

**Υποψήφια Διδάκτωρ:** Μαρία Ζιώρη  
**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:** Καθηγ. Νικόλαος Τεντολούρης (επιβλέπων)  
Καθηγ. Παναγιώτης Θεοδοσιάδης  
Αν. Καθηγ. Δήμος-Δημήτριος Μητσικώστας

**Συσχέτιση της διαβητικής σωματικής νευροπάθειας όπως εκτιμάται με την συνεστιακή μικροσκοπία του κερατοειδούς με τη δραστηριότητα του καρδιακού αυτόνομου συστήματος σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1**

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Ο σακχαρώδης διαβήτης αντιπροσωπεύει ένα ολοένα αυξανόμενο πρόβλημα δημόσιας υγείας, επηρεάζοντας πάνω από 360 εκατομμύρια ανθρώπων παγκοσμίως. Οι μικροαγγειακές επιπλοκές μειώνουν την ποιότητα ζωής των ατόμων με διαβήτη και συνδέονται με αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα. Οι διαβητικές νευροπάθειες είναι συχνές, εμφανίζονται περίπου στο 50% των ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη, αλλά συχνά υποδιαγιγνώσκονται. Η διαβητική νευροπάθεια του αυτόνομου καρδιαγγειακού συστήματος (Cardiac Autonomic Neuropathy, CAN) οφείλεται σε καταστροφή μικρών νευρικών ινών. Η πρότυπη μέθοδος της εκτίμησης της βαρύτητας της νευροπάθειας των μικρών ινών είναι η βιοψία δέρματος, αλλά επιτρέπει μόνο την εξέταση της μορφολογίας και όχι της λειτουργικότητας ενώ η επεμβατική της φύση περιορίζει την επανεξέταση και την καθιέρωσή της ως διαγνωστικό εργαλείο αναφοράς. Λόγω της δομικής ομοιότητας μεταξύ των νευρικών ινών του κερατοειδούς, που αναλύονται με την συνεστιακή μικροσκοπία κερατοειδούς (corneal confocal microscopy, CCM) και των μικρών ινών, που άγουν τα σήματα του αυτόνομου νευρικού συστήματος (ΑΝΣ), η CCM έχει πρόσφατα δοκιμαστεί ως διαγνωστικό εργαλείο για τις νευροπάθειες του ΑΝΣ. Η CCM είναι μία μη-επεμβατική, γρήγορη και με αξιόπιστη επαναληψιμότητα τεχνική, που οπτικοποιεί και αναλύει την ανατομία του κερατοειδούς σε μεγάλη μεγέθυνση και συγκεκριμένα την μικροαρχιτεκτονική των μικρών ινών των νεύρων του κερατοειδούς.

**ΣΚΟΠΟΣ:** Σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθεί η συσχέτιση της καταστροφής των μικρών ινών (της πυκνότητας των νευρικών ινών, της πυκνότητας των νευρικών κλάδων και του μήκους των νευρικών ινών του κερατοειδούς), εκτιμώμενη με την συνεστιακή μικροσκοπία κερατοειδούς, με τη διαβητική νευροπάθεια του αυτόνομου καρδιαγγειακού συστήματος σε άτομα με διαβήτη τύπου 1, συγκρινόμενη με αυτήν των ατόμων αναλόγου φύλου και ηλικίας χωρίς διαβήτη, ώστε η CCM να μπορεί να αποτελεί έναν πρόωρο δείκτη (διαγνωστικό εργαλείο) για τη διάγνωση της CAN.

**ΑΤΟΜΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ:** Στη μελέτη θα λάβουν μέρος 150 άτομα, 100 άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (ΣΔτ1) και των δύο φύλων, ηλικίας 18-65 ετών, με διάρκεια διαβήτη >5 έτη και 50 άτομα χωρίς σακχαρώδη διαβήτη και των δύο φύλων, παρόμοιας ηλικίας. Όλοι οι εξεταζόμενοι θα υπογράψουν έντυπο συγκατάθεσης μετά από ενημέρωση πριν τη συμμετοχή τους. Το πρωτόκολλο και το έντυπο ενημέρωσης και συγκατάθεσης θα υποβληθούν για έγκριση στο Επιστημονικό Συμβούλιο του Νοσοκομείου. Η μελέτη είναι συγχρονική και περιλαμβάνει μία επίσκεψη του εξεταζόμενου για τη διενέργεια των μετρήσεων στο Ερευνητικό Εργαστήριο του Διαβητολογικού Κέντρου της Α' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών (Π.Γ.Ν.Α. "Λαϊκό"). Ο κάθε εξεταζόμενος θα προσέρχεται στο Ερευνητικό Εργαστήριο το πρωί. Αρχικά, θα

