

DISERTASI

POLA PERUBAHAN KADAR SERUM *NERVE GROWTH FACTOR (NGF)*, *BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF)*, DAN *NEUROTROPHIN-3 (NT-3)* PADA PERBAIKAN NEUROPATI DIABETIK SETELAH MELAKUKAN SENAM KAKI DIABETIK



TRI WAHYULIATI

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2015

DISERTASI

POLA PERUBAHAN KADAR SERUM *NERVE GROWTH FACTOR (NGF)*, *BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF)*, DAN *NEUROTROPHIN-3 (NT-3)* PADA PERBAIKAN NEUROPATI DIABETIK SETELAH MELAKUKAN SENAM KAKI DIABETIK



TRI WAHYULIATI

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

DISERTASI

POLA PERUBAHAN KADAR SERUM *NERVE GROWTH FACTOR (NGF)*, *BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF)*, DAN *NEUROTROPHIN-3 (NT-3)* PADA PERBAIKAN NEUROPATI DIABETIK SETELAH MELAKUKAN SENAM KAKI DIABETIK

Untuk Memperoleh Gelar Doktor
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
Pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Dipertahankan Di hadapan Panitia
Ujian Akhir Tahap II (Terbuka)

Oleh :
TRI WAHYULIATI
NIM. 091070146

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

Lembar Pengesahan

NASKAH DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 26 FEBRUARI 2015

Oleh
PROMOTOR

Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., Sp.PD,K-EMD, FINASIM

NIP. 195601041983121001

CO PROMOTOR

Prof. Dr. Samekto Wibowo, dr., P.Far.K., Sp.FK (K)., Sp.S (K).

NIP. 130321331

Disertasi Telah Disetujui Untuk Ujian Akhir Tahap I (Tertutup)

Pada Tanggal 22 Januari 2015

Panitia Penguji :

Ketua : Prof. Dr. Moh. Hasan Machfoed, dr., MS., Sp.S(K)

Anggota : Prof. Dr. Agung Pranoto, dr. M.Kes., Sp.PD,K-EMD, FINASIM

Prof. Dr. Samekto Wibowo, dr. P.Far.K., Sp.FK(K), Sp.S(K)

Prof. Dr. Sri Sutarni Sudarmaji, dr., Sp.S(K)

Prof. Dr. Harjanto JM., dr., AIFM

Prof. Dr. Kuntoro, dr., MPH., PH

Prof. Dr. I Ketut Suidiana Drs., M.Si

Dr. Kurnia Kusumastuti Koesoemojoeono, dr., Sp.S(K)

Ditetapkan Dengan Surat Keputusan

Dekan Fakultas Kedokteran

Universitas Airlangga

Nomor : 21/UN3.1.1/KD/2015

Tanggal : 19 Januari 2015

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillah Robbil ‘Alamin, segala puji bagi Allah SWT atas anugerah pengalaman yang indah ini. Berkat limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan naskah disertasi ini.

Disertasi ini dapat diselesaikan berkat bimbingan, arahan, dorongan, saran dan perbaikan dari banyak pihak. Atas semua itu, dengan segenap kerendahan hati penulis ingin menghaturkan banyak terimakasih dan penghargaan yang setinggi - tingginya kepada yang terhormat :

Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., Sp.PD,K-EMD, FINASIM, selaku Promotor, atas waktu, semangat, suri tauladan, bimbingan, ketelitian, kecermatan, kesabaran serta keikhlasan dalam memberikan arahan dan wawasan berfikir serta membagi pengalaman disela jadwalnya yang sangat padat, sejak penyusunan proposal, penelitian dan penyusunan naskah disertasi ini. Penulis haturkan terimakasih yang tak terhingga atas segala yang sudah diberikan dan telah menginspirasi penulis.

Prof. Dr. Aboe Amar Joesoef, dr. Sp.S (K) (alm.), selaku Promotor pendahulu, yang penulis sebutkan namanya dengan penuh rasa hormat, atas segala amal baiknya semoga segala ilmu yang sudah diberikan dapat penulis manfaatkan sehingga akan bernilai sebagai amal jariyah bagi almarhum, Amin.

