrovně testu  $< 5$  % byly považovány za statisticky významné.

## **3.2. Kardiální autonomní neuropatie může hrát roli v patogenezi aterosklerózy u pacientů s diabetem 1. typu**

### **3.2.1. Základní charakteristika soboru**

Do studie byli zařazeni muži a ženy starší 19 let (zdraví dobrovolníci a diabetici 1. typu, T1DM). Primárně byli osloveni diabetici, u kterých bylo zvýšené podezření na přítomnost CAN (klidová tachykardie, intolerance ortostázy, déletrvajících T1DM, přítomnost sekundárních komplikací diabetu apod.). Kontrolní skupinu tvořili zdraví dobrovolníci bez anamnézy DM či tyreopatie. Vylučovací kritéria zahrnovala přítomnost probíhajícího nádorového nebo infekčního onemocnění, ischemickou chorobu srdeční, periferní či autonomní neuropatii nediabetické etiologie. Tři kontrolní subjekty musely být vyloučeny pro čerstvý záchyt non-diabetické periferní neuropatie. Finálně studii dokončilo 49 pacientů s T1DM (25 žen a 24 mužů, průměrný věk 44,6 let, průměrná délka trvání T1DM 26,5 let) a 45 zdravých kontrol (28 žen a 17 mužů, průměrný věk 54,9 let).

### **3.2.2. Klinické vyšetření a zhodnocení mikrovaskulárních komplikací**

Od všech subjektů byla odebrána podrobná anamnéza s cíleným dotazem na nikotinismus a abusus alkoholu (rizikové faktory aterosklerózy, toxická příčina neuropatie). Tělesná hmotnost a výška postavy byly stanoveny kalibrovanými přístroji, následně byl odvozen index tělesné hmotnosti (body mass index, BMI, poměr hmotnosti v kg a druhé mocniny výšky v m). Po 10 minutách klidného lehu byl kalibrovaným tonometrem změřen krevní tlak na obou horních končetinách, následně byla použita průměrná hodnota. Každý účastník podstoupil za standardizovaných podmínek odběr ranní moči a krve nalačno. Z krve byly analyzovány následující parametry: krevní obraz, hladiny základních iontů, urea, kreatinin, lačná glykémie, glykovaný hemoglobin (HbA1c), triglyceridy (TAG), celkový cholesterol, vysokodenzitní lipoprotein (HDL), nízkodenzitní lipoprotein (LDL), hladina tyreoidu stimulujícího hormonu (TSH), volná frakce tyroxinu (fT4), albumin a celková bílkovina. Z moči byla stanovena přítomnost mikroalbuminurie (poměr albumin/kreatinin vyšší než 2,5 g/mol). Všichni podstoupili oftalmologické vyšetření ke zhodnocení diabetické retinopatie. Distální symetrická polyneuropatie byla vyšetřována a stanovena dle doporučení American Diabetes Association (Boulton et al., 2005).

### 3.2.3. Stanovení kardiální autonomní neuropatie

Diagnóza kardiální autonomní neuropatie (CAN) byla stanovena na základě přítomnosti alespoň dvou abnormálních parametrů časové a/nebo spektrální analýzy variability srdeční frekvence při testech kardiovaskulárních autonomních reflexů (CARTs), viz níže. CARTs byly vyšetřeny pomocí zařízení Fan study (Schwarzer, Německo) za standardizovaných podmínek v dopoledních hodinách. (Spallone et al., 2011). Byl proveden ortostatický test (5minutový klidový leh bezprostředně následovaný 5minutovým stojem), Valsalvův manévr (výdech proti odporu 40 mmHg po dobu 15 sekund), test hlubokého dýchání s frekvencí 6 dechů za minutu po dobu 3 minut a monitorace změn krevního tlaku (TK) během stoje k detekci ortostatické hypotenze. Celkové vyšetření bez vyhodnocení výsledků trvá přibližně 40 minut. Hodnocenými parametry časové analýzy variability srdeční frekvence byly Ewingův 30:15 poměr, Valsalvův poměr, E:I poměr a přítomnost ortostatické hypotenze (pokles systolického TK o  $> 30$  mmHg a/nebo pokles diastolického TK o  $> 10$  mmHg po 2 minutách po postavení). Byly použity následující dříve publikované normativní hodnoty: Ewingův 30:15 poměr  $> 1,03$ ; E:I poměr: věk 20–24 let  $> 1,17$ , věk 25–29 let  $> 1,15$ , věk 30–34 let  $> 1,13$ , věk 35–39 let  $> 1,12$ , věk 40–44 let  $> 1,10$ , věk 45–49 let  $> 1,08$ , věk 50–54 let  $> 1,07$ , věk 55–59 let  $> 1,06$ , věk 60–64 let  $> 1,04$ , věk 65–69 let  $> 1,03$  a věk 70–75 let  $> 1,02$ ; a Valsalvův poměr  $> 1,2$  (Boulton et al., 2005). Dále byly analyzovány parametry spektrální analýzy (LF power, HF power, Total power) získané během ortostatického testu, které byly vyhodnoceny dle normativních dat pro českou populaci (Vlčková et al., 2010). Diagnózu CAN lze pak stanovit při přítomnosti dvou a více abnormálních výsledků (Boulton et al., 2005; Vinik, Ziegler, 2007).

### 3.2.4. Ultrazvuk karotických tepen

Tloušťka komplexu intimy-medie karotických arterií (CIMT, carotid intima-media thickness) byla u všech měřena jedním zkušeným angiologem. Vyšetření bylo provedeno ultrazvukovým přístrojem (Toshiba Nemio MX, Japonsko) s lineární ultrazvukovou sondou Toshiba PLN-805AT (frekvenční rozsah 6,0 až 12,0 MHz). Hodnoty CIMT byly naměřeny z a. carotis communis ve vzdálenosti 1 cm od karotického bulbu. Pro následnou statistickou analýzu byla použita průměrná hodnota ze dvou měření bilaterálně.



### **3.2.5. Statistická analýza**

Byl použit model logistické regrese ze třídy zobecněných aditivních modelů (GAM). Potenciálně nelineární vztahy byly modelovány pomocí penalizovaných splinů (Mala et al., 2017). Hladina  $p < 0,05$  byla považována za statisticky významnou.

## **3.3. Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých vláken u diabetiků 1. typu**

### **3.3.1. Charakteristika souboru**

Do studie bylo zařazeno 45 diabetiků 1. typu (27 žen, 18 mužů). Průměrný věk pacientů byl 45,1 let (min 20, max 82 let), průměrná délka trvání diabetu od stanovení diagnózy byla 25,1 let (min 1 rok, max 56 let), průměrná hodnota glykovaného hemoglobinu HbA1c v době vyšetření byla 72,7 mmol/mol (min 47 mmol/mol, max 113 mmol/mol), kdy cut-off hodnota je 42,00 mmol/mol (biochemická laboratoř FN Motol). Ve sledovaném souboru bylo 26 pacientů léčeno inzulinovou pumpou, zbylých 19 diabetiků bylo na intenzifikovaném inzulinovém režimu. Vylučujícím kritériem pro zařazení do studie byly komorbidity ovlivňující funkci periferního nervového systému, které by vedly k periferní neuropatii. Soubor jsme rozdělili do dvou skupin podle délky trvání diabetu od stanovení diagnózy, kdy hranicí byla délka trvání do 25 let včetně a nad 25 let. Toto kritérium jsme zvolili na základě práce prof. Zieglera, který spolu s kolegy sledoval po dobu téměř 25 let skupinu nově diagnostikovaných T1DM pacientů bez přítomnosti diabetické neuropatie (DN). Ti, kteří neměli dobře kompenzovaný diabetes s vysokou pravděpodobností po 25 letech rozvinuli diabetickou neuropatii (DN). Lze tedy předpokládat, že po 25 letech trvání diabetu zachytíme v naší kohortě klinické známky DN (Ziegler et al., 2015).

### **3.3.2. Kvantitativní testování termických a vibračních prahů, dotazníky**

Vyšetření bylo provedeno za standardizovaných podmínek při kožní teplotě minimálně 32 °C naměřené na obou nártách. Teplota byla měřena pomocí digitálního kontaktního teploměru (Lékařská elektronika, MUDr. Pavel Čelakovský). Jednotlivé termické prahy jsme vyšetřili pomocí teplotního stimulátoru SENSELab-TERMOTEST MSA od firmy Somedic s termodou o kontaktní ploše 25 × 50 mm vyrobenou z nealergického stříbra. Stanovovali jsme termické prahy pro detekci tepla (WDT) a pro detekci chladu (CDT) celkem na šesti místech. Měření proběhlo na tenaru, tibii (bérci) a na nártu bilaterálně. Jako

vyšetřovací algoritmus jsme použili nerandomizovanou metodu reakčního času „limity“. Termoda se v tomto případě z výchozí adaptační teploty 32 °C nejprve pětkrát po sobě ochlazuje a následně pětkrát po sobě otepluje rychlostí 1 °C/1 s. Po každém termickém stimulu se teplota termody vrací zpět na výchozí adaptační teplotu 32 °C. Mezi jednotlivými stimuly je časová prodleva 4–6 s, která je softwarem náhodně vybrána. Pacient je instruován, že pokud ucítí změnu teploty ve smyslu plus nebo minus vzhledem k výchozí teplotě, musí co nejrychleji stisknout tlačítko na zařízení podobné propisovací tužce, které po celou dobu vyšetření drží v ruce. Teplotní práh je následně určen jako průměrná hodnota z daných pěti pokusů. Naměřené hodnoty tepelných prahů byly porovnány s daty od 50 zdravých kontrol (25 mužů, 25 žen, pět osob v každé věkové dekádě od 20 do 70 let včetně). Vylučovací kritéria kontrol zahrnovala absenci nejčastějších příčin neuropatie tenkých vláken v populaci České republiky, tj. DM, hyperlipidémii, chronický ethylabusus (Bednařík et al., 2009) a jiných známek poškození periferního či centrálního nervového systému (cerebrovaskulární, autoimunitní, infekční, metabolické a toxické). Poškození silných nervových vláken jsme hodnotili pomocí dotazníků MNSIE, MNSIQ a stanovením vibračních prahů na distálním článku palce obou DK za použití Biothesiometru – Vibratron II. Vyšetřovací algoritmus a normativní data jsme převzali z doporučených postupů diagnostiky diabetické neuropatie České diabetologické společnosti (Lacigová et al., 2016). Neuropatické symptomy (Michigan Neuropathy Screening Instrument Questionnaire; MNSIQ  $\geq 4$  body) vykazovalo 21 pacientů (46 %) a distální poškození silných nervových vláken (Michigan Neuropathy Screening Instrument Examination, MNSIE  $\geq 2,5$  bodu a/nebo patologické hodnoty vibračních prahů na distálním článku palce dolních končetin – použita normativní data České diabetologické společnosti) bylo zachyceno u 24 diabetiků (53,3 %) (Herman et al., 2012; Lacigová et al., 2016).

### **3.3.3. Statistická analýza**

Porovnání parametrů jednotlivých definovaných podskupin souboru bylo provedeno s využitím  $\chi^2$  testu, t-testu a Mann-Whitneyova U testu podle charakteru proměnných. Pro stanovení vztahu termických prahů a délky trvání diabetu byla použita vícerozměrná regresní analýza. Výsledky byly považovány za statisticky signifikantní v případě  $p < 0,05$ . Statistické analýzy byly provedeny v softwaru GraphPad Prism, v.6.0 (GraphPad Software, La Jolla, California, USA) a IBM SPSS Statistics 23 (IBM Corporation, Armonk, New York, USA).

### **3.4. Rizikové faktory pro depresi a anxiету u bolestivé a nebolestivé formy diabetické neuropatie**

#### **3.4.1. Charakteristika souboru**

Do této multicentrické průřezové observační studie byli primárně zařazeni pacienti s T1DM a T2DM (diabetes 1. a 2. typu) s diabetickou distální symetrickou polyneuropatií (DSPN), kteří byli pravidelně sledováni v osmi různých centrech v ČR a na Slovensku. Kromě pacientů s DSPN byly studovány menší kontrolní skupiny diabetických pacientů bez polyneuropatie a zdravé nediabetické kontroly. Všichni pacienti podstoupili podrobný rozbor anamnestických dat včetně úrovně vzdělání, zaměstnání a užívání návykových látek (ethanol, kouření). U každého účastníka byly změřeny základní vitální funkce a stanoven index tělesné hmotnosti (body mass index, BMI, poměr hmotnosti v kg a druhé mocniny výšky v m). Byla provedena analýza krve k vyloučení jiných častých příčin polyneuropatie (hladina vit B12, folátu, hormony štítné žlázy, elektroforéza sérových proteinů, krevní obraz, základní jaterní a renální parametry, glykovaný hemoglobin (HbA1c) a lipidogram). Všichni podstoupili neurologické vyšetření zaměřené na zhodnocení klinických známek DSPN a byly s nimi vyplněny validované dotazníky zaměřené na neuropatické symptomy (viz dále pododíl 3.4.2). K potvrzení diagnózy neuropatie byly doplněny kondukční nervové studie v rámci elektromyografického vyšetření (EMG). Pacienti, kteří sice vykazovali klinické známky neuropatie, ale měli normální elektromyografický nález, podstoupili kožní biopsii se stanovením intraepidermální hustoty nervových vláken (IENFD) a kvantitativní testování senzitivity (QST) pro potvrzení suspekce na izolovanou neuropatii tenkých vláken. V případě abnormálního výsledku obou výše uvedených vyšetření byla pacientům rovněž přiznána diagnóza DSPN (Rolke et al., 2006; Tesfaye et al., 2010).

Skupina diabetiků bez DSPN a zdravé kontroly musely splňovat podmínku absence neuropatické symptomatiky a rizikových faktorů pro vznik periferní neuropatie (s výjimkou přítomnosti T1DM nebo T2DM u skupiny diabetiků) tj. normální EMG, termické QST a krevní testy. Mezi vylučovací kritéria studie patřila přítomnost neuropatické bolesti z jiných důvodů než bolestivá forma DSPN (painful DSPN, pDSPN) a/nebo prokázaná léze centrálního nervového systému a/nebo průkaz jiné příčiny vedoucí k periferní neuropatii než diabetes. Finálně studovanou kohortu tvořilo 347 pacientů s pDSPN (medián věku 63,4 let, 55,9 % muži, 16,1 % T1DM), 311 pacientů s nebolestivou formou DSPN (nDSPN) (medián věku 63,7 let, 57,9 % muži, 28 % T1DM), 50 diabetiků bez DSPN (medián věku 61,5 let,

44 % muž, 28 % T1DM) a 71 zdravých kontrol (medián věku 63,0 let, 42,3 % muži). Zařazení účastníci následně podstoupili zhodnocení ukazatelů bolesti, stanovení stupně závažnosti neuropatie a vyplnění dotazníků monitorující psychický stav zaměřených na depresi a anxiету.

### **3.4.2. Hodnocení bolesti a tíže neuropatie**

Prvotní bylo vyhodnocení, zda sledované subjekty vykazují známky neuropatické nebo non-neuropatické bolesti podle doporučení International Association for the Study of Pain (IASP)/Neuropathic Pain Special Interest Group (NeuPSIG) (Treede et al., 2008). Závažnost neuropatické bolesti (NeB) byla kvantifikována pomocí 11stupňové škály (Numerical Rating Scale, NRS). Pacientům s pDSPN nebyla vysazena dříve nastavená léčba NeB. NRS skóre u nich bylo stanoveno z období před zahájením léčby bolesti. Jako pacienti s pDSPN byli klasifikováni ti, kteří měli v posledním týdnu před vyšetřením průměrnou intenzitu bolesti dle  $NRS \geq 4$  a trpěli chronickou periferní NeB tj. minimálně tři měsíce dle klasifikace IASP (Finnerup et al., 2016). Jako pacienti s bezbolestnou formou DSPN (nDSPN) byli klasifikováni ti s průměrnou intenzitou bolesti dle  $NRS \leq 3$ . Bolest a její dopad na kvalitu života byly hodnoceny pomocí Graded Chronic Pain Scale (GCPS) (Von Korff et al., 1992). K vyhodnocení symptomů NeB byla použita česká validovaná verze dotazníku Neuropathic Pain Symptom Inventory (Srotova et al., 2015). Tíže DSPN byla stanovena dle modifikovaného Toronto Clinical Neuropathy Score (mTCNS) (Bril et al., 2009). Kvantifikace disability pacientů s DSPN proběhla pomocí INCAT Overall Disability Sum Score (ODSS) (Merkies et al., 2002).

### **3.4.3. Psychologická skóre a dotazníky**

Ke zhodnocení vnímání bolesti a následné náchylnosti pacienta ke katastrofickému smýšlení byla použita škála Pain Catastrophizing Scale (PCS) (Sullivan et al., 1995). Byly hodnoceny tři oblasti katastrofizace (psychologická ruminace, zveličování a bezmocnost). Příznaky deprese a úzkosti byly hodnoceny pomocí Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS), Beck Depression Inventory II (BDI II) a State-Trait Anxiety Inventory Form Y (STAI-Y). HADS škála hodnotí kognitivní aspekty zvláště pro úzkost (HADS-A) a depresi (HADS-D), v každé oblasti může pacient skórovat 0–21 bodů. Záměrně tato škála nemonitoruje přidružené somatické příznaky (Herrmann, 1997). Ke zhodnocení závažnosti deprese byla použita aktualizovaná verze Beck Depression Inventory (BDI-II) (Beck et al., 1996).