ληφθούν τα δημογραφικά στοιχεία των εξεταζόμενων και πλήρες ατομικό αναμνηστικό. Στη συνέχεια, θα γίνει μέτρηση των σωματομετρικών παραμέτρων (βάρος, ύψος), καθώς και μέτρηση της αρτηριακής πίεσης. Σε όλους τους εξεταζόμενους θα γίνει αιμοληψία για τον προσδιορισμό HbA<sub>1c</sub>, σακχάρου, ολικής χοληστερόλης, HDL και LDL χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων, ουρίας, κρεατινίνης, καθώς και μέτρηση του λόγου αλβουμίνης προς κρεατινίνη ούρων σε πρωινό δείγμα ούρων. Ακολούθως, θα γίνουν οι δοκιμασίες ελέγχου της CAN, αξιολογώντας τις παραμέτρους μέτρησης της μεταβλητότητας του καρδιακού ρυθμού και χρησιμοποιώντας τη συστοιχία των 4 τυποποιημένων δοκιμασιών, που προτάθηκαν από τον Ewing et al. Έπειτα και τα δύο μάτια του κάθε εξεταζόμενου θα φωτογραφηθούν με μία 45° μη-μυδριατική ψηφιακή κάμερα βυθού. Θα ακολουθήσει βυθοσκόπηση σε όλους τους εξεταζόμενους, ενώ από τη CCM θα επιλεγούν 3-5 υψηλής ποιότητας εικόνες του υπο-επιθηλιακού στρώματος, καθώς και του συνόλου του κερατοειδούς. Στα επιλεγμένα πλαίσια, οι εικόνες θα αναλυθούν ώστε να ποσοτικοποιήσουν την πυκνότητα των νευρικών ινών, την πυκνότητα των νευρικών κλάδων και το μήκος των νευρικών ινών.

**ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ:** Όλα τα δεδομένα θα καταχωρηθούν σε ηλεκτρονική βάση δεδομένων για τη στατιστική επεξεργασία. Για τη στατιστική ανάλυση θα χρησιμοποιηθεί το στατιστικό πακέτο SPSS 25.0 (SPSS, IL, USA). Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θα ορισθούν οι τιμές  $p < 0,05$ .



**PhD Student:** Maria Ziori

**Three-member Consultative Committee:** Prof. Nikolaos Tentolouris (supervisor)  
Prof. Panagiotis Theodosiadis  
Ass. Prof. Dimos-Dimitrios Mitsikostas

**Association of the diabetic somatic neuropathy evaluated with corneal confocal microscopy with the cardiac autonomic nervous system activity in subjects with type 1 diabetes mellitus**

**INTRODUCTION:** Diabetes mellitus represent an increasing problem of public health, affecting over 360 million people worldwide. Microvascular complications decrease the quality of life of patients with diabetes and are associated with increasing morbidity and mortality. Diabetic neuropathies are frequent, appear at about 50% of diabetics but are often underdiagnosed. Cardiac autonomic neuropathy (CAN) results from the damage of small nerve fibers. The gold standard assessment of severity of small fiber neuropathy is via a skin punch biopsy, but this enables examination of morphology only, not function, and its invasive nature limits repeat testing and adoption as a standard screening tool. Because of the structural similarity between the corneal nerve fibers analyzed with corneal confocal microscopy (CCM) and the small fibers conducting autonomic signals, CCM has been recently tested as a diagnostic tool for autonomic neuropathies. CCM is a non-invasive, fast and repeatable evaluation technique to visualize and analyze corneal anatomy at high magnification and specifically the microstructure of cornea's small nerve fibers.

**AIM:** Aim of this study is to investigate the association between small nerve fiber damage (nerve fiber density (NFD), nerve branch density (NBD) and nerve fiber length (NFL)), detected with corneal confocal microscopy, with cardiac autonomic nervous system activity, among subjects with type 1 diabetes mellitus and matched controls. In addition, we will examine whether CCM could be an early diagnostic tool for the detection of CAN.

**MATERIAL AND METHODS:** We will include 150 people, 100 subjects with type 1 diabetes mellitus, of both sexes, age between 18-65 years old, with duration of diabetes >5 years and 50 healthy subjects (with no history of diabetes) age- and sex-matched, as controls. A written informed consent will be obtained by all participants. The protocol and the informed consent will be submitted for approval to the Hospital's Ethics Committee. The study is cross-sectional and includes a visit of the participant at the Research Laboratory of the Diabetes Center of 1<sup>st</sup> Department of Propaedeutic Internal Medicine, General Hospital of Athens "Laiko" to perform the necessary measurements. All participants will come to the Research Laboratory of the Diabetes Centre in the morning. Initially, participants' demographic data and detailed medical history will be taken. Then, the somatometric parameters (weight, height), as well as the blood pressure, will be measured. A fasting plasma sample and a morning urine sample will be obtained for the estimation of HbA<sub>1c</sub>, glucose, total cholesterol, HDL, LDL, triglycerides, urine, creatinine, as well as albumin to creatinine ratio. Assessment of CAN function will be performed, by assessing the measurement of parameters of heart rate variability and applying an array of the 4 standardized tests, proposed by Ewing et al. Both eyes of each participant will be photographed by a 45° digital non-mydratic retinal camera and a fundus examination

will follow. Finally, 3-5 high quality CCM-images of the sub-basal layer and the entire cornea will be selected and analyzed to quantify NFD, NBD and NFL.

**STATISTICAL ANALYSIS:** All the data will be registered in an electronic database for further statistical analysis, which will be performed using SPSS 25.0 statistical package (SPSS, IL, USA). A p value < 0.05 will be considered to indicate statistical significance.