Prof. Dr. Samekto Wibowo, dr., P.Far.K., Sp.FK (K)., Sp.S (K), selaku ko-promotor atas budi baik dan segala kelonggaran hati, waktu, pikiran yang telah

diberikan dengan tulus ikhlas dan kesediaanya menjadi tumpuan solusi bagi kebuntuan berfikir, dan akan selalu menjadi suri tauladan bagi penulis.

Para Guru Besar dan Dosen pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran, masukan, dan semangat selama menempuh pendidikan dan telah memberikan inspirasi dan suri tauladan yang sangat berguna bagi penulis, termasuk para staf pendukung dan karyawan yang telah sangat membantu dengan ringan.

Tim Penguji, Prof. Dr. Moh. Hasan Machfoed, dr., Sp.S(K), MS., sebagai ketua tim penilai yang telah memberikan segenap waktu, perhatian dan ilmunya, terimakasih telah berbagi dengan bijaksana dan tulus ikhlas. Anggota tim penilai, Prof. Dr. Sri Sutarni Sudarmaji, dr., Sp.S (K). ; Prof. Dr. Harjanto, JM, dr., AIFM. ; Prof. Kuntoro, dr., MPH., Dr.PH. ; Prof. Dr. I Ketut Suidiana Drs. M.Si. ; Dr. Kurnia Kusumastuti Koesoemojoeono, dr., Sp.S (K) yang telah mencurahkan perhatian, waktu, pemikiran, dan arahan tanpa segan membagi pengalaman dan pengetahuan sejak tahap kualifikasi sampai dengan penyusunan disertasi ini. Penulis merasa sangat terbantu dibimbing dan ditemani banyak ahli dan pakar dibidangnya masing – masing dengan cermat. Keikhlasan, ketelitian, kesabaran, kelonggaran hati dan fikiran serta segala kebaikannya dalam membimbing menjadi suri tauladan bagi penulis yang selalu diingat dengan rasa hormat.

Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada :

Pemerintah Republik Indonesia melalui Menteri Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan kesempatan serta bantuan beasiswa HPEQ, sehingga penulis

dapat mengikuti dan menyelesaikan pendidikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Fasich, Apt. yang telah memberikan ijin dan berkenan menerima penulis sebagai siswa pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., Sp.PD,K-EMD, FINASIM, dengan segenap staf dan karyawannya yang telah memberikan ijin dan kesempatan serta membantu penulis dalam mengikuti pendidikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp.A (K), Sp.JP., AKK dan mantan Ketua Prof. Dr. Harjanto, JM, dr., AIFM atas nasehat, dorongan, semangat dan perhatian yang diberikan untuk menyelesaikan pendidikan.

Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Dr. Hj. Sri Hajati, SH., MS, mantan Wakil Direktur Bidang Akademik Prof. Dr. H. R. Eddy Raharjo, dr., Sp.An., KIC dan Wakil Direktur Bidang Pendidikan Prof. Dr. Suharningsih, Ir beserta pimpinan dan staf Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang telah diberikan selama mengikuti pendidikan.

Rektor Universitas Muhammadiyah Yogyakarta Prof. Dr. Bambang Cipto, MA, dan mantan Rektor H. Dasron Hamid, Ir., M.Sc, yang telah meberikan ijin dan tugas belajar kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Doktor di Universitas Airlangga, beserta para staf pendukung dan karyawan yang telah membantu terlaksananya pendidikan.

Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta H. Ardi Pramono dr., Sp.An., M.Kes dan mantan Dekan H. Erwin Santosa dr., Sp.A., M.Kes dan segenap jajarannya dan semua teman sejawat dosen serta para karyawan yang telah memberi dukungan serta kesempatan kepada penulis.