Hodnocení anxiety proběhlo pomocí aktualizované verze State-Trait Anxiety Inventory, STAI-Y 1 a 2 (Spielberger et al., 1983). Škála S-Anxiety (STAI, Form Y-1) zkoumá, jak se respondenti cítí „právě teď“. Škála T-Anxiety (STAI, Form Y-2) hodnotí obecnou vulnerabilitu subjektu k rozvinutí úzkosti.

#### **3.4.4. Statistická analýza**

Byly definovány čtyři kategorie nezávislých proměnných: 1) biologické (věk, pohlaví a BMI); 2) klinické (související s diabetem, neuropatií a bolestí); 3) socioekonomické (úroveň vzdělání, zaměstnání); 4) kognitivní faktory (katastrofické myšlení, reakce na analgetickou terapii). K posouzení vztahů závislých proměnných (HADS-D, HADS-A, BDI-I I, STAI-Y1, 2 skóre) se spojitými proměnnými byly použity Spearmanovy korelační koeficienty. Pro analýzu rozdílů mezi skupinami subjektů a ostatními kategorickými proměnnými byly použity  $\chi^2$  testy, Mann-Whitneyho nebo Kruskal-Wallisovy testy s post hoc testy. Statistická významnost pro vícenásobná srovnání byla stanovena pomocí Bonferroniho korekce. Proměnné asociované s příznaky anxiety a deprese s  $p < 0,1$  v univariantních analýzách byly podrobeny vícerozměrné regresní analýze. Pro podskupiny diabetických pacientů byl použit přídatný model vícerozměrné regresní analýzy. Všechny analýzy byly provedeny pomocí Statistical Package for Social Sciences pro Windows, verze 25 nebo 27 (SPSS Inc.) (Kec et al., 2022).

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Kvantitativní testování termických prahů jako screeningový nástroj kardiální autonomní neuropatie u pacientů s diabetes mellitus

Pacienti s diabetem byli rozděleni do dvou skupin na CAN-pozitivní a CAN-negativní pacienty. CAN byla diagnostikována u 46 pacientů s diabetem (54 %; T1DM, n = 32; T2DM, n = 14). Mezi CAN-pozitivními a CAN-negativními pacienty nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v typu a délce trvání diabetu ( $p > 0,05$ ). Porovnáním s normativními daty byly patologické hodnoty CDT (cold detection threshold) zjištěny u 31 CAN-pozitivních a u 8 CAN-negativních pacientů. Patologické hodnoty WDT (warm detection threshold) byly zjištěny u 24 CAN-pozitivních a u 6 CAN-negativních pacientů. Tvzení „patologické hodnoty CDT a WDT“ znamená, že byla naměřena alespoň jedna abnormální hodnota v alespoň jedné testované oblasti. Rozdíl v počtech pacientů s patologickými teplotními prahy mezi CAN-pozitivními a CAN-negativními byl statisticky významný pro CDT ( $p = 0,0020$ ) i pro WDT ( $p = 0,0224$ ). Klinické a neurofyzilogické parametry kontrolní skupiny a diabetiků rozdělených podle přítomnosti CAN zobrazuje tab. 6. Dalším krokem bylo podrobněji zanalyzovat všechny naměřené hodnoty CDT a WDT mezi skupinou CAN-pozitivních a CAN-negativních diabetiků. Hodnoty CDT byly signifikantně nižší u CAN-pozitivních pacientů na tenaru ( $p = 0,0398$ ), tibii ( $p < 0,001$ ) i nártu ( $p < 0,001$ ). Hodnoty WDT byly signifikantně vyšší u CAN-pozitivních pacientů na tenaru ( $p = 0,0205$ ), tibii ( $p = 0,0205$ ) i na nártu ( $p < 0,001$ ). Ke zhodnocení diagnostické ability TQST stanovit CAN byla doplněna ROC analýza. CDT naměřené na dorzu nohy s cut-off hodnotou 21,8 °C (AUC 0,7486, senzitivita 76,1 %, specificita 68,4 %), CDT měřeno na tibii s cut-off hodnotou 23,15 °C (AUC 0,7829, senzitivita 60,9 %, specificita 89,5 %) a WDT naměřené na dorzu nohy s cut-off hodnotou 46,35 °C (AUC 0,7374, senzitivita 58,7 %, specificita 84,2 %) vyšly jako testy s nejlepší prediktivní hodnotou. Kombinace více parametrů TQST ve více lokalitách zvýšila specificitu a pozitivní prediktivní hodnotu. CDT na dorzu nohy  $< 21,8$  °C v kombinaci s CDT na tibii  $< 23,15$  °C vykazovaly nejlepší diagnostickou přesnost v predikci CAN s 97,4 % specificitou, 60,9 % senzitivitou, 96,6 % pozitivní prediktivní hodnotou a 67,3 % negativní prediktivní hodnota. Výsledky TQST v predikci CAN u pacientů s diabetem jsou shrnuty v tab.7. ROC křivky pro CDT a WDT jsou znázorněny na obr. 1.

**Tab 6.** Klinické a neurofyziologické parametry kontrolní skupiny a diabetiků rozdělených podle přítomnosti CAN

Parametr	Kontrolní skupina	CAN+ diabetici	CAN– diabetici	P-hodnoty		
				CAN+ vs. CAN–	KS vs. CAN+	KS vs. CAN–
<b>Počet subjektů</b>	49	46 (54%)	39 (46%)	N/A		
<b>Typ diabetu</b>	N/A	T1DM (n = 32)  T2DM (n = 14)	T1DM (n = 23)  T2DM (n = 16)	1,0000	N/A	N/A
<b>Pohlaví Ž/M</b>	30/19	21/25	22/17	1,0000	0,4515	1,0000
<b>Věk (roky)</b>	54 (12,1)	50 (13,1)	51 (15,8)	1,0000	0,4515	1,0000
<b>Délka trvání DM (roky)</b>	N/A	25,4 (13,4)	17,5 (10,1)	0,0702	N/A	N/A
<b>HbA1c (mmol/mol)</b>	38,3 (3,4)	71,0 (18,4)	68,5 (20,1)	1,0000	< 0,001	< 0,001
<b>Systolický TK (mmHg)</b>	126,7 (14,2)	137,3 (17,7)	129,6 (13,9)	0,4932	0,0081	1,0000
<b>Diastolický TK (mmHg)</b>	76,0 (7,3)	81,8 (8,4)	73,5 (8,3)	< 0,001	0,0081	1,0000
<b>UENS (body)</b>	0,6 (1,4)	12,5 (9,2)	5,9 (5,8)	0,0228	< 0,001	< 0,001
<b>MNSIQ (body)</b>	0,9 (1,3)	4,8 (2,7)	2,4 (2,2)	0,0018	< 0,001	0,0128
<b>Neuropatické symptomy (pts)</b>	1 (2%) ≥ 4	31 (67,4%) ≥ 4	14 (35,9%) ≥ 4	0,0876	< 0,001	0,0017
<b>MNSIE (body)</b>	0,2 (0,4)	4,0 (2,6)	1,8 (2,0)	0,0025	< 0,001	< 0,001

<b>PainDetect (body)</b>	2,8 (3.1)	7,7 (6.9)	4,4 (6.6)	0,1030	0,0050	1,0000
<b>Neuropatická bolest (pts)</b>	0	6 (13%) ≥ 18	3 (7.7%) ≥ 18	0,6561	0,0972	0,4537
<b>SAS –NOS (body)</b>	2,2 (1,9)	3,5 (1,8)	2,6 (1,8)	0,4932	0,0081	1,0000
<b>SAS –TIS (body)</b>	5,0 (4,8)	8,8 (5,0)	6,6 (5,2)	0,4932	0,0033	1,0000
<b>DSPN (pts)</b>	0	37 (80,4%)	20 (51,3%)	0,0968	0,0081	0,0175
<b>Patologické hodnoty WDT (pts)</b>		24 (52,2%)	6 (15,4%)	0,0224		
<b>Patologické hodnoty CDT (pts)</b>		31 (67,4%)	8 (20,5%)	0,0020		
<b>Ewingův poměr</b>	1,32 (0,2)	1,08 (0,09)	1,28 (0,26)	< 0,001	< 0,001	0,5643
<b>E:I poměr</b>	1,23 (0,15)	1,06 (0,05)	1,17 (0,13)	< 0,001	< 0,001	0,3588
<b>Valsalvův poměr</b>	1,65 (0,43)	1,24 (0,19)	1,61 (0,39)	< 0,001	< 0,001	1,0000
<b>Posturální změna sTK (mmHg)</b>	-8,7 (10,2)	-8,7 (19,4)	-3,3 (14,1)	1,0000	0,5974	0,3588

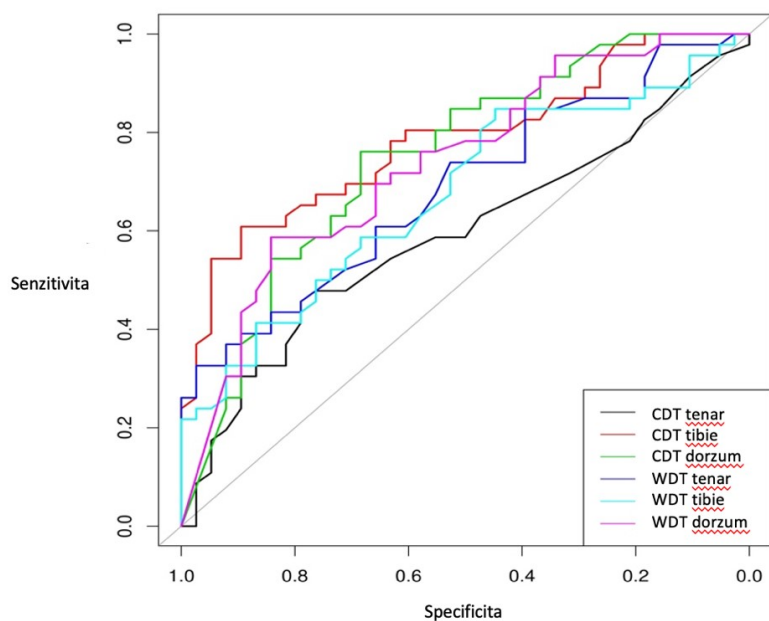
KS, kontrolní skupina; vs., versus; CAN+, CAN-pozitivní pacienti s diabetem; CAN-, CAN-negativní pacienti s diabetem; T1DM, diabetes mellitus 1. typu; T2DM, diabetes mellitus 2. typu; M, muži; Ž, ženy; SAS, Survey of autonomic symptoms questionnaire; NOS, number of symptoms, počet příznaků; TIS, total symptom impact score, celkové skóre tíže příznaků; DSPN, distální symetrická polyneuropatie; WDT, warm detection threshold, termický práh pro detekci tepla; CDT, cold detection threshold, termický práh pro detekci chladu; E:I, expiration:inspiration; sTK, systolický krevní tlak; n, počet pacientů; pts, pacienti; N/A, not applicable, nelze použít. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr (směrodatná odchylka).



**Tab 7.** ROC analýza pro TQST v predikci CAN u pacientů s diabetes mellitus

TQST	AUC	Cut-off hodnota	Senzitivita	Specifická	PPV	NPV
<b>CDT tenar</b>	0,5924	29,35	47,8%	76,3%	71,0%	54,7%
<b>CDT tibie</b>	0,7829	23,15	60,9%	89,5%	87,5%	65,4%
<b>CDT dorzum</b>	0,7486	21,80	76,1%	68,4%	74,5%	70,3%
<b>WDT tenar</b>	0,6868	37,65	32,6%	97,4%	93,8%	54,4%
<b>WDT tibie</b>	0,6751	40,85	84,8%	44,7%	65,0%	70,8%
<b>WDT dorzum</b>	0,7374	46,43	58,7%	84,2%	81,8%	62,8%
<b>Kombinace CDT dorzum CDT tibie</b>		< 21,8 < 23,15	60,9%	97,4%	96,6%	67,3%
<b>Kombinace CDT dorzum WDT dorzum</b>		< 21,8 > 46,35	58,7%	86,8%	84,4%	63,5%
<b>Kombinace CDT dorzum CDT tibie WDT tibie</b>		< 21,8 < 23,15 > 40,85	58,7%	97,4%	96,4%	66,1%

CDT, cold detection threshold, termický práh pro detekci chladu; WDT, warm detection threshold, termický práh pro detekci tepla; AUC, area under the curve; PPV, positive predictive value, pozitivní prediktivní hodnota; NPV, negative predictive value, negativní prediktivní hodnota. Cut-offové hodnoty CDT a WDT jsou vyjádřeny ve °C.



**Obr. 1** ROC křivky pro CDT a WDT

ROC, receiver operating characteristic; CDT, cold detection threshold, termické prahy pro detekci chladu; WDT, warm detection threshold, termické prahy pro detekci tepla.

Kromě TQST byla hodnocena řada biochemických metabolických parametrů a dotazníky zaměřené na neuropatické symptomy s cílem identifikovat rizikové faktory pro CAN. Mezi CAN-positivními a CAN-negativními pacienty byly zjištěny statisticky významné rozdíly ( $p$ -hodnota  $< 0,05$ ) v následujících proměnných: diastolický krevní tlak ( $p < 0,001$ ), poměr albumin/kreatinin ( $p = 0,002$ ), UENS skóre ( $p = 0,0228$ ), MNSIQ skóre ( $p = 0,0018$ ) a MNSIE skóre ( $p = 0,0025$ ). Všechny výše uvedené proměnné nabývaly vyšších hodnot u CAN-positivních pacientů. Diagnostická schopnost těchto proměnných v predikci CAN nebyla superiorní ve srovnání s TQST. Nejvyšší senzitivitu 80,4 %, ale nízkou specifickost 61,5 % vykazoval diastolický krevní tlak s cut-offovou hodnotou 76,5 mmHg. MNSIQ s cut-offovou hodnotou 5,5 bodu byl vyhodnocen jako dotazník s nejvyšší specifickostí 94,9 %, ale nízkou 50% senzitivitou. Kompletní data jsou uvedena v tab. 8. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl pro SAS ( $p = 0,4932$ ) ani pro přítomnost distální symetrické polyneuropatie ( $p = 0,0968$ ).

**Tab 8.** ROC analýza pro dotazníky, diastolický TK a albumin/kreatinin ratio v predikci CAN u pacientů s diabetem

Parametr	AUC	Cut-off hodnota	Senzitivita	Specifická	PPV	NPV
<b>MNSIQ</b>	0,7581	5,5 bodů	50,0%	94,9%	92,0%	61,7%
<b>MNSIE</b>	0,7520	2,75 bodů	71,7%	69,2%	73,3%	67,5%
<b>UENS</b>	0,7185	4,5 bodů	76,1%	59,0%	68,6%	67,7%
<b>Diastolický TK</b>	0,7522	76,5 mmHg	80,4%	61,5%	71,2%	72,7%
<b>Alb/krea ratio</b>	0,7477	1,009 g/mol	67,4%	73,7%	75,6%	65,1%

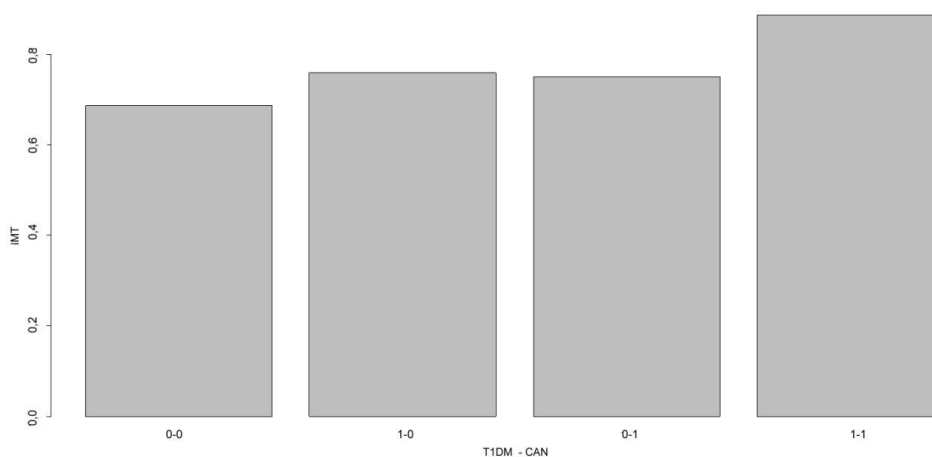
MNSIQ, Michigan neuropathy screening instrument questionnaire; MNSIE, Michigan neuropathy screening instrument examination; UENS, Utah early neuropathy scale; TK, krevní tlak; AUC, area under the curve (plocha pod křivkou); PPV, pozitivní prediktivní hodnota; NPV, negativní prediktivní hodnota.

Mezi CAN-pozitivními a CAN-negativními pacienty nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly ( $p > 0,05$ ) pro následující biochemické parametry: glykémie nalačno, glykovaný hemoglobin, TAG, cholesterol, HDL, LDL, plazmatická urea a kreatinin, TSH ani volný tyroxin. Všechny studijní skupiny se významně nelišily ve změně systolického krevního tlaku po postavení a v přítomnosti neuropatické bolesti.

#### **4.2. Kardiální autonomní neuropatie může hrát roli v patogenezi aterosklerózy u pacientů s diabetem 1. typu**

CAN byla diagnostikována u 22 pacientů s T1DM (44,9 %). Diabetická retinopatie byla zjištěna u 32 diabetiků (65,3 %) a diabetická nefropatie u 20 pacientů (40,8 %). V základním regresním modelu byla CIMT označena za závislou proměnnou. Nejprve byla analyzována závislost CIMT na následujících proměnných: věk, BMI, diagnóza T1DM, délka trvání diabetu, diagnóza CAN. Zjistili jsme statisticky významnou pozitivní lineární korelaci

CIMT s věkem ( $p < 0,001$ ). Dále byla prokázána významná korelace mezi CIMT a BMI ( $p = 0,0435$ ), tato korelace byla nelineární. Byla zjištěna signifikantní korelace mezi CIMT a diagnózou DM ( $p = 0,0251$ ) i CAN ( $p < 0,001$ ). Nebyla zjištěna významná korelace mezi CIMT a délkou trvání diabetu ( $p = 0,994$ ). K potvrzení vlivu přítomnosti CAN na hodnotu CIMT byl vytvořen rozšířený aditivní model. CIMT v něm byla opětovně vzata za závislou proměnnou, k nezávislým proměnným byly kromě výše uvedených přidány další rizikové faktory aterosklerózy – LDL, aterogenní index (AI, poměr celkového cholesterolu k HDL), systolický a diastolický TK a pozitivní anamnéza nikotinismu. Hodnotu CIMT nadále statisticky významně ovlivňovala přítomnost CAN ( $p = 0,007$ ), dále byl prokázán významný vliv systolického TK ( $p = 0,0098$ ). Rozšířeným modelem, který zvažoval vliv hodnot LDL, AI, krevního tlaku a anamnézu kouření, byly stanoveny hypotetické průměrné hodnoty CIMT v závislosti na přítomnosti CAN a T1DM viz obr. 2.

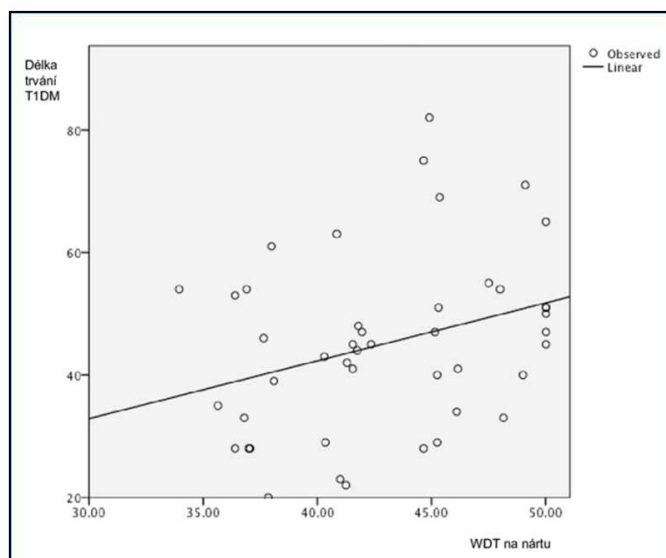


**Obr 2.** Průměrné hodnoty karotické intimomediální tloušťky (IMT) v mm v závislosti na přítomnosti CAN a T1DM (hodnoty pod jednotlivými sloupci demonstrují hypotetickou přítomnost CAN a T1DM – 0-0 = bez CAN i T1DM, 1-0 = T1DM bez CAN, 0-1 = CAN, 1-1 = T1DM i CAN).

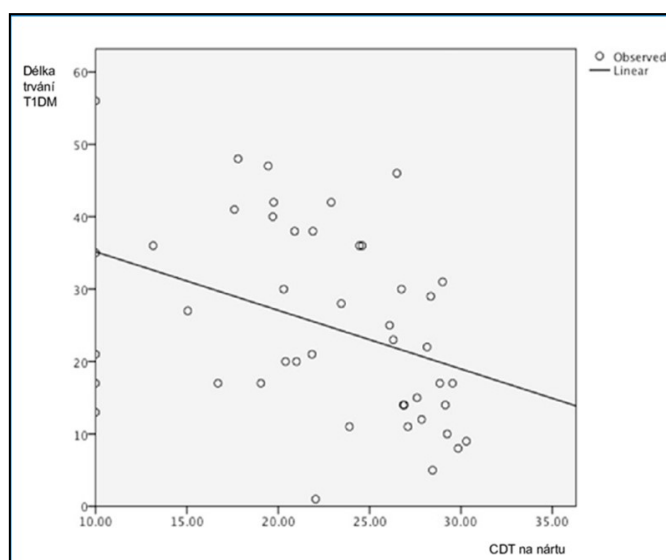
### 4.3. Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých vláken u diabetiků 1. typu

Vyšetření dokončili všichni zařazení účastníci studie. Skupina diabetiků a kontrol se shoduje věkem ( $p = 0,768$ ) i pohlavím ( $p = 0,41$ ). Mezi kontrolní skupinou a diabetiky jsme prokázali statisticky významný rozdíl mezi termickými prahy pro obě tepelné modality v oblasti tibie (CDT  $p < 0,001$ ; WDT  $p = 0,002$ ) a nártu (CDT, WDT  $p < 0,001$ ). Dále jsme zjistili, že s

délkou trvání diabetu postupně narůstají termické prahy pro detekci tepla (regresní koeficient  $1,018 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{rok}$ , 95% CI 0,226–1,811;  $p = 0,013$ ) a naopak postupně klesají termické prahy pro detekci chladu (regresní koeficient  $-0,809 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{rok}$ , 95% CI 1,420–0,199;  $p = 0,011$ ) viz obr. 3 a 4.



**Obr 3.** Změna termických prahů pro detekci tepla (WDT) v závislosti na délce trvání diabetu v oblasti nártů podle regresní analýzy



**Obr 4.** Změna termických prahů pro detekci chladu (CDT) v závislosti na délce trvání diabetu v oblasti nártů podle regresní analýzy

Věk pacientů ve vícerozměrném regresním modelu nevyšel ve srovnání s délkou trvání diabetu jako statisticky významný prediktor termických prahů ( $p = 0,11$  pro CDT a  $p = 0,08$  pro WDT, obojí pro oblast nártu). Zjistili jsme, že v souboru diabetiků je časnější abnormalita pro CDT. Jako cut-off prahy jsme použili hodnoty naměřené u kontrolní skupiny na nártu. Pro WDT jsme použili 95. percentil, což odpovídá hodnotě  $44,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pro CDT naopak 5. percentil, což odpovídá hodnotě  $26,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Lineární regresí jsme prokázali statisticky významný vztah mezi CDT na nártu a roky trvání diabetu,  $F(1,43) = 7,154$ ;  $p = 0,011$ , vysvětlující 14,3 % variability. Tento vztah jsme formulovali regresní rovnicí: délka trvání T1DM =  $43,257 + (-0,809 \times \text{CDT na nártu})$ , tj. pro CDT 5. percentil  $26,2\text{ }^{\circ}\text{C} = 43,257 + (-21,1958) = 22,0612$  let. To znamená, že u diabetiků začínají nabývat CDT v oblasti nártu významně patologických hodnot (tj.  $26,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) přibližně po 22 letech od stanovení diagnózy. Obdobně jsme stanovili statisticky významný vztah mezi WDT na nártu a roky trvání diabetu,  $F(1,43) = 6,710$ ;  $p = 0,013$ , vysvětlující 13,5 % variability. Formulovali jsme opět regresní rovnicí: délka trvání T1DM =  $-18,613 + (1,018 \times \text{WDT na nártu})$ , tj. pro WDT 95. percentil  $44,1\text{ }^{\circ}\text{C} = -18,613 + (1,018 \times 44,1) = 26,28$  let. Což znamená, že u diabetiků začínají nabývat WDT v oblasti nártu významně patologických hodnot (tj.  $44,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) přibližně po 26 letech od stanovení diagnózy. Mezi skupinami diabetiků rozdělených dle délky trvání diabetu jsme stanovili statisticky významný rozdíl pro průměrné hodnoty CDT ( $p = 0,024$ ) i pro WDT ( $p = 0,049$ ) pouze na nártu. V oblasti tenaru ani tibie rozdíl nebyl významný. Naměřené hodnoty CDT, WDT u diabetiků a kontrolní skupiny shrnuje tab. 9.

#### **4.4. Rizikové faktory pro depresi a anxiету u bolestivé a nebolestivé formy diabetické neuropatie**

Skupina diabetiků s pDSPN oproti pacientům s nDSPN dosáhla nižšího stupně vzdělání ( $p = 0,001$ ) a měla více problémů v zaměstnání ( $p = 0,001$ ), dále vykazovala signifikantně vyšší hodnoty BMI ( $p = 0,002$ ), vyšší prevalenci arteriální hypertenze ( $p < 0,001$ ) a těžší formu neuropatie hodnoceno dle NPSI, mTCNS a ODSS ( $p < 0,001$ ). Skupiny pDSPN a nDSPN se významně lišily v počtu pacientů s T1DM, nižší výskyt byl ve skupině pDSPN (16 % ve skupině pDSPN vs. 28 % ve skupině nDSPN,  $p < 0,001$ ). V obou skupinách diabetiků s DSPN udávali častěji vysoký stupeň bolesti dle NRS (tj. 7–10) osoby nižšího věku ( $p = 0,008$ ).

**Tab. 9** Hodnoty jednotlivých termických prahů u diabetiků a kontrolní skupiny

Sledovaný parametr/ místo měření	Všichni T1DM n= 45	T1DM ≤ 25 let n = 25	T1DM > 25 let n = 20	Kontrolní skupina n = 50
<b>CDT/tenar</b>	29,7 (25,2; 30,8) 1,1	29,6 (25,2; 30,8) 1,4	29,9 (27,8; 30,8) 0,8	30,1 (27,9; 31,1) 0,6
<b>CDT/tibie</b>	25,1 (10,0; 30,8) 5,7	25,5 (10,0; 30,8) 6,8	24,6 (16,4; 30,0) 4,1	29,5 (25,7; 30,8) 1,0
<b>CDT/dorzum</b>	22,4 (10,0; 30,3) 6,2	23,9 (10,0; 30,3) 6,4	20,6 (10,0; 29,0) 5,2	28,9 (25,7; 30,8) 1,4
<b>WDT/tenar</b>	34,7 (33,3; 38,3) 1,3	34,9 (33,3; 38,3) 1,6	34,4 (33,6; 36,3) 0,8	34,2 (33,0; 36,1) 0,6
<b>WDT/tibie</b>	41,7 (35,0; 49,7) 3,7	41,1 (35,0; 49,7) 4,4	42,3 (37,6; 46,5) 2,6	39,4 (33,8; 44,8) 2,4
<b>WDT/dorzum</b>	42,9 (34,0; 50,0) 4,8	41,8 (34,0; 50,0) 5,1	44,4 (36,8; 50,0) 4,0	38,7 (34,8; 44,5) 2,5

Hodnoty jsou uvedeny v pořadí za sebou jako průměr (min; max) směrodatná odchylka; jednotky °C; CDT, termický práh pro detekci chladu, WDT, termický práh pro detekci tepla; T1DM, diabetes mellitus 1. typu.

Vyšší prevalenci katastrofického myšlení vykazovala skupina pacientů s pDSPN oproti nDSPN pacientům (průměrné skóre 16,6 vs. 11,7,  $p < 0,001$ ). Ve skupině nDSPN byla prevalence deprese (24,4 %) i anxiety (44,4 %) signifikantně nižší než ve skupině pDSPN 46,7 % a 60,7 %, ( $p < 0,001$ ), zároveň ale významně vyšší oproti zdravým kontrolám, u kterých byla prevalence deprese 7 % a úzkosti 14,1 % ( $p < 0,001$ ) a rovněž oproti skupině diabetiků bez DSPN (22 % a 30 %,  $p = 0,012$ ). HADS-D, BDI-II, HADS-A a STAI-Y2 významně negativně korelovaly s věkem. Vyšší skórování ve všech psychologických testech byly signifikantně spojeny s ženským pohlavím. Vícerozměrné regresní analýzy vyhodnotily jako nezávislé rizikové faktory deprese (D) a anxiety (A) vysoké skórování ve škálách bolesti (pro D i A  $p < 0,001$ ), těžký stupeň DSPN (pro A  $p = 0,006$ ), katastrofické myšlení (pro D  $p < 0,001$  a pro A  $p = 0,005$ ), přítomnost T2DM (pro D  $p < 0,001$  a pro A  $p = 0,021$ ), nižší věk (pro D  $p = 0,046$ ) a ženské pohlaví (pro D  $p = 0,009$  a pro A  $p = 0,005$ ).

## 5. DISKUZE

### 5.1. Kvantitativní testování termických prahů jako screeningový nástroj kardiální autonomní neuropatie u pacientů s diabetes mellitus

Naše studie ukázala, že CAN-positivní pacienti s diabetem měli významně vyšší WDT a významně nižší CDT ve všech testovaných oblastech (tenar, tibie a dorzum nohy). Nejlepší diagnostickou schopnost odlišit CAN-positivní od CAN-negativních pacientů prokázalo měření CDT v oblasti DK. Konkrétně CDT na dorzu nohy  $< 21,8$  °C v kombinaci s CDT na tibii  $< 23,15$  °C dokázalo stanovit přítomnost CAN s velmi vysokou specificitou (97,4 %) a pozitivní prediktivní hodnotou (96,6 %). Tato kombinace TQST vykazovala nižší senzitivitu (60,9 %) a negativní prediktivní hodnotu (67,3 %), což znamená, že někteří pacienti s CDT pod těmito cut-offovými hodnotami byli vyhodnoceni jako falešně negativní pro přítomnost CAN. Pomocí v rozhodování může detekce hodnoty WDT na tibii  $> 40,85$  °C, která predikuje CAN s vysokou senzitivitou (85 %) a středně vysokou negativní prediktivní hodnotou (69 %).

U CAN-positivních pacientů byla zachycena významně vyšší skóre v dotaznících zaměřených na somatické neuropatické symptomy (MNSIQ, MNSIE a UENS) se senzitivitou až 76 % a specificitou až 94,9 %. Tato skutečnost není překvapující, protože jak autonomní, tak somatické periferní neuropatie se často kombinují (Serhiyenko et al., 2018). Podobně vysoké skóre v MNSI u CAN-positivních pacientů prokázal s kolektivem Islam (Islam et al., 2018). Nebyla nalezena korelace mezi bodovým skóre dotazníku monitorujícího dysautonomní příznaky (SAS) a diagnózou CAN, podobné výsledky zaznamenali i jiní (Low et al., 2004). Jiná práce prokázala asociaci zvýšeného skóre SAS s ojedinělým parametrem CARTs, konkrétně redukované 30:15 Ewing ratio (Zilliox et al., 2011).

Kromě TQST a dotazníků byly u pacientů s CAN naměřeny významně vyšší hodnoty diastolického krevního tlaku (cut-offová hodnota 76,5 mmHg) a vyšší albumin/kreatinin ratio (mezní hodnota 1,009 g/mol). Naše výsledky jsou v souladu s dříve publikovanými studiemi, které prokázaly vyšší hodnoty diastolického krevního tlaku (Azmi et al., 2019; Rolim et al., 2008; Spallone, 2019) a vyšší prevalenci mikroalbuminurie (Astrup et al., 2006; Spallone et al., 2011) u pacientů s diabetem, kteří trpí CAN.



Mezi další dobře známé rizikové faktory pro rozvoj CAN patří délka trvání diabetu a nedostatečná kontrola glykémie (Serhiyenko et al., 2018). My jsme signifikantní rozdíl v glykemické kontrole mezi pacienty s CAN a bez CAN neprokázali. Podobné výsledky publikovali Vasheghani s kolegy (Vasheghani et al., 2019). Délka trvání diabetu byla u našich CAN-pozitivních pacientů v průměru delší, ale rozdíl nebyl statisticky významný. Výše uvedené výsledky jsou pravděpodobně způsobeny nižším počtem studovaných subjektů a hodnocením pouze jedné hodnoty glykovaného hemoglobinu pro každého pacienta.

Několik výzkumníků se také pokusilo stanovit CAN pomocí jednodušších testů než CARTs. Pafili s kolektivem zjistili, že normální algické a termické cití na dolních končetinách vyšetřovaných pomocí běžných kvalitativních testů jako jsou Neurotips a Tipterm, vykazovaly pro diagnózu CAN velmi vysokou negativní prediktivní hodnotu (97 %) u pacientů s T2DM (Pafili et al., 2020). Další autoři navrhovali využití Sudoscanu jako jednoduchého neinvazivního screeningového testu pro diabetickou CAN se senzitivitou 92 % a specificitou 49 % (Yajnik et al., 2013). Podobné výsledky publikoval Selvarajah et al. Jejich studie ukázala, že Sudoscan má 65% senzitivitu a 80% specificitu diagnostikovat CAN (Selvarajah et al., 2015). Recentně byla publikována práce, ve které prokázali, že TQST dokáže efektivně predikovat CAN u T2DM pacientů, nejvyšší senzitivitu (87,1 %) a specificitu (59,8 %) vykazovalo měření WDT na nártu s cut-offovou hodnotou 37,2 °C. (Guo et al., 2021).