Pimpinan, staf pendukung dan segenap karyawan PPB Universitas Muhammadiyah Yogyakarta yang telah membantu dalam proses pendidikan.

Kepada dr. H. Ahmad Asmedi, M.Kes., Sp.S (K), para Guru, Residen, Staf dan karyawan di bagian neurosifologi Rumah Sakit Dokter Sardjito Yogyakarta dan di PPDS 1 - Bagian Neurologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah memberikan dukungan dan bantuan dengan ringan dan tulus ikhlas selama pendidikan dan pelaksanaan penelitian.

Direktur Rumah Sakit Muhammadiyah Yogyakarta beserta para staf, karyawan dan perawat yang telah memberikan ijin dan bantuan selama penelitian.

Para subyek penelitian beserta pendamping dan keluarganya yang telah bersedia membantu dengan sabar dan ikhlas selama penelitian.

Teman-teman angkatan 2010-2011 kelas B - Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah saling bekerjasama dalam segala situasi, dan memberikan pengalaman indah tak terlupa.

Penulis juga sampaikan terimakasih bagi orang - orang tercinta, ayah bunda Bp. H. Ismail (alm.), Ibu. Hj. Aliah, Bp. H. Dahlan (alm.), Ibu. Hj. Jariyah (alm.) atas segenap perjuangan dan doa yang telah diberikan. Suami tercinta Bp. HM. Danang Syamsi, terimakasih telah menyertai dalam suka dan duka. Anak – anak tersayang Eva Nur Fadila dan Adam Izza Fahrian, mohon maaf atas segala kekurangan dalam

mendidik dan menyertai kalian, namun selalu ibu panjatkan doa agar kalian menjadi orang saleh salehah, pemimpin bagi orang saleh salehah, bahagia dunia akhirat dan senantiasa khusnul khotimah kita bersama sampai akhir hayat.

Tak lupa bagi para sahabat dekat, kelompok anak – anak Senin Kamis sore terimakasih atas energi yang senantiasa dipompakan. Kepada kelompok ibu – ibu Jum'at malam, terimakasih telah menghembuskan kesabaran tiada henti.

Tanpa mengurangi rasa hormat karena tidak dapat menyebutkan satu persatu, perkenankan penulis mengucapkan terimakasih diiringi permohonan maaf karena tidak mampu memberikan penghargaan yang semestinya kepada semua pihak yang telah membantu. Semoga Allah SWT membalas budi baik yang telah dilakukan.

Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi peningkatan kesehatan masyarakat dan pengembangan ilmu pendidikan dan kesehatan. Penulis juga menyadari adanya keterbatasan dan kekurangan dalam disertasi ini. Semua itu terjadi semata karena kelemahan dan keterbatasan penulis dalam berusaha memahami dan menuangkan kembali sangat sedikit dari ilmu Allah, yang memang jika dituliskan dengan menjadikan air di samudra sebagai tintanya dan bahkan jika ditambahkan lagi tujuh samudra setelah habisnya, maka tak akan habis ilmu Allah dituliskan. Menyadari hal itu, maka dengan segenap kerendahan hati penulis menerima dengan terbuka peneliti dan penulis lanjutan bagi perbaikan dan penyempurnaan disertasi ini.


Semoga Allah SWT berkenan melimpahkan taufik dan hidayah Nya kepada kita semua. Amin Ya Robbal Alamin.