## **5.2. Kardiální autonomní neuropatie může hrát roli v patogenezi aterosklerózy u pacientů s diabetem 1. typu**

Tato studie prokázala signifikantně vyšší hodnotu karotické intimomediální šíře (CIMT) u T1DM pacientů ve srovnání s nediabetickými kontrolami. Identické výsledky jsou doloženy v metaanalýze, která hodnotila data ze 47 studií zabývajících se touto problematikou (Sun et al., 2015). Bylo též prokázáno, že zvýšená hodnota CIMT je nezávislým prediktorem kardiovaskulárních onemocnění, která se řadí mezi sekundární komplikace diabetu (Lopes-Virella et al., 2007). Hlavní náplní naší práce bylo zhodnocení vlivu přítomnosti CAN u T1DM pacientů na hodnotu CIMT, kdy CAN byla diagnostikována průkazem abnormálních parametrů časové i spektrální analýzy variability srdeční frekvence během CARTs. Kromě významné asociace CIMT s věkem, BMI, hodnotami systolického krevního tlaku a

diagnózou T1DM jsme prokázali významný vliv diagnózy CAN na CIMT nezávisle na známých rizikových faktorech aterosklerózy. Tato zjištění naznačují, že přítomnost CAN by mohla hrát roli v patogenezi aterosklerózy karotických tepen u pacientů s T1DM. Dříve publikované práce demonstrovaly, že redukovaná variabilita srdeční frekvence (symptom CAN) byla signifikantně asociována s přítomností a progresí kalcifikace koronárních tepen u T1DM pacientů proti nediabetickým kontrolám, což rovněž poukazuje na to, že diabetická autonomní neuropatie je pravděpodobně zapojena v procesu aterosklerózy. Kalcifikace koronárních tepen je obecně považována za silný prediktor rozvoje ischemické choroby srdeční. (Colhoun et al., 2001; Rodrigues et al., 2010). Klasická diagnostika CAN pomocí CARTs, ale pouze s hodnocením parametrů časové analýzy, byla provedena ve studii s T2DM pacienty, ve které identicky zjistili, že CAN je spojena s významně vyššími hodnotami CIMT, a tedy s aterosklerózou karotid, nezávisle na klasických kardiovaskulárních rizikových faktorech (Jung et al., 2013).

Přesný patofyziologický mechanismus, kterým CAN podporuje aterosklerotický proces, však není dosud objasněno. Experimentální studie ukázaly, že autonomní nervový systém může modulovat systémovou zánětlivou odpověď prostřednictvím cholinergní protizánětlivé dráhy (Wang et al., 2002). CAN vedoucí k prozánětlivému stavu by tak mohla reprezentovat jednu z cest, kterou tradiční rizikové faktory spouštějí rozvoj aterosklerózy (Rodrigues et al., 2010). Je rovněž známo, že časná dysfunkce parasymptiku v rámci CAN způsobuje relativní převahu sympatiku, což vede k absenci fyziologického nočního poklesu krevního tlaku (non-dipping vzorec chování krevního tlaku) (Spallone, 2019). Zvýšený krevní tlak během noci může teoreticky poškozovat cévní stěnu a akcelarovat tak proces aterosklerózy (Cusipidi et al., 2016).

### **5.3. Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých vláken u diabetiků 1. typu**

Tato práce prokázala významné rozdíly v hodnotách termických prahů (CDT, WDT) mezi skupinou diabetiků a kontrol, avšak pouze na dolních končetinách (DK). Čím distálnější na DK bylo měření provedeno, tím byl rozdíl mezi skupinami signifikantnější. Mezi podskupinami diabetiků rozdělených dle délky trvání diabetu jsme stanovili významný rozdíl WDT i CDT pouze v oblasti nártu. Tyto výsledky podporují teorii, že poškození tenkých nervových vláken u distálních symetrických forem neuropatií (DSPN) u T1DM

pacientů se projevuje nejdříve na nejdelších nervových vláknech, je tedy tzv. length-dependentní (Feldman et al., 2019). Proto je relevance vyšetření prahů na horních končetinách (HK) u diabetiků v rámci screeningového vyšetření nízká. Podobně jako někteří autoři (Navarro, Kennedy, 1991; Ziegler et al., 2015) jsme zjistili, že s délkou trvání diabetu narůstají abnormality pro termické prahy. Časnější a častější abnormalitu tepelných prahů jsme prokázali pro vnímání chladových podnětů (CDT). Obdobné výsledky demonstrovaly dříve publikované práce (Hendriksen et al., 1993; Ziegler et al., 2015). Identický vývoj abnormalit WDT i CDT v závislosti na délce trvání diabetu zjistili např. Vinik et al., 1995. Určitou limitaci naší práce představuje skutečnost, že měření proběhlo jen jednorázově. V roce 2015 publikovaná práce Krøigårda však neprokázala statisticky významný rozdíl jednotlivých měření v odstupu 2–26 týdnů od prvního měření (Krøigård et al., 2015). V jiné studii sice zjistili intraindividuální variabilitu u dvou měření v průběhu jednoho týdne mezi 15 a 30 %, ale vzhledem k tomu, že vyšetřovací metoda je psychofyzikální, nepovažují tuto variabilitu za relevantní (Vlčková et al., 2003). Testování termických prahů je jednoduché, časově nenáročné a u diabetiků 1. typu se jeví jako vhodný nástroj k detekci poškození tenkých nervových vláken. Citlivější a časnější abnormalitou, vztaženo k délce trvání diabetu, je stanovení CDT zejména v oblasti distálních částí DK na nártch. Testování termických prahů lze doporučit pro klinické situace, kdy diabetik popisuje neuropatické symptomy na končetinách a standardně provedené elektromyografické vyšetření nevykazuje abnormní nález. Naše práce prokázala, že dysfunkce tenkých vláken A $\delta$  a C u T1DM je výraznější s narůstající délkou trvání diabetu. Porovnáním CDT a WDT diabetiků s hodnotami termických prahů zdravých kontrol lze detektovat abnormality pro termické čítí na dorzu nohy přibližně za 22 let pro chladové podněty a za 26 let pro teplé podněty. Pro srovnání, u pacientů s T2DM lze zachytit abnormality termických prahů mnohem dříve od stanovení diagnózy než u diabetiků 1. typu. Příčinou je, že diabetici 2. typu mají většinou řadu dalších komorbidit (hypertriglyceridémie, arteriální hypertenze apod.), které vznik polyneuropatického syndromu urychlí nebo přímo způsobí. Názorným příkladem je práce, ve které vyšetřili téměř 500 diabetiků 2. typu. Po 12 letech od stanovení diagnózy prokázali patologické hodnoty WDT již u 60 % pacientů a patologické hodnoty CDT u 40 % pacientů (Chao et al., 2007).

## **5.4. Rizikové faktory pro depresi a anxiету u bolestivé a nebolestivé formy diabetické neuropatie**

Na rozdíl od většiny předchozích studií, které zahrnovaly dominantně pacienty s DSPN trpící středně silnou až silnou bolestí, tato studie hodnotila prevalenci a rizikové faktory deprese a úzkosti i u pacientů s mírnou bolestí, diabetiky s nebolestivou formou DSPN a diabetiky bez DSPN. Nejvyšší prevalence příznaků spojených s depresí a anxiétou byla dle předpokladu zachycena u pacientů s pDSPN. Intenzita bolesti a její kognitivní zpracování (katastrofické myšlení), spolu s nižším věkem, ženským pohlavím, přítomností T2DM a pokročilou formou polyneuropatie byly prokázány jako nejdůležitější faktory přispívající k emočnímu stresu u diabetických pacientů i u nediabetických zdravých kontrol.

### **5.4.1. Prevalence deprese a úzkosti**

Obecně se prevalence afektivních poruch u pacientů s chronickou neuropatickou bolestí pohybuje okolo 40–50 % pro depresi (Gureje et al., 1998) a mezi 25–29 % pro úzkost (Turk et al., 2010). Psychologická studie hodnotící prevalenci emočního stresu u více než 2000 pacientů s T1DM a T2DM bez ohledu na přítomnost neuropatie zjistila příznaky úzkosti u 32 % a deprese u 22,4 % pacientů (Collins et al., 2009). Selvarajah s kolektivem v kohortě 142 pacientů studující pouze diabetiky s pDSPN stanovili prevalenci emočního stresu u více než poloviny pacientů (51,4 %). Dále prokázali, že příznaky deprese a anxiety se často u jednoho pacienta kombinují (Selvarajah et al., 2014). Použití širší baterie dotazníků v naší studii zachytilo vyšší podíl pacientů s pDSPN se známkami deprese (46,7 %) i úzkosti (60,5 %). Podíl pacientů s nDSPN a diabetiků bez DSPN trpící příznaky úzkosti (44,4 % a 30,0 %) nebo deprese (24,4 % a 22,0 %) byl významně nižší než u pacientů s pDSPN, ale vyšší ve srovnání se zdravými kontrolami (14,1 % a 7,0 %). Přítomnost příznaků úzkosti nebo deprese i u některých zdravých kontrol není překvapivá a odpovídá obecné populační prevalenci (Stein et al., 2017).

### **5.4.2. Rizikové faktory úzkosti a deprese**

Většina studií se zaměřuje na afektivní dopady chronické neuropatické bolesti obecně (McCracken et al., 2004; Ohayon, Schatzberg, 2010). Dosud publikovaná data o tom, co přispívá k emočnímu stresu u bolestivé i nebolestivé formy DSPN jsou omezená (Davies et al., 2006; Galer et al., 2000; Selvarajah et al., 2014). Tato studie prokázala některé z dříve

uváděných rizikových faktorů emočního stresu – ženské pohlaví, nižší věk, tíže bolesti a neuropatie, katastrofické myšlení a nižší dosažené vzdělání. Převládajícím rizikovým faktorem pro depresi a úzkost byla přítomnost chronické neuropatické bolesti u diabetických pacientů. Byla zjištěna pouze slabá asociace mezi stupněm dosaženého vzdělání a úzkostí. Dále bylo prokázáno, že přítomnost T2DM nezávisle na bolesti zvyšuje emoční stres. Mechanismus však zůstává nejasný. Přítomnost DM bez ohledu na jeho typ nebyla zjištěna jako významný nezávislý faktor pro depresi či úzkost. Tato studie rovněž ukazuje, že tíže neuropatie významně přispívá ke zvýšenému výskytu depresivních symptomů u pacientů s DSPN nezávisle na bolesti. Dříve publikované práce prokázaly asociaci stupně závažnosti neuropatie s přítomností a intenzitou neuropatické bolesti u pDSPN (Raputova et al., 2017; Themistocleous et al., 2016).

## 6. ZÁVĚR

TQST se jeví potenciálním neinvazivním, časově nenáročným a relativně jednoduchým testem k detekci pacientů s diabetem s vyšším rizikem přítomnosti CAN. Naše hlavní studie ukázala, že CAN-pozitivní diabetici vykazovali významně vyšší WDT a významně nižší CDT ve všech testovaných oblastech (tenar, tibie a dorzum nohy) na rozdíl od pacientů bez CAN. Nejlepší diagnostickou schopnost v predikci CAN jsme zjistili pro CDT měřené na dorzu nohy a na tibii. V naší kohortě pacientů byly nejrizikovějšími faktory pro CAN vysoké skórování v dotaznících zaměřených na somatické neuropatické symptomy (MNSIQ, MNSIE a UENS), diabetická nefropatie a vysoké hodnoty diastolického krevního tlaku. Recentně již nejen naše práce potvrdila, že TQST lze použít jako screeningový nástroj k identifikaci pacientů s diabetem, kteří jsou ohroženi diagnózou CAN, a měli by být odesláni k podrobnějšímu vyšetření zaměřeného na testování autonomního nervového systému.

Náplní další práce bylo zhodnocení vlivu přítomnosti CAN u T1DM pacientů na hodnotu karotické intimomediální šíře (CIMT), která je důležitým biomarkerem aterosklerózy. Hodnoty CIMT byly u diabetiků signifikantně vyšší než u nediabetických kontrol. Kromě významné asociace CIMT s věkem, BMI, hodnotami systolického krevního tlaku a diagnózou T1DM jsme prokázali významný vliv diagnózy CAN na CIMT nezávisle na známých rizikových faktorech aterosklerózy. Tato zjištění naznačují, že přítomnost CAN by skutečně mohla hrát roli v patogenezi aterosklerózy karotických tepen u pacientů s T1DM. Poněvadž dosud stále není zcela jasné, jakým přesně způsobem se CAN do procesu aterosklerózy zapojuje, je zapotřebí dalších studií.

Ve studii hodnotící význam TQST v testování tenkých nervových vláken u diabetiků 1. typu jsme potvrdili, že existují významné rozdíly v percepci tepla i chladu ve skupině T1DM pacientů oproti skupině zdravých dobrovolníků, avšak pouze na dolních končetinách (DK). Čím distálněji na DK bylo měření provedeno, tím byl rozdíl mezi skupinami signifikantnější. Mezi podskupinami diabetiků rozdělených dle délky trvání diabetu jsme stanovili významný rozdíl WDT i CDT pouze v oblasti nártu. Tyto výsledky podporují teorii, že poškození tenkých nervových vláken u distálních symetrických forem neuropatií (DSPN) u T1DM pacientů se projevuje nejdříve na nejdelších nervových vláknech, je tedy tzv. length-dependentní. Proto je relevance vyšetření prahů na horních končetinách (HK) u diabetiků v rámci screeningového vyšetření nízká. Testování termických prahů lze doporučit pro klinické situace, kdy diabetik popisuje neuropatické symptomy na končetinách a standardně

provedené elektromyografické vyšetření neprokáže distální periferní neuropatii. Naše práce dále zjistila, že míra poškození tenkých nervových vláken odrážející se v hodnotách termických prahů je u T1DM pacientů závislá na délce trvání diabetu.

Studie posuzující přítomnost emočního stresu prokázala vysokou prevalenci příznaků deprese a úzkosti nejen u pacientů s bolestivou diabetickou neuropatií, ale rovněž i u diabetiků s nebolestivou formou neuropatie a diabetiků bez neuropatie. Za dominantní rizikové faktory podílející se na rozvoji afektivních poruch byly stanoveny intenzita bolesti a její kognitivní zpracování (katastrofické myšlení). Dále byly identifikovány další významné na bolesti nezávislé rizikové faktory úzkosti a deprese, mezi které patřil nižší věk, ženské pohlaví, přítomnost diabetu 2. typu a tíže polyneuropatie.

## 7. SOUHRN

Diabetes mellitus (DM) je heterogenní skupina metabolických onemocnění se závažnými zdravotními a socioekonomickými dopady, která je charakterizovaná hyperglykemií. Sekundární postižení nervového systému ve formě diabetické neuropatie (DN) patří mezi nejčastější komplikace DM a v průběhu života ji rozvine asi 50 % diabetiků. Tato disertační práce chce upozornit na relevanci časně detekce poškození tenkých nervových vláken v somatickém a autonomním nervovém systému u diabetiků 1. a 2. typu (T1DM, T2DM). Pouze brzké stanovení diagnózy umožňuje předejít závažným komplikacím, které s sebou progresivní formy DN přinášejí. Distální symetrická polyneuropatie (DSPN) může vyústit v nutnost provedení amputace postižených končetin, zejména bolestivá forma DN vede ke zvýšenému emočnímu stresu, který rezultuje v depresi a úzkost. Pokročilé stádium kardiální autonomní neuropatie (CAN) je rizikové pro rozvoj maligních arytmií s náhlou srdeční smrtí. Hlavními cíli studií, které jsou podkladem této disertační práce bylo zhodnotit možnost využití termického kvantitativního testování senzitivity (TQST) k identifikaci diabetiků ohrožených CAN a DSPN s převažujícím poškozením tenkých vláken, posouzení vlivu přítomnosti CAN na rozvoj aterosklerózy karotických tepen, dále stanovení prevalence a rizikových faktorů deprese a anxiety u diabetiků s bolestivou a nebolestivou formou neuropatie i u diabetiků bez DN. Výsledky prokázaly, že TQST lze použít jako screeningový nástroj k detekci pacientů s vyšším rizikem CAN. U pacientů s T1DM byl zjištěn významný vliv CAN na hodnoty karotické intimomediální šíře, což naznačuje, že přítomnost CAN by mohla hrát roli v patogenezi aterosklerózy. Další práce vyhodnotila, že míra poškození tenkých nervových vláken odrážející se v hodnotách termických prahů je u T1DM pacientů závislá na délce trvání diabetu a v rámci screeningu má význam provádět TQST zejména distálně na dorzu nohy. Vysoká prevalence příznaků deprese a úzkosti byla stanovena u pacientů s bolestivou DN, ale rovněž i u pacientů s nebolestivou formou DN a diabetiků bez neuropatie. Jako nejvýznamnější rizikové faktory emočního stresu byly identifikovány intenzita bolesti, katastrofické myšlení, nižší věk, ženské pohlaví, přítomnost T2DM a tíže DSPN.



## 8. SUMMARY

Diabetes mellitus (DM) is a heterogeneous group of metabolic disorders with serious health and socioeconomic consequences characterized by hyperglycemia. Diabetic neuropathy (DN) is one of the most common complications of DM and develops in about 50 % of diabetics during their lifetime. This dissertation thesis wants to draw attention to the relevance of early detection of small nerve fiber damage in the somatic and autonomic nervous systems in patients with type 1 and type 2 DM (T1DM, T2DM). Only early diagnosis can prevent the severe complications that progressive forms of DN bring. Distal symmetric polyneuropathy (DSPN) can lead to the necessity to amputate affected limbs, especially painful DN causes increased emotional stress, resulting in depression and anxiety. Advanced stages of cardiac autonomic neuropathy (CAN) can lead to the development of malignant arrhythmias and sudden coronary death. The main aim of this dissertation thesis was to evaluate the possibility of using thermal quantitative sensory testing (TQST) to identify patients with diabetes at higher risk of CAN and DSPN with predominant small nerve fibers damage. Other goals were to assess the impact of CAN on the development of carotid atherosclerosis and to determine the prevalence and risk factors for depression and anxiety in diabetic patients with and without DN. The results show that TQST can be used as a screening tool to detect patients with a higher risk of CAN. We demonstrated a significant effect of CAN presence on carotid intima-media thickness in patients with T1DM, independently of known risk factors of atherosclerosis. This finding suggests that CAN may play a role in the pathogenesis of carotid atherosclerosis. Another study found out that the degree of small nerve fiber impairment is dependent on the duration of DM. As part of DSPN screening, it makes sense to test thermal thresholds mainly distally on the lower limbs on the dorsum of the foot. A high prevalence of depressive and anxiety symptoms was established in patients with painful diabetic neuropathy but also patients with non-painful DN and diabetics without neuropathy. Pain intensity, catastrophic thinking, lower age, female gender, the presence of T2DM, and the severity of DSPN, were identified as the most significant risk factors for emotional stress.

## 9. LITERATURA

1. Abbott, C. A., Malik, R. A., van Ross, E. R., Kulkarni, J., & Boulton, A. J. (2011). Prevalence and characteristics of painful diabetic neuropathy in a large community-based diabetic population in the U.K. *Diabetes care*, *34*(10), 2220–2224. <https://doi.org/10.2337/dc11-1108>
2. American Diabetes Association (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, *37 Suppl 1*, S81–S90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
3. American Diabetes Association (2020). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes-2020*. *Diabetes care*, *43*(Suppl 1), S14–S31. <https://doi.org/10.2337/dc20-S002>
4. Ang, L., Jaiswal, M., Martin, C., & Pop-Busui, R. (2014). Glucose control and diabetic neuropathy: lessons from recent large clinical trials. *Current diabetes reports*, *14*(9), 528. <https://doi.org/10.1007/s11892-014-0528-7>
5. Asghar, O., Petropoulos, I. N., Alam, U., Jones, W., Jeziorska, M., Marshall, A., Ponirakis, G., Fadavi, H., Boulton, A. J., Tavakoli, M., & Malik, R. A. (2014). Corneal confocal microscopy detects neuropathy in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetes care*, *37*(9), 2643–2646. <https://doi.org/10.2337/dc14-0279>
6. Astrup, A. S., Tarnow, L., Rossing, P., Hansen, B. V., Hilsted, J., & Parving, H. H. (2006). Cardiac autonomic neuropathy predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes care*, *29*(2), 334–339. <https://doi.org/10.2337/diacare.29.02.06.dc05-1242>
7. Attal, N., Cruccu, G., Baron, R., Haanpää, M., Hansson, P., Jensen, T. S., & Nurmikko, T. (2010). EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. *European journal of neurology*, *17*(9), 1113–e88. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.02999.x>
8. Azmi, S., Jeziorska, M., Ferdousi, M., Petropoulos, I. N., Ponirakis, G., Marshall, A., Alam, U., Asghar, O., Atkinson, A., Jones, W., Boulton, A., Brines, M., Augustine, T., & Malik, R. A. (2019). Early nerve fibre regeneration in individuals with type 1 diabetes after simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Diabetologia*, *62*(8), 1478–1487. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4897-y>
9. Azmi, S., Petropoulos, I. N., Ferdousi, M., Ponirakis, G., Alam, U., & Malik, R. A. (2019). An update on the diagnosis and treatment of diabetic somatic and autonomic neuropathy. *F1000Research*, *8*, F1000 Faculty Rev-186. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17118.1>
10. Backonja, M. M., Attal, N., Baron, R., Bouhassira, D., Drangholt, M., Dyck, P. J., Edwards, R. R., Freeman, R., Gracely, R., Haanpaa, M. H., Hansson, P., Hatem, S. M., Krumova, E. K., Jensen, T. S., Maier, C., Mick, G., Rice, A. S., Rolke, R., Treede, R. D., Serra, J., ... Ziegler, D. (2013). Value of quantitative sensory testing in neurological and pain disorders: NeuPSIG consensus. *Pain*, *154*(9), 1807–1819. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.05.047>

11. Balducci, S., Iacobellis, G., Parisi, L., Di Biase, N., Calandriello, E., Leonetti, F., & Fallucca, F. (2006). Exercise training can modify the natural history of diabetic peripheral neuropathy. *Journal of diabetes and its complications*, 20(4), 216–223. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2005.07.005>
12. Bansal, V., Kalita, J., & Misra, U. K. (2006). Diabetic neuropathy. *Postgraduate medical journal*, 82(964), 95–100. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2005.036137>
13. Barbosa, M., Saavedra, A., Severo, M., Maier, C., & Carvalho, D. (2017). Validation and Reliability of the Portuguese Version of the Michigan Neuropathy Screening Instrument. *Pain Practice: The Official Journal of World Institute of Pain*, 17(4), 514–521. <https://doi.org/10.1111/papr.12479>
14. Beck, A. T., Steer, R. A., & Brown, G. (1996). *Beck Depression Inventory–II (BDI-II)* [Database record]. APA PsycTests. <https://doi.org/10.1037/t00742-000>
15. Bednarik, J., Vlckova-Moravcova, E., Bursova, S., Belobradkova, J., Dusek, L., & Sommer, C. (2009). Etiology of small-fiber neuropathy. *Journal of the peripheral nervous system : JPNS*, 14(3), 177–183. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8027.2009.00229.x>
16. Bednařík, J., Senzitivní systém. In: Ambler, Z., Bednařík, J., Růžička, E. *Klinická neurologie. Část obecná*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2004, s. 167-198. ISBN 8072545566
17. Bierhaus, A., Fleming, T., Stoyanov, S., Leffler, A., Babes, A., Neacsu, C., Sauer, S. K., Eberhardt, M., Schnölzer, M., Lasitschka, F., Neuhuber, W. L., Kichko, T. I., Konrade, I., Elvert, R., Mier, W., Pirags, V., Lukic, I. K., Morcos, M., Dehmer, T., Rabbani, N., ... Nawroth, P. P. (2012). Methylglyoxal modification of Nav1.8 facilitates nociceptive neuron firing and causes hyperalgesia in diabetic neuropathy. *Nature medicine*, 18(6), 926–933. <https://doi.org/10.1038/nm.2750>
18. Bista Karki, S., Coppell, K. J., Mitchell, L. V., & Ogbuehi, K. C. (2020). Dynamic Pupillometry in Type 2 Diabetes: Pupillary Autonomic Dysfunction and the Severity of Diabetic Retinopathy. *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, 14, 3923–3930. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S279872>
19. Bongaerts, B. W., Rathmann, W., Heier, M., Kowall, B., Herder, C., Stöckl, D., Meisinger, C., & Ziegler, D. (2013). Older subjects with diabetes and prediabetes are frequently unaware of having distal sensorimotor polyneuropathy: the KORA F4 study. *Diabetes care*, 36(5), 1141–1146. <https://doi.org/10.2337/dc12-0744>
20. Bouhassira, D., Letanoux, M., & Hartemann, A. (2013). Chronic pain with neuropathic characteristics in diabetic patients: a French cross-sectional study. *PloS one*, 8(9), e74195. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074195>
21. Boulton, A. J., Kempler, P., Ametov, A., & Ziegler, D. (2013). Whither pathogenetic treatments for diabetic polyneuropathy?. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 29(5), 327–333. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2397>
22. Boulton, A. J., Vinik, A. I., Arezzo, J. C., Bril, V., Feldman, E. L., Freeman, R., Malik, R. A., Maser, R. E., Sosenko, J. M., Ziegler, D., & American Diabetes Association

- (2005). Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes care*, 28(4), 956–962. <https://doi.org/10.2337/diacare.28.4.956>
23. Braffett, B. H., Gubitosi-Klug, R. A., Albers, J. W., Feldman, E. L., Martin, C. L., White, N. H., Orchard, T. J., Lopes-Virella, M., Lachin, J. M., Pop-Busui, R., & DCCT/EDIC Research Group (2020). Risk Factors for Diabetic Peripheral Neuropathy and Cardiovascular Autonomic Neuropathy in the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study. *Diabetes*, 69(5), 1000–1010. <https://doi.org/10.2337/db19-1046>
  24. Breiner, A., Lovblom, L. E., Perkins, B. A., & Bril, V. (2014). Does the prevailing hypothesis that small-fiber dysfunction precedes large-fiber dysfunction apply to type 1 diabetic patients?. *Diabetes care*, 37(5), 1418–1424. <https://doi.org/10.2337/dc13-2005>
  25. Bril, V., & Perkins, B. A. (2002). Validation of the Toronto Clinical Scoring System for diabetic polyneuropathy. *Diabetes care*, 25(11), 2048–2052. <https://doi.org/10.2337/diacare.25.11.2048>
  26. Bril, V., England, J., Franklin, G. M., Backonja, M., Cohen, J., Del Toro, D., Feldman, E., Iverson, D. J., Perkins, B., Russell, J. W., Zochodne, D., American Academy of Neurology, American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, & American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation (2011). Evidence-based guideline: Treatment of painful diabetic neuropathy: report of the American Academy of Neurology, the American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. *Neurology*, 76(20), 1758–1765. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182166ebe>
  27. Bril, V., Tomioka, S., Buchanan, R. A., Perkins, B. A., & mTCNS Study Group (2009). Reliability and validity of the modified Toronto Clinical Neuropathy Score in diabetic sensorimotor polyneuropathy. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 26(3), 240–246. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2009.02667.x>
  28. Brock, C., Brock, B., Pedersen, A. G., Drewes, A. M., Jessen, N., & Farmer, A. D. (2016). Assessment of the cardiovascular and gastrointestinal autonomic complications of diabetes. *World journal of diabetes*, 7(16), 321–332. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i16.321>
  29. Burgess, J., Frank, B., Marshall, A., Khalil, R. S., Ponirakis, G., Petropoulos, I. N., Cuthbertson, D. J., Malik, R. A., & Alam, U. (2021). Early Detection of Diabetic Peripheral Neuropathy: A Focus on Small Nerve Fibres. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(2), 165. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020165>
  30. Callaghan, B. C., Gallagher, G., Fridman, V., & Feldman, E. L. (2020). Diabetic neuropathy: what does the future hold?. *Diabetologia*, 63(5), 891–897. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05085-9>
  31. Callaghan, B. C., Gao, L., Li, Y., Zhou, X., Reynolds, E., Banerjee, M., Pop-Busui, R., Feldman, E. L., & Ji, L. (2018). Diabetes and obesity are the main metabolic drivers of peripheral neuropathy. *Annals of clinical and translational neurology*, 5(4), 397–405. <https://doi.org/10.1002/acn3.531>

32. Callaghan, B. C., Hur, J., & Feldman, E. L. (2012). Diabetic neuropathy: one disease or two?. *Current opinion in neurology*, 25(5), 536–541. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e328357a797>
33. Callaghan, B. C., Cheng, H. T., Stables, C. L., Smith, A. L., & Feldman, E. L. (2012). Diabetic neuropathy: clinical manifestations and current treatments. *The Lancet. Neurology*, 11(6), 521–534. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70065-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70065-0)
34. Callaghan, B. C., Little, A. A., Feldman, E. L., & Hughes, R. A. (2012). Enhanced glucose control for preventing and treating diabetic neuropathy. *The Cochrane database of systematic reviews*, 6(6), CD007543. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007543.pub>
35. Callaghan, B. C., Price, R. S., & Feldman, E. L. (2015). Distal Symmetric Polyneuropathy: A Review. *JAMA*, 314(20), 2172–2181. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.13611>
36. Callaghan, B. C., Xia, R., Banerjee, M., de Rekeneire, N., Harris, T. B., Newman, A. B., Satterfield, S., Schwartz, A. V., Vinik, A. I., Feldman, E. L., Strotmeyer, E. S., & Health ABC Study (2016). Metabolic Syndrome Components Are Associated With Symptomatic Polyneuropathy Independent of Glycemic Status. *Diabetes care*, 39(5), 801–807. <https://doi.org/10.2337/dc16-0081>
37. Canani, L. H., Copstein, E., Pecis, M., Friedman, R., Leitão, C. B., Azevedo, M. J., Triches, C., Rados, D. R., Moreas, R. S., & Gross, J. L. (2013). Cardiovascular autonomic neuropathy in type 2 diabetes mellitus patients with peripheral artery disease. *Diabetology & metabolic syndrome*, 5(1), 54. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-5-54>
38. Caputo, G. M., Cavanagh, P. R., Ulbrecht, J. S., Gibbons, G. W., & Karchmer, A. W. (1994). Assessment and management of foot disease in patients with diabetes. *The New England journal of medicine*, 331(13), 854–860. <https://doi.org/10.1056/NEJM199409293311307>
39. Casanova-Molla, J., Grau-Junyent, J. M., Morales, M., & Valls-Solé, J. (2011). On the relationship between nociceptive evoked potentials and intraepidermal nerve fiber density in painful sensory polyneuropathies. *Pain*, 152(2), 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.11.012>
40. Colhoun, H. M., Francis, D. P., Rubens, M. B., Underwood, S. R., & Fuller, J. H. (2001). The association of heart-rate variability with cardiovascular risk factors and coronary artery calcification: a study in type 1 diabetic patients and the general population. *Diabetes care*, 24(6), 1108–1114. <https://doi.org/10.2337/diacare.24.6.1108>
41. Collins, M. M., Corcoran, P., & Perry, I. J. (2009). Anxiety and depression symptoms in patients with diabetes. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 26(2), 153–161. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2008.02648.x>
42. Cuspidi, C., Sala, C., Tadic, M., Gherbesi, E., Grassi, G., & Mancia, G. (2016). Nondipping pattern and carotid atherosclerosis: a systematic review and meta-

analysis. *Journal of hypertension*, 34(3), 385–392.  
<https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000812>

43. Čihák, R., Autonomní nervový systém. In: *Anatomie 3*. Vyd.1. Praha: Grada, 1997, s. 540–556. ISBN 8071691402
44. Dayem, S. M., Battah, A. A., & Bohy, A. (2015). Cardiovascular Autonomic Neuropathy and Early Atherosclerosis in Adolescent Type 1 Diabetic Patient. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 3(4), 681–688.  
<https://doi.org/10.3889/oamjms.2015.131>
45. de Galan, B. E., Schouwenberg, B. J., Tack, C. J., & Smits, P. (2006). Pathophysiology and management of recurrent hypoglycaemia and hypoglycaemia unawareness in diabetes. *The Netherlands journal of medicine*, 64(8), 269–279
46. Desouza, C. V., Bolli, G. B., & Fonseca, V. (2010). Hypoglycemia, diabetes, and cardiovascular events. *Diabetes care*, 33(6), 1389–1394. <https://doi.org/10.2337/dc09-2082>
47. Devigili, G., Cazzato, D., & Lauria, G. (2020). Clinical diagnosis and management of small fiber neuropathy: an update on best practice. *Expert review of neurotherapeutics*, 20(9), 967–980. <https://doi.org/10.1080/14737175.2020.1794825>
48. Devigili, G., Rinaldo, S., Lombardi, R., Cazzato, D., Marchi, M., Salvi, E., Eleopra, R., & Lauria, G. (2019). Diagnostic criteria for small fibre neuropathy in clinical practice and research. *Brain : a journal of neurology*, 142(12), 3728–3736.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awz333>
49. Devigili, G., Tugnoli, V., Penza, P., Camozzi, F., Lombardi, R., Melli, G., Broglio, L., Granieri, E., & Lauria, G. (2008). The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology. *Brain : a journal of neurology*, 131(Pt 7), 1912–1925. <https://doi.org/10.1093/brain/awn093>
50. Dimitropoulos, G., Tahrani, A. A., & Stevens, M. J. (2014). Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. *World journal of diabetes*, 5(1), 17–39.  
<https://doi.org/10.4239/wjd.v5.i1.17>
51. Dohrn, M. F., Othman, A., Hirshman, S. K., Bode, H., Alecu, I., Fähndrich, E., Karges, W., Weis, J., Schulz, J. B., Hornemann, T., & Claeys, K. G. (2015). Elevation of plasma 1-deoxy-sphingolipids in type 2 diabetes mellitus: a susceptibility to neuropathy?. *European journal of neurology*, 22(5), 806–e55.  
<https://doi.org/10.1111/ene.12663>
52. Donadio, V., & Liguori, R. (2015). Microneurographic recording from unmyelinated nerve fibers in neurological disorders: an update. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 126(3), 437–445.  
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.10.009>
53. Dunnigan, S. K., Ebadi, H., Breiner, A., Katzberg, H. D., Lovblom, L. E., Perkins, B. A., & Bril, V. (2013). Conduction slowing in diabetic sensorimotor polyneuropathy. *Diabetes care*, 36(11), 3684–3690. <https://doi.org/10.2337/dc13-0746>

54. Dyck, P. J., Albers, J. W., Andersen, H., Arezzo, J. C., Biessels, G. J., Bril, V., Feldman, E. L., Litchy, W. J., O'Brien, P. C., Russell, J. W., & Toronto Expert Panel on Diabetic Neuropathy (2011). Diabetic polyneuropathies: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 27(7), 620–628. <https://doi.org/10.1002/dmrr.1226>
55. Dyck, P. J., Kratz, K. M., Karnes, J. L., Litchy, W. J., Klein, R., Pach, J. M., ... & Melton, L. (1993). The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology*, 43(4), 817-817
56. Ebbelhøj, E., Poulsen, P. L., Hansen, K. W., Knudsen, S. T., Mølgaard, H., & Mogensen, C. E. (2002). Effects on heart rate variability of metoprolol supplementary to ongoing ACE-inhibitor treatment in Type I diabetic patients with abnormal albuminuria. *Diabetologia*, 45(7), 965–975. <https://doi.org/10.1007/s00125-002-0869-7>
57. Eid, S., Sas, K. M., Abcouwer, S. F., Feldman, E. L., Gardner, T. W., Pennathur, S., & Fort, P. E. (2019). New insights into the mechanisms of diabetic complications: role of lipids and lipid metabolism. *Diabetologia*, 62(9), 1539–1549. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4959-1>
58. Ewing, D. J., Boland, O., Neilson, J. M., Cho, C. G., & Clarke, B. F. (1991). Autonomic neuropathy, QT interval lengthening, and unexpected deaths in male diabetic patients. *Diabetologia*, 34(3), 182–185. <https://doi.org/10.1007/BF00418273>
59. Ewing, D. J., Campbell, I. W., & Clarke, B. F. (1980). Assessment of cardiovascular effects in diabetic autonomic neuropathy and prognostic implications. *Annals of internal medicine*, 92(2 Pt 2), 308–311. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-92-2-308>
60. Fakhrzadeh, H., Yamini-Sharif, A., Sharifi, F., Tajalizadekhoob, Y., Mirarefin, M., Mohammadzadeh, M., Sadeghian, S., Badamchizadeh, Z., & Larijani, B. (2012). Cardiac autonomic neuropathy measured by heart rate variability and markers of subclinical atherosclerosis in early type 2 diabetes. *ISRN endocrinology*, 2012, 168264. <https://doi.org/10.5402/2012/168264>
61. Feldman, E. L., Callaghan, B. C., Pop-Busui, R., Zochodne, D. W., Wright, D. E., Bennett, D. L., Bril, V., Russell, J. W., & Viswanathan, V. (2019). Diabetic neuropathy. *Nature reviews. Disease primers*, 5(1), 41. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0092-1>
62. Feldman, E. L., Nave, K. A., Jensen, T. S., & Bennett, D. (2017). New Horizons in Diabetic Neuropathy: Mechanisms, Bioenergetics, and Pain. *Neuron*, 93(6), 1296–1313. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.005>
63. Feldman, E. L., Stevens, M. J., Thomas, P. K., Brown, M. B., Canal, N., & Greene, D. A. (1994). A practical two-step quantitative clinical and electrophysiological assessment for the diagnosis and staging of diabetic neuropathy. *Diabetes care*, 17(11), 1281–1289. <https://doi.org/10.2337/diacare.17.11.1281>
64. Finnerup, N. B., Attal, N., Haroutounian, S., McNicol, E., Baron, R., Dworkin, R. H., Gilron, I., Haanpää, M., Hansson, P., Jensen, T. S., Kamerman, P. R., Lund, K., Moore,

- A., Raja, S. N., Rice, A. S., Rowbotham, M., Sena, E., Siddall, P., Smith, B. H., & Wallace, M. (2015). Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Neurology*, *14*(2), 162–173. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70251-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70251-0)
65. Finnerup, N. B., Haroutounian, S., Kamerman, P., Baron, R., Bennett, D. L. H., Bouhassira, D., Cruccu, G., Freeman, R., Hansson, P., Nurmikko, T., Raja, S. N., Rice, A. S. C., Serra, J., Smith, B. H., Treede, R.- D., & Jensen, T. S. (2016). Neuropathic pain: An updated grading system for research and clinical practice. *Pain*, *157*, 1599–1606. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000492>
66. Fisher, V. L., & Tahrani, A. A. (2017). Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus: current perspectives. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, *10*, 419–434. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S129797>
67. Freynhagen, R., Baron, R., Gockel, U., & Tölle, T. R. (2006). painDETECT: A new screening questionnaire to identify neuropathic components in patients with back pain. *Current Medical Research and Opinion*, *22*, 1911–1920. <https://doi.org/10.1185/030079906X132488>
68. Ghotaslou, R., Memar, M. Y., & Alizadeh, N. (2018). Classification, microbiology and treatment of diabetic foot infections. *Journal of wound care*, *27*(7), 434–441. <https://doi.org/10.12968/jowc.2018.27.7.434>
69. Gibbons C. H. (2020). Treatment induced neuropathy of diabetes. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*, *226*, 102668. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2020.102668>
70. Gimbel, J. S., Richards, P., & Portenoy, R. K. (2003). Controlled-release oxycodone for pain in diabetic neuropathy: a randomized controlled trial. *Neurology*, *60*(6), 927–934. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000057720.36503.2c>
71. Gore, M., Brandenburg, N. A., Dukes, E., Hoffman, D. L., Tai, K. S., & Stacey, B. (2005). Pain severity in diabetic peripheral neuropathy is associated with patient functioning, symptom levels of anxiety and depression, and sleep. *Journal of pain and symptom management*, *30*(4), 374–385. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2005.04.009>
72. Greco, C., Di Gennaro, F., D'Amato, C., Morganti, R., Corradini, D., Sun, A., Longo, S., Lauro, D., Pierangeli, G., Cortelli, P., & Spallone, V. (2017). Validation of the Composite Autonomic Symptom Score 31 (COMPASS 31) for the assessment of symptoms of autonomic neuropathy in people with diabetes. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, *34*(6), 834–838. <https://doi.org/10.1111/dme.13310>
73. Gummy, L. F., Bampton, E. T., & Tolkovsky, A. M. (2008). Hyperglycaemia inhibits Schwann cell proliferation and migration and restricts regeneration of axons and Schwann cells from adult murine DRG. *Molecular and cellular neurosciences*, *37*(2), 298–311. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.10.004>
74. Guo, S., Wang, W., Huang, H., Bi, Y., Jin, Y., Li, C., Zhu, D., & Wang, L. (2021). Quantitative sensory testing can effectively predict cardiovascular autonomic



- neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta diabetologica*, 58(11), 1541–1549. <https://doi.org/10.1007/s00592-021-01744-4>
75. Gureje, O., Von Korff, M., Simon, G. E., & Gater, R. (1998). Persistent pain and well-being: a World Health Organization Study in Primary Care. *JAMA*, 280(2), 147–151. <https://doi.org/10.1001/jama.280.2.147>
  76. Haanpää, M., Attal, N., Backonja, M., Baron, R., Bennett, M., Bouhassira, D., Cruccu, G., Hansson, P., Haythornthwaite, J. A., Iannetti, G. D., Jensen, T. S., Kauppila, T., Nurmikko, T. J., Rice, A., Rowbotham, M., Serra, J., Sommer, C., Smith, B. H., & Treede, R. D. (2011). NeuPSIG guidelines on neuropathic pain assessment. *Pain*, 152(1), 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.07.031>
  77. Handelsman, Y., Bloomgarden, Z. T., Grunberger, G., Umpierrez, G., Zimmerman, R. S., Bailey, T. S., Blonde, L., Bray, G. A., Cohen, A. J., Dagogo-Jack, S., Davidson, J. A., Einhorn, D., Ganda, O. P., Garber, A. J., Garvey, W. T., Henry, R. R., Hirsch, I. B., Horton, E. S., Hurley, D. L., Jellinger, P. S., ... Zangeneh, F. (2015). American association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology - clinical practice guidelines for developing a diabetes mellitus comprehensive care plan - 2015. *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 21 Suppl 1(Suppl 1), 1–87. <https://doi.org/10.4158/EP15672.GL>
  78. Hansen, C. S., Jensen, T. M., Jensen, J. S., Nawroth, P., Fleming, T., Witte, D. R., Lauritzen, T., Sandbaek, A., Charles, M., Fleischer, J., Vistisen, D., & Jørgensen, M. E. (2015). The role of serum methylglyoxal on diabetic peripheral and cardiovascular autonomic neuropathy: the ADDITION Denmark study. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 32(6), 778–785. <https://doi.org/10.1111/dme.12753>
  79. Hansen, C. S., Jensen, J. S., Ridderstråle, M., Vistisen, D., Jørgensen, M. E., & Fleischer, J. (2017). Vitamin B12 deficiency is associated with cardiovascular autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes. *Journal of diabetes and its complications*, 31(1), 202–208. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.08.025>
  80. Haupt, E., Ledermann, H., & Köpcke, W. (2005). Benfotiamine in the treatment of diabetic polyneuropathy--a three-week randomized, controlled pilot study (BEDIP study). *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 43(2), 71–77. <https://doi.org/10.5414/cpp43071>
  81. Hébert, H. L., Veluchamy, A., Torrance, N., & Smith, B. H. (2017). Risk factors for neuropathic pain in diabetes mellitus. *Pain*, 158(4), 560–568. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000785>
  82. Hendriksen, P. H., Oey, P. L., Wieneke, G. H., Bravenboer, B., & van Huffelen, A. C. (1993). Subclinical diabetic polyneuropathy: early detection of involvement of different nerve fibre types. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 56(5), 509–514. <https://doi.org/10.1136/jnnp.56.5.509>
  83. Hepburn, D. A., Deary, I. J., Frier, B. M., Patrick, A. W., Quinn, J. D., & Fisher, B. M. (1991). Symptoms of acute insulin-induced hypoglycemia in humans with and without

- IDDM. Factor-analysis approach. *Diabetes care*, 14(11), 949–957. <https://doi.org/10.2337/diacare.14.11.949>
84. Herman, W. H., Pop-Busui, R., Braffett, B. H., Martin, C. L., Cleary, P. A., Albers, J. W., Feldman, E. L., & DCCT/EDIC Research Group (2012). 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. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 29(7), 937–944. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2012.03644.x>
  85. Herrmann, C. (1997). International experiences with the Hospital Anxiety and Depression Scale— A review of validation data and clinical results. *Journal of Psychosomatic Research*, 42, 17– 41. [https://doi.org/10.1016/s0022-3999\(96\)00216-4](https://doi.org/10.1016/s0022-3999(96)00216-4)
  86. Hicks, C. W., & Selvin, E. (2019). Epidemiology of Peripheral Neuropathy and Lower Extremity Disease in Diabetes. *Current diabetes reports*, 19(10), 86. <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1212-8>
  87. Hoeldtke, R. D., Bryner, K. D., Hoeldtke, M. E., & Hobbs, G. (2007). Treatment of autonomic neuropathy, postural tachycardia and orthostatic syncope with octreotide LAR. *Clinical autonomic research : official journal of the Clinical Autonomic Research Society*, 17(6), 334–340
  88. Holzer, S. E., Camerota, A., Martens, L., Cuerdon, T., Crystal-Peters, J., & Zagari, M. (1998). Costs and duration of care for lower extremity ulcers in patients with diabetes. *Clinical therapeutics*, 20(1), 169–181. [https://doi.org/10.1016/s0149-2918\(98\)80044-1](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(98)80044-1)
  89. Chandrasekharan, B., & Srinivasan, S. (2007). Diabetes and the enteric nervous system. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 19(12), 951–960. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2007.01023.x>
  90. Chao, C. C., Hsieh, S. C., Yang, W. S., Lin, Y. H., Lin, W. M., Tai, T. Y., & Hsieh, S. T. (2007). Glycemic control is related to the severity of impaired thermal sensations in type 2 diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 23(8), 612–620. <https://doi.org/10.1002/dmrr.734>
  91. International Diabetes federation. IDF Diabetes Atlas [online]. 9th. edition, 2019. ISBN: 978-2-930229-87-4. Dostupné z URL: [https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2019/07/IDF\\_diabetes\\_atlas\\_ninth\\_edition\\_en.pdf](https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2019/07/IDF_diabetes_atlas_ninth_edition_en.pdf)
  92. Iqbal, Z., Azmi, S., Yadav, R., Ferdousi, M., Kumar, M., Cuthbertson, D. J., Lim, J., Malik, R. A., & Alam, U. (2018). Diabetic Peripheral Neuropathy: Epidemiology, Diagnosis, and Pharmacotherapy. *Clinical therapeutics*, 40(6), 828–849. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2018.04.001>
  93. Islam, S. K. M. A., Kim, D., Lee, Y. S., & Moon, S. S. (2018). Association between diabetic peripheral neuropathy and heart rate variability in subjects with type 2 diabetes.

94. Jung, C. H., Baek, A. R., Kim, K. J., Kim, B. Y., Kim, C. H., Kang, S. K., & Mok, J. O. (2013). Association between Cardiac Autonomic Neuropathy, Diabetic Retinopathy and Carotid Atherosclerosis in Patients with Type 2 Diabetes. *Endocrinology and metabolism (Seoul, Korea)*, 28(4), 309–319.  
<https://doi.org/10.3803/EnM.2013.28.4.309>
95. Karen I., Svačina Š. a kol., Diabetes mellitus – novelizace 2020. Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře [online]. Vyd. 2. Praha, 2020. ISBN 978-80-88280-16-3. Dostupné z URL:  
<https://www.svl.cz/files/files/Doporuocene-postupy/2020/DIABETES-MELLITUS-2020.pdf>
96. Kec, D., Rajdoa, A., Raputova, J., Adamova, B., Srotova, I., Nekvapilova, E. K., Michalcakova, R. N., Horakova, M., Belobradkova, J., Olsovsky, J., Weber, P., Hajas, G., Kaiserova, M., Mazanec, R., Potockova, V., Ehler, E., Forgac, M., Birklein, F., Üçeyler, N., Sommer, C., Bednarik J., Vlckova, E. (2022). Risk factors for depression and anxiety in painful and painless diabetic polyneuropathy: A multicentre observational cross-sectional study. *European journal of pain (London, England)*, 26(2), 370–389.  
<https://doi.org/10.1002/ejp.1865>
97. Kim, S. H., Lee, K. A., Jin, H. Y., Baek, H. S., & Park, T. S. (2014). Relationship between the Korean Version Survey of the Autonomic Symptoms Score and Cardiac Autonomic Neuropathy Parameters in Patients with Diabetic Peripheral Neuropathy. *Diabetes & metabolism journal*, 38(5), 349–355.  
<https://doi.org/10.4093/dmj.2014.38.5.349>
98. Kirthi, V., Perumbalath, A., Brown, E., Nevitt, S., Petropoulos, I. N., Burgess, J., Roylance, R., Cuthbertson, D. J., Jackson, T. L., Malik, R. A., & Alam, U. (2021). Prevalence of peripheral neuropathy in pre-diabetes: a systematic review. *BMJ open diabetes research & care*, 9(1), e002040. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2020-002040>
99. Kleggetveit, I. P., Namer, B., Schmidt, R., Helås, T., Rückel, M., Ørstavik, K., Schmelz, M., & Jørum, E. (2012). High spontaneous activity of C-nociceptors in painful polyneuropathy. *Pain*, 153(10), 2040–2047. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.05.017>
100. Krøigård, T., Sothynathan, I., & Sindrup, S. H. (2015). Intraindividual Variability and Long-Term Changes of Thermal Quantitative Sensory Testing. *Journal of clinical neurophysiology : official publication of the American Electroencephalographic Society*, 32(4), 352–356. <https://doi.org/10.1097/WNP.0000000000000193>
101. Kumar, M., Chapman, A., Javed, S., Alam, U., Malik, R. A., & Azmi, S. (2018). The Investigation and Treatment of Diabetic Gastroparesis. *Clinical therapeutics*, 40(6), 850–861. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2018.04.012>
102. Lacigová S., Rušavý Z., Jirkovská A., Škrha J. Doporučený postup diagnostiky a léčby diabetické neuropatie. Doporučení České diabetologické společnosti ČLS JEP [online]. 2016, roč. 19, č. 2, datum revize 23. 2. 2016. Dostupné z URL:  
[https://www.diab.cz/dokumenty/standardy\\_neuropatie.pdf](https://www.diab.cz/dokumenty/standardy_neuropatie.pdf)

103. Lauria, G., Cornblath, D. R., Johansson, O., McArthur, J. C., Mellgren, S. I., Nolano, M., Rosenberg, N., Sommer, C., & European Federation of Neurological Societies (2005). EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. *European journal of neurology*, *12*(10), 747–758. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2005.01260.x>
104. Lewis, E., Perkins, B. A., Lovblom, L. E., Bazinet, R. P., Wolever, T., & Bril, V. (2017). Effect of omega-3 supplementation on neuropathy in type 1 diabetes: A 12-month pilot trial. *Neurology*, *88*(24), 2294–2301. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004033>
105. Lopes-Virella, M. F., McHenry, M. B., Lipsitz, S., Yim, E., Wilson, P. F., Lackland, D. T., Lyons, T., Jenkins, A. J., Virella, G., & DCCT/EDIC Research Group (2007). Immune complexes containing modified lipoproteins are related to the progression of internal carotid intima-media thickness in patients with type 1 diabetes. *Atherosclerosis*, *190*(2), 359–369. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2006.02.007>
106. Low, P. A., Benrud-Larson, L. M., Sletten, D. M., Opfer-Gehrking, T. L., Weigand, S. D., O'Brien, P. C., Suarez, G. A., & Dyck, P. J. (2004). Autonomic symptoms and diabetic neuropathy: a population-based study. *Diabetes care*, *27*(12), 2942–2947. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.12.2942>
107. Low, P. A., Gilden, J. L., Freeman, R., Sheng, K. N., & McElligott, M. A. (1997). Efficacy of midodrine vs placebo in neurogenic orthostatic hypotension. A randomized, double-blind multicenter study. Midodrine Study Group. *JAMA*, *277*(13), 1046–1051
108. Magerl, W., Krumova, E. K., Baron, R., Tölle, T., Treede, R. D., & Maier, C. (2010). Reference data for quantitative sensory testing (QST): Refined stratification for age and a novel method for statistical comparison of group data. *Pain*, *151*(3), 598–605. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.07.026>
109. Mala, S., Potockova, V., Hoskovcova, L., Pithova, P., Brabec, M., Kulhankova, J., Keil, R., Riedlbauchova, L., & Broz, J. (2017). Cardiac autonomic neuropathy may play a role in pathogenesis of atherosclerosis in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, *134*, 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.10.002>
110. Malik, R. A., Tesfaye, S., Newrick, P. G., Walker, D., Rajbhandari, S. M., Siddique, I., Sharma, A. K., Boulton, A. J., King, R. H., Thomas, P. K., & Ward, J. D. (2005). Sural nerve pathology in diabetic patients with minimal but progressive neuropathy. *Diabetologia*, *48*(3), 578–585. <https://doi.org/10.1007/s00125-004-1663-5>
111. Manzella, D., Grella, R., Esposito, K., Giugliano, D., Barbagallo, M., & Paolisso, G. (2004). Blood pressure and cardiac autonomic nervous system in obese type 2 diabetic patients: effect of metformin administration. *American journal of hypertension*, *17*(3), 223–227. <https://doi.org/10.1016/j.amjhyper.2003.11.006>

112. Martín-Timón, I., & Del Cañizo-Gómez, F. J. (2015). Mechanisms of hypoglycemia unawareness and implications in diabetic patients. *World journal of diabetes*, *6*(7), 912–926. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i7.912>
113. Martin, C. L., Albers, J. W., Pop-Busui, R., & DCCT/EDIC Research Group (2014). Neuropathy and related findings in the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes care*, *37*(1), 31–38. <https://doi.org/10.2337/dc13-2114>
114. Maser, R. E., & Lenhard, M. J. (2005). Cardiovascular autonomic neuropathy due to diabetes mellitus: Clinical manifestations, consequences, and treatment. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *90*, 5896–5903. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-0754>
115. Matthews, V. B., Elliot, R. H., Rudnicka, C., Hricova, J., Herat, L., & Schlaich, M. P. (2017). Role of the sympathetic nervous system in regulation of the sodium glucose cotransporter 2. *Journal of hypertension*, *35*(10), 2059–2068. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000001434>
116. McCarthy, B. G., Hsieh, S. T., Stocks, A., Hauer, P., Macko, C., Cornblath, D. R., Griffin, J. W., & McArthur, J. C. (1995). Cutaneous innervation in sensory neuropathies: evaluation by skin biopsy. *Neurology*, *45*(10), 1848–1855. <https://doi.org/10.1212/wnl.45.10.1848>
117. McCracken, L. M., Vowles, K. E., & Eccleston, C. (2004). Acceptance of chronic pain: component analysis and a revised assessment method. *Pain*, *107*(1-2), 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2003.10.012>
118. Merkies, I. S., Schmitz, P. I., van der Meché, F. G., Samijn, J. P., van Doorn, P. A., & Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT) group (2002). Clinimetric evaluation of a new overall disability scale in immune mediated polyneuropathies. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, *72*(5), 596–601. <https://doi.org/10.1136/jnnp.72.5.596>
119. Meyer, C., Milat, F., McGrath, B. P., Cameron, J., Kotsopoulos, D., & Teede, H. J. (2004). Vascular dysfunction and autonomic neuropathy in Type 2 diabetes. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, *21*(7), 746–751. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2004.01241.x>
120. Mizisin A. P. (2014). Mechanisms of diabetic neuropathy: Schwann cells. *Handbook of clinical neurology*, *126*, 401–428. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53480-4.00029-1>
121. Moghissi, E., Ismail-Beigi, F., & Devine, R. C. (2013). Hypoglycemia: minimizing its impact in type 2 diabetes. *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, *19*(3), 526–535. <https://doi.org/10.4158/EP13005.RA>
122. Murao, S., & Hosokawa, H. (2010). Serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist for treatment of severe diabetic diarrhea. *Diabetes care*, *33*(3), e38. <https://doi.org/10.2337/dc09-2131>

123. Mwinyi, J., Boström, A., Fehrer, I., Othman, A., Waeber, G., Marti-Soler, H., Vollenweider, P., Marques-Vidal, P., Schiöth, H. B., von Eckardstein, A., & Hornemann, T. (2017). Plasma 1-deoxysphingolipids are early predictors of incident type 2 diabetes mellitus. *PloS one*, *12*(5), e0175776. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175776>
124. Nathani, D., Spies, J., Barnett, M. H., Pollard, J., Wang, M. X., Sommer, C., & Kiernan, M. C. (2021). Nerve biopsy: Current indications and decision tools. *Muscle & nerve*, *64*(2), 125–139. <https://doi.org/10.1002/mus.27201>
125. Navarro, X., & Kennedy, W. R. (1991). Evaluation of thermal and pain sensitivity in type I diabetic patients. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, *54*(1), 60–64. <https://doi.org/10.1136/jnnp.54.1.60>
126. Ohayon, M. M., & Schatzberg, A. F. (2010). Chronic pain and major depressive disorder in the general population. *Journal of psychiatric research*, *44*(7), 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2009.10.013>
127. Ochoa J. (1978). Recognition of unmyelinated fiber disease: morphologic criteria. *Muscle & nerve*, *1*(5), 375–387. <https://doi.org/10.1002/mus.880010506>
128. Opavský, J. *Autonomní nervový systém a diabetická autonomní neuropatie: klinické aspekty a diagnostika*. Vyd. 1. Praha: Galén, 2002. 304 s. ISBN 8072621947
129. Pafili, K., Trypsianis, G., Papazoglou, D., Maltezos, E., & Papanas, N. (2020). Clinical tools for peripheral neuropathy to exclude cardiovascular autonomic neuropathy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Therapy*, *11*, 979–986. <https://doi.org/10.1007/s13300-020-00795-0>
130. Papanas, N., & Ziegler, D. (2015). Corneal confocal microscopy: Recent progress in the evaluation of diabetic neuropathy. *Journal of diabetes investigation*, *6*(4), 381–389. <https://doi.org/10.1111/jdi.12335>
131. Patel, V., Rudningen, K., & Shields, B. (2021). A dramatic case of diabetic gustatory hyperhidrosis successfully treated with topical glycopyrrolate. *JAAD case reports*, *18*, 15–16. <https://doi.org/10.1016/j.jdcr.2021.09.039>
132. Perkins, B., & Bril, V. (2014). Electrophysiologic testing in diabetic neuropathy. *Handbook of clinical neurology*, *126*, 235–248. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53480-4.00018-7>
133. Politi, C., Ciccacci, C., D'Amato, C., Novelli, G., Borgiani, P., & Spallone, V. (2016). Recent advances in exploring the genetic susceptibility to diabetic neuropathy. *Diabetes research and clinical practice*, *120*, 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2016.08.006>
134. Pop-Busui R. (2010). Cardiac autonomic neuropathy in diabetes: a clinical perspective. *Diabetes care*, *33*(2), 434–441. <https://doi.org/10.2337/dc09-1294>
135. Pop-Busui, R., Boulton, A. J., Feldman, E. L., Bril, V., Freeman, R., Malik, R. A., Sosenko, J. M., & Ziegler, D. (2017). Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the

American Diabetes Association. *Diabetes care*, 40(1), 136–154. <https://doi.org/10.2337/dc16-2042>

136. Purewal, T. S., & Watkins, P. J. (1995). Postural hypotension in diabetic autonomic neuropathy: a review. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 12(3), 192–200. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.1995.tb00458.x>
137. Raputova, J., Srotova, I., Vlckova, E., Sommer, C., Üçeyler, N., Birklein, F., Rittner, H. L., Reborn, C., Adamova, B., Kovalova, I., Kralickova Nekvapilova, E., Forer, L., Belobradkova, J., Olsovsky, J., Weber, P., Dusek, L., Jarkovsky, J., & Bednarik, J. (2017). Sensory phenotype and risk factors for painful diabetic neuropathy: a cross-sectional observational study. *Pain*, 158(12), 2340–2353. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001034>
138. Rodrigues, T. C., Ehrlich, J., Hunter, C. M., Kinney, G. L., Rewers, M., & Snell-Bergeon, J. K. (2010). Reduced heart rate variability predicts progression of coronary artery calcification in adults with type 1 diabetes and controls without diabetes. *Diabetes technology & therapeutics*, 12(12), 963–969. <https://doi.org/10.1089/dia.2010.0070>
139. Rochette, L., Ghibu, S., Muresan, A., & Vergely, C. (2015). Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 93(12), 1021–1027. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2014-0353>
140. Rolke, R., Baron, R., Maier, C., Tölle, T. R., Treede, -, Beyer, A., Binder, A., Birbaumer, N., Birklein, F., Bötefür, I. C., Braune, S., Flor, H., Hüge, V., Klug, R., Landwehrmeyer, G. B., Magerl, W., Maihöfner, C., Rolko, C., Schaub, C., Scherens, A., ... Wasserka, B. (2006). Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values. *Pain*, 123(3), 231–243. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.01.041>
141. Rumora, A. E., LoGrasso, G., Hayes, J. M., Mendelson, F. E., Tabbey, M. A., Haidar, J. A., Lentz, S. I., & Feldman, E. L. (2019). The Divergent Roles of Dietary Saturated and Monounsaturated Fatty Acids on Nerve Function in Murine Models of Obesity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 39(19), 3770–3781. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3173-18.2019>
142. Said, G., Baudoin, D., & Toyooka, K. (2008). Sensory loss, pains, motor deficit and axonal regeneration in length-dependent diabetic polyneuropathy. *Journal of neurology*, 255(11), 1693–1702. <https://doi.org/10.1007/s00415-008-0999-z>
143. Selvarajah, D., Cash, T., Sankar, A., Thomas, L., Davies, J., Cachia, E., Gandhi, R., Wilkinson, I. D., Wilkinson, N., Emery, C. J., & Tesfaye, S. (2014). The contributors of emotional distress in painful diabetic neuropathy. *Diabetes & vascular disease research*, 11(4), 218–225. <https://doi.org/10.1177/1479164114522135>
144. Sharma, J. K., Rohatgi, A., & Sharma, D. (2020). Diabetic autonomic neuropathy: a clinical update. *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 50(3), 269–273. <https://doi.org/10.4997/JRCPE.2020.310>

145. Sharma, S., Vas, P. R., & Rayman, G. (2015). Assessment of diabetic neuropathy using a point-of-care nerve conduction device shows significant associations with the LDIFLARE method and clinical neuropathy scoring. *Journal of diabetes science and technology*, *9*(1), 123–131. <https://doi.org/10.1177/1932296814551044>
146. Sharma, S., Vas, P., & Rayman, G. (2022). Small Fiber Neuropathy in Diabetes Polyneuropathy: Is It Time to Change? *Journal of Diabetes Science and Technology*, *16*(2), 321–331. <https://doi.org/10.1177/1932296821996434>
147. Shy, M. E., Frohman, E. M., So, Y. T., Arezzo, J. C., Cornblath, D. R., Giuliani, M. J., Kincaid, J. C., Ochoa, J. L., Parry, G. J., Weimer, L. H., & Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology (2003). Quantitative sensory testing: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, *60*(6), 898–904. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000058546.16985.11>
148. Scholte, A. J., Schuijf, J. D., Delgado, V., Kok, J. A., Bus, M. T., Maan, A. C., Stokkel, M. P., Kharagitsingh, A. V., Dibbets-Schneider, P., van der Wall, E. E., & Bax, J. J. (2010). Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes and no symptoms of coronary artery disease: comparison of <sup>123</sup>I-metaiodobenzylguanidine myocardial scintigraphy and heart rate variability. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, *37*(9), 1698–1705. <https://doi.org/10.1007/s00259-010-1442-0>
149. Schwarz, D. S., & Blower, M. D. (2016). The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, *73*(1), 79–94. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2052-6>
150. Singer, W., Sandroni, P., Opfer-Gehrking, T. L., Suarez, G. A., Klein, C. M., Hines, S., O'Brien, P. C., Slezak, J., & Low, P. A. (2006). Pyridostigmine treatment trial in neurogenic orthostatic hypotension. *Archives of neurology*, *63*(4), 513–518. <https://doi.org/10.1001/archneur.63.4.noc50340>
151. Singh, N., Armstrong, D. G., & Lipsky, B. A. (2005). Preventing foot ulcers in patients with diabetes. *JAMA*, *293*(2), 217–228. <https://doi.org/10.1001/jama.293.2.217>
152. Singleton, J. R., Bixby, B., Russell, J. W., Feldman, E. L., Peltier, A., Goldstein, J., Howard, J., & Smith, A. G. (2008). The Utah Early Neuropathy Scale: a sensitive clinical scale for early sensory predominant neuropathy. *Journal of the peripheral nervous system : JPNS*, *13*(3), 218–227. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8027.2008.00180.x>
153. Singleton, J. R., Marcus, R. L., Jackson, J. E., K Lessard, M., Graham, T. E., & Smith, A. G. (2014). Exercise increases cutaneous nerve density in diabetic patients without neuropathy. *Annals of clinical and translational neurology*, *1*(10), 844–849. <https://doi.org/10.1002/acn3.125>
154. Singleton, J. R., Smith, A. G., & Bromberg, M. B. (2001). Increased prevalence of impaired glucose tolerance in patients with painful sensory neuropathy. *Diabetes care*, *24*(8), 1448–1453. <https://doi.org/10.2337/diacare.24.8.1448>



155. Sletten, D. M., Suarez, G. A., Low, P. A., Mandrekar, J., & Singer, W. (2012). COMPASS 31: a refined and abbreviated Composite Autonomic Symptom Score. *Mayo Clinic proceedings*, 87(12), 1196–1201. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2012.10.013>
156. Sloan, G., Shillo, P., Selvarajah, D., Wu, J., Wilkinson, I. D., Tracey, I., Anand, P., & Tesfaye, S. (2018). A new look at painful diabetic neuropathy. *Diabetes research and clinical practice*, 144, 177–191. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.08.020>
157. Smith, A. G., Russell, J., Feldman, E. L., Goldstein, J., Peltier, A., Smith, S., Hamwi, J., Pollari, D., Bixby, B., Howard, J., & Singleton, J. R. (2006). Lifestyle intervention for pre-diabetic neuropathy. *Diabetes care*, 29(6), 1294–1299. <https://doi.org/10.2337/dc06-0224>
158. Spallone V. (2019). Update on the Impact, Diagnosis and Management of Cardiovascular Autonomic Neuropathy in Diabetes: What Is Defined, What Is New, and What Is Unmet. *Diabetes & metabolism journal*, 43(1), 3–30. <https://doi.org/10.4093/dmj.2018.0259>
159. Spallone, V., Ziegler, D., Freeman, R., Bernardi, L., Frontoni, S., Pop-Busui, R., Stevens, M., Kempler, P., Hilsted, J., Tesfaye, S., Low, P., Valensi, P., & Toronto Consensus Panel on Diabetic Neuropathy (2011). Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 27, 639-653. <https://doi.org/10.1002/dmrr.1239>
160. Spielberger, C., Gorsuch, R., Lushene, R., Vagg, P., & Jacobs, G. (1983). *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Form Y1– Y2)*. Consulting Psychologists Press
161. Srotova, I., Vlckova, E., Strakova, J., Kincova, S., Ryba, L., Dusek, L., Adamova, B., & Bednarik, J. (2015). Validation of the Czech Version of the Neuropathic Pain Symptom Inventory (NPSIcz). *Czech and Slovak Neurology and Neurosurgery*, 78, 45–56. [https://doi.org/10.14735/a\\_mcsn\\_n201545](https://doi.org/10.14735/a_mcsn_n201545)
162. Stein, D. J., Scott, K. M., de Jonge, P., & Kessler, R. C. (2017). Epidemiology of anxiety disorders: from surveys to nosology and back. *Dialogues in clinical neuroscience*, 19(2), 127–136. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.2/dstein>
163. Stelmakh, A., Abrahamovych, O., & Cherkas, A. (2016). Highly purified calf hemodialysate (Actovegin®) may improve endothelial function by activation of proteasomes: A hypothesis explaining the possible mechanisms of action. *Medical hypotheses*, 95, 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2016.09.008>
164. Stino, A. M., & Smith, A. G. (2017). Peripheral neuropathy in prediabetes and the metabolic syndrome. *Journal of diabetes investigation*, 8(5), 646–655. <https://doi.org/10.1111/jdi.12650>
165. Stracke, H., Gaus, W., Achenbach, U., Federlin, K., & Bretzel, R. G. (2008). Benfotiamine in diabetic polyneuropathy (BENDIP): results of a randomised, double blind, placebo-controlled clinical study. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 116(10), 600–605. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1065351>

166. Stracke, H., Lindemann, A., & Federlin, K. (1996). A benfotiamine-vitamin B combination in treatment of diabetic polyneuropathy. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, *104*(4), 311–316. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1211460>
167. Sullivan, M. J. L., Bishop, S., & Pivik, J. (1995). The Pain Catastrophizing Scale: Development and validation. *Psychological Assessment*, *7*, 524–532. <https://doi.org/10.1037/1040-3590.7.4.524>
168. Sun, Y. P., Cai, Y. Y., Li, H. M., Deng, S. M., Leng, R. X., & Pan, H. F. (2015). Increased carotid intima-media thickness (CIMT) levels in patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM): A meta-analysis. *Journal of diabetes and its complications*, *29*(5), 724–730. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2015.03.018>
169. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology (1996). Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation*, *93*(5), 1043–1065.
170. Tesfaye, S., Boulton, A. J., Dyck, P. J., Freeman, R., Horowitz, M., Kempler, P., Lauria, G., Malik, R. A., Spallone, V., Vinik, A., Bernardi, L., Valensi, P., & Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group (2010). Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes care*, *33*(10), 2285–2293. <https://doi.org/10.2337/dc10-1303>
171. Tesfaye, S., Chaturvedi, N., Eaton, S. E., Ward, J. D., Manes, C., Ionescu-Tirgoviste, C., Witte, D. R., Fuller, J. H., & EURODIAB Prospective Complications Study Group (2005). Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *The New England journal of medicine*, *352*(4), 341–350. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032782>
172. Tesfaye, S., Wilhelm, S., Lledo, A., Schacht, A., Tölle, T., Bouhassira, D., Cruccu, G., Skljarevski, V., & Freynhagen, R. (2013). Duloxetine and pregabalin: high-dose monotherapy or their combination? The "COMBO-DN study"--a multinational, randomized, double-blind, parallel-group study in patients with diabetic peripheral neuropathic pain. *Pain*, *154*(12), 2616–2625. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.05.043>
173. Themistocleous, A. C., Ramirez, J. D., Shillo, P. R., Lees, J. G., Selvarajah, D., Orenge, C., Tesfaye, S., Rice, A., & Bennett, D. (2016). The Pain in Neuropathy Study (PiNS): a cross-sectional observational study determining the somatosensory phenotype of painful and painless diabetic neuropathy. *Pain*, *157*(5), 1132–1145. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000491>
174. Thomas P. K. (1997). Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes*, *46* Suppl 2, S54–S57. <https://doi.org/10.2337/diab.46.2.s54>
175. Thrainsdottir, S., Malik, R. A., Dahlin, L. B., Wiksell, P., Eriksson, K. F., Rosén, I., Petersson, J., Greene, D. A., & Sundkvist, G. (2003). Endoneurial capillary abnormalities presage deterioration of glucose tolerance and accompany peripheral neuropathy in man. *Diabetes*, *52*(10), 2615–2622. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.10.2615>

176. Topp, K. S., & Boyd, B. S. (2012). Peripheral nerve: from the microscopic functional unit of the axon to the biomechanically loaded macroscopic structure. *Journal of hand therapy : official journal of the American Society of Hand Therapists*, 25(2), 142–152. <https://doi.org/10.1016/j.jht.2011.09.002>
177. Tran, D., Myers, S., McGowan, C., Henstridge, D., Eri, R., Sonda, S., & Caruso, V. (2021). 1-Deoxysphingolipids, Early Predictors of Type 2 Diabetes, Compromise the Functionality of Skeletal Myoblasts. *Frontiers in endocrinology*, 12, 772925. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.772925>
178. Treede, R. D., Jensen, T. S., Campbell, J. N., Cruccu, G., Dostrovsky, J. O., Griffin, J. W., Hansson, P., Hughes, R., Nurmikko, T., & Serra, J. (2008). Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*, 70(18), 1630–1635. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000282763.29778.59>
179. Turk, D. C., Audette, J., Levy, R. M., Mackey, S. C., & Stanos, S. (2010). Assessment and treatment of psychosocial comorbidities in patients with neuropathic pain. *Mayo Clinic proceedings*, 85(3 Suppl), S42–S50. <https://doi.org/10.4065/mcp.2009.0648>
180. Vasheghani, M., Sarvghadi, F., & Beyranvand, M. R. (2019). The association between cardiac autonomic neuropathy and diabetes control. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, 12, 581–587. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S196729>
181. Verrotti, A., Prezioso, G., Scattoni, R., & Chiarelli, F. (2014). Autonomic neuropathy in diabetes mellitus. *Frontiers in endocrinology*, 5, 205. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00205>
182. Veves, A., Backonja, M., & Malik, R. A. (2008). Painful diabetic neuropathy: epidemiology, natural history, early diagnosis, and treatment options. *Pain medicine (Malden, Mass.)*, 9(6), 660–674. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2007.00347.x>
183. Vinik A. I. (2003). Management of neuropathy and foot problems in diabetic patients. *Clinical cornerstone*, 5(2), 38–55. [https://doi.org/10.1016/s1098-3597\(03\)90017-2](https://doi.org/10.1016/s1098-3597(03)90017-2)
184. Vinik, A. I., & Erbas, T. (2013). Diabetic autonomic neuropathy. *Handbook of clinical neurology*, 117, 279–294. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53491-0.00022-5>
185. Vinik, A. I., & Ziegler, D. (2007). Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation*, 115(3), 387–397. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.634949>
186. Vinik, A. I., Casellini, C., Parson, H. K., Colberg, S. R., & Nevoret, M. L. (2018). Cardiac Autonomic Neuropathy in Diabetes: A Predictor of Cardiometabolic Events. *Frontiers in neuroscience*, 12, 591. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00591>
187. Vinik, A. I., Maser, R. E., Mitchell, B. D., & Freeman, R. (2003). Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care*, 26, 1553–1579. <https://doi.org/10.2337/diacare.26.5.1553>

188. Vinik, A. I., Suwanwalaikorn, S., Stansberry, K. B., Holland, M. T., McNitt, P. M., & Colen, L. E. (1995). Quantitative measurement of cutaneous perception in diabetic neuropathy. *Muscle & nerve*, *18*(6), 574–584. <https://doi.org/10.1002/mus.880180603>
189. Vlčková-Moravcová E., Bednařík J. (2003). Počítačem asistované stanovení termického prahu. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, *66/99*(4), 263–269
190. Vlčková E., Bednařík J., Buršová E., Šajgalíková K., Mlčáková L. (2010). Spektrální analýza variability srdeční frekvence – normativní data. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, *73/106*(6), 663–672
191. Von Korff, M., Ormel, J., Keefe, F. J., & Dworkin, S. F. (1992). Grading the severity of chronic pain. *Pain*, *50*(2), 133–149. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90154-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90154-4)
192. Wang, H., Yu, M., Ochani, M., Amella, C. A., Tanovic, M., Susarla, S., Li, J. H., Wang, H., Yang, H., Ulloa, L., Al-Abed, Y., Czura, C. J., & Tracey, K. J. (2003). Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature*, *421*(6921), 384–388. <https://doi.org/10.1038/nature01339>
193. Watson, C. P., Moulin, D., Watt-Watson, J., Gordon, A., & Eisenhoffer, J. (2003). Controlled-release oxycodone relieves neuropathic pain: a randomized controlled trial in painful diabetic neuropathy. *Pain*, *105*(1-2), 71–78. [https://doi.org/10.1016/s0304-3959\(03\)00160-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3959(03)00160-x)
194. Yajnik, C. S., Kantikar, V., Pande, A., Deslypere, J. P., Dupin, J., Calvet, J. H., & Bauduceau, B. (2013). Screening of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with diabetes using non-invasive quick and simple assessment of sudomotor function. *Diabetes & metabolism*, *39*(2), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2012.09.004>
195. Yamamoto, H., Lee, C. E., Marcus, J. N., Williams, T. D., Overton, J. M., Lopez, M. E., Hollenberg, A. N., Baggio, L., Saper, C. B., Drucker, D. J., & Elmquist, J. K. (2002). Glucagon-like peptide-1 receptor stimulation increases blood pressure and heart rate and activates autonomic regulatory neurons. *The Journal of clinical investigation*, *110*(1), 43–52. <https://doi.org/10.1172/JCI15595>
196. Yang, H., Sloan, G., Ye, Y., Wang, S., Duan, B., Tesfaye, S., & Gao, L. (2020). New Perspective in Diabetic Neuropathy: From the Periphery to the Brain, a Call for Early Detection, and Precision Medicine. *Frontiers in endocrinology*, *10*, 929. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00929>
197. Ziegler, D., Behler, M., Schroers-Teuber, M., & Roden, M. (2015). Near-normoglycaemia and development of neuropathy: a 24-year prospective study from diagnosis of type 1 diabetes. *BMJ open*, *5*(6), e006559. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-006559>
198. Ziegler, D., Movsesyan, L., Mankovsky, B., Gurieva, I., Abylaiuly, Z., & Stokov, I. (2009). Treatment of symptomatic polyneuropathy with actovegin in type 2 diabetic patients. *Diabetes care*, *32*(8), 1479–1484. <https://doi.org/10.2337/dc09-0545>

199. Ziegler, D., Nowak, H., Kempler, P., Vargha, P., & Low, P. A. (2004). Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a meta-analysis. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, *21*(2), 114–121. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2004.01109.x>
200. Ziegler, D., Papanas, N., Zhivov, A., Allgeier, S., Winter, K., Ziegler, I., Brüggemann, J., Strom, A., Peschel, S., Köhler, B., Stachs, O., Guthoff, R. F., Roden, M., & German Diabetes Study (GDS) Group (2014). Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes*, *63*(7), 2454–2463. <https://doi.org/10.2337/db13-1819>
201. Ziegler, D., Rathmann, W., Dickhaus, T., Meisinger, C., Mielck, A., & KORA Study Group (2008). Prevalence of polyneuropathy in pre-diabetes and diabetes is associated with abdominal obesity and macroangiopathy: the MONICA/KORA Augsburg Surveys S2 and S3. *Diabetes care*, *31*(3), 464–469. <https://doi.org/10.2337/dc07-1796>
202. Ziegler, D., Voss, A., Rathmann, W., Strom, A., Perz, S., Roden, M., Peters, A., Meisinger, C., & KORA Study Group (2015). Increased prevalence of cardiac autonomic dysfunction at different degrees of glucose intolerance in the general population: the KORA S4 survey. *Diabetologia*, *58*(5), 1118–1128. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3534-7>
203. Zilliox, L., Peltier, A. C., Wren, P. A., Anderson, A., Smith, A. G., Singleton, J. R., Feldman, E. L., Alexander, N. B., & Russell, J. W. (2011). Assessing autonomic dysfunction in early diabetic neuropathy: the Survey of Autonomic Symptoms. *Neurology*, *76*(12), 1099–1105. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182120147>
204. Zuellig, R. A., Hornemann, T., Othman, A., Hehl, A. B., Bode, H., Güntert, T., Ogunshola, O. O., Saponara, E., Grabliauskaite, K., Jang, J. H., Ungethuen, U., Wei, Y., von Eckardstein, A., Graf, R., & Sonda, S. (2014). Deoxysphingolipids, novel biomarkers for type 2 diabetes, are cytotoxic for insulin-producing cells. *Diabetes*, *63*(4), 1326–1339. <https://doi.org/10.2337/db13-1042>

## 10. SEZNAM PUBLIKACÍ

### Původní vědecké práce, které jsou podkladem této disertační práce

1. **Potočková, V.**, Mala, S., Hoskovcova, L., Capek, V., Nedelka, T., Riedlbauchova, L., Baumgartner, D., Mensova, L., & Mazanec, R. (2022). Thermal quantitative sensory testing as a screening tool for cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. *Brain and behavior*, 12(3), e2506. <https://doi.org/10.1002/brb3.2506>. **IF<sub>2021-2022</sub> = 2,708.**
2. Mala, S., **Potočková, V.**, Hoskovcova, L., Pithova, P., Brabec, M., Kulhankova, J., Keil, R., Riedlbauchova, L., & Broz, J. (2017). Cardiac autonomic neuropathy may play a role in pathogenesis of atherosclerosis in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, 134, 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.10.002>. **IF<sub>2017</sub> = 2,548.**
3. **Potočková V.**, Malá Š., Tomek A., Baumgartner D., Mazanec R. (2016). Význam testování termických prahů v detekci neuropatie tenkých vláken u diabetiků 1. typu. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 79/112(6), 692–697. **IF<sub>2016</sub> = 0,368.**
4. Kec, D., Rajdova, A., Raputova, J., Adamova, B., Srotova, I., Nekvapilova, E. K., Michalcakova, R. N., Horakova, M., Belobradkova, J., Olsovsky, J., Weber, P., Hajas, G., Kaiserova, M., Mazanec, R., **Potočková, V.**, Ehler, E., Forgac, M., Birklein, F., Üçeyler, N., Sommer, C., ... Vlckova, E. (2022). Risk factors for depression and anxiety in painful and painless diabetic polyneuropathy: A multicentre observational cross-sectional study. *European journal of pain (London, England)*, 26(2), 370–389. <https://doi.org/10.1002/ejp.1865>. **IF<sub>2021-2022</sub> = 3,931.**

### Původní vědecké práce, které nejsou podkladem disertační práce s IF

1. Pascual-Goñi, E., Fehmi, J., Lleixà, C., Martín-Aguilar, L., Devaux, J., Höftberger, R., Delmont, E., Doppler, K., Sommer, C., Radunovic, A., Carvajal, A., Smyth, S., Williams, L., Mazanec, R., **Potočková, V.**, Hinds, N., Cassereau, J., Viala, K., Lefilliatre, M., Nicolas, G., ... Querol, L. (2021). Antibodies to the Caspr1/contactin-1 complex in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Brain: a journal of neurology*, 144(4), 1183–1196. <https://doi.org/10.1093/brain/awab014>. **IF<sub>2021</sub> = 13,501.**
2. Schlenker J, Socha V., Riedlbauchova L., Nedelka T., Schlenker A., **Potočková V.**, Mala S., Kutilek P. (2016). Recurrence plot of heart rate variability signal in patients with vasovagal syncope. *Biomedical Signal Processing and Control*, 25(3), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2015.10.007>. **IF<sub>2016</sub> = 3,054.**
3. Štorm J., Česká Burdová M., **Potočková V.**, Mazanec R., Mahelková G. (2021). Využití rohovkové konfokální mikroskopie u neurologických onemocnění. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*. 84/117(4), 341–346. <https://doi.org/10.48095/cccsnm2021341>. **IF<sub>2021</sub> = 0,350.**

## **Původní vědecké práce, které nejsou podkladem disertační práce bez IF**

1. Mazanec R., Baumgartner D., **Potočková V.** (2017). Toxické neuropatie. *Neurologie pro praxi*, 18(1), 20–24.
2. Mazanec R., Mensová L., Baumgartner D., **Potočková V.**, Zámečník J. (2019). Diagnostický algoritmus u svalových dystrofií. *Neurologie pro praxi*, 20(3), 190–194. <https://doi.org/10.36290/neu.2019.017>.
3. Mazanec R., Nedělka T., **Potočková V.** (2015). Diabetická neuropatie z pohledu neurologa. *Postgraduální medicína*, 17(1), 76–85.
4. Mazanec R., Neupauerová J., Baumgartner D., **Potočková V.**, Laššuthová P., Šafka Brožková D., Seeman P. (2016). Hereditární motorické neuropatie. *Neurologie pro praxi*, 17(6), 354–358.
5. Mazanec R., **Potočková V.**, Nedělka T., Šafka Brožková D., Laššuthová P., Neupauerová J., Haberlová J., Smetana P., Kobesová A., Seeman P. (2015). Hereditární neuropatie. *Neurologie pro praxi*, 16(2), 92–98.

## 11 PŘÍLOHY