Surabaya, Februari 2015

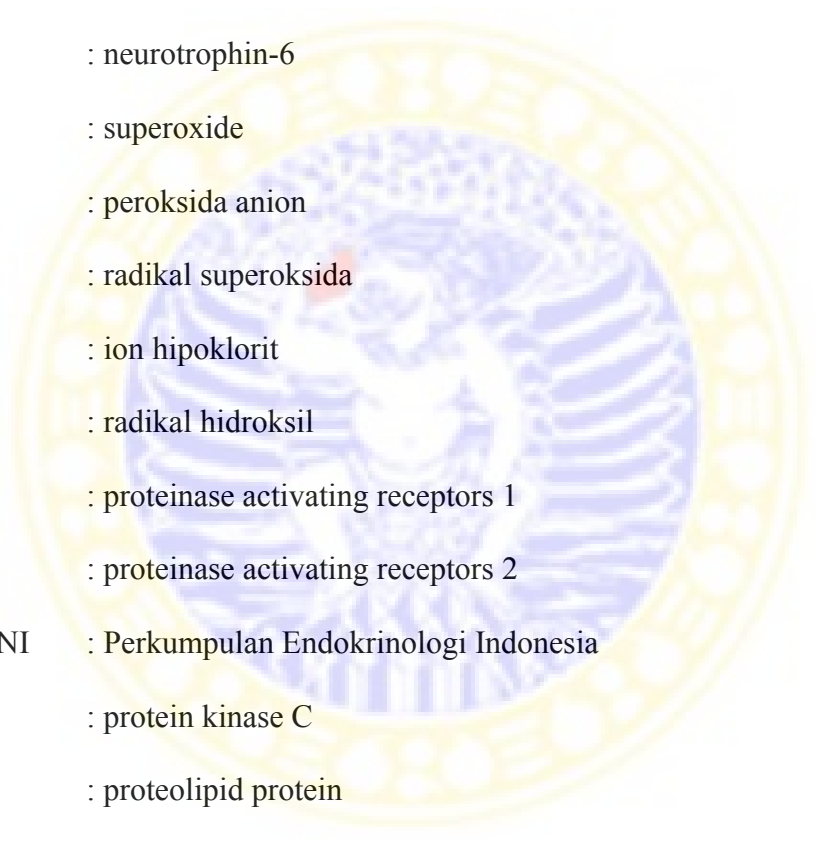
Penulis

DAFTAR SINGKATAN :

ABI	: ankle brachial index
bFGF	: basic fibroblast growth factor
AGE	: advanced glycation end-product
ATP	: adenosin trifosfat
BDNF	: bran derived neurotrophic factor
CDS	: cornu dorsalis spinalis
CNE	: clinical neuropathy examination
CNTF	: ciliary neurotrophic factor
DNS	: diabetic neuropathy symptom
DNE	: diabetic neuropathy examination
DREZ	: dorsal root entry zone
DSPN	: diabetic sensorimotor polyneuropathy
DM	: diabetes melitus
DNA	: deoxyribonucleate acid
ECM	: extracellular matrix
ENMG	: elektroneuromyografi
ER	: endoplasma retikulum
ETC	: electron transport chain
FGF	: fibroblast growth factor
GABA	: gamma aminobutyric acid (γ -aminobutyric acid)
Glu	: glutamate
GLUT4	: glucose transporter 4



GLUT	: glucose transporter
GSH	: glutathione
GSSG	: glutathion disulfide
H ₂ O ₂	: hidrogen peroksida
HDL	: high density lipoprotein
IDDM	: insulin dependen diabetes melitus
IGFs	: insulin like growth factor
IL-1	: interleukin - 1
JNK	: c-Jun N-terminal kinase
KHS	: kecepatan hantaran saraf
LBF	: leg blood flow
LDL	: low density lipoprotein
MAP	: mitogen activated protein
MAP kinase	: mitogen activated protein kinase
MBP	: myelin based protein
MnSOD	: mangan superoksida dismutase
Mog	: mielin oligodendrocyte glikoprotein
NAD	: nikotinamida adenin dinukleotida
NCVs	: nerve conduction velocities
NDS	: neuropathy disability score
NGF	: nerve growth factor
NIDDM	: non-insulin dependen diabetes mellitus
NIS	: neuropathy impairment score



NO	: nitric oxide
NOS	: nitric oxide synthase
NT	: neurotrophin
NTF	: neurotrophic factor
NT-3	: neurotrophin-3
NT-4	: neurotrophin-4, disebut juga NT-4/5
NT-6	: neurotrophin-6
O ₂ ⁻	: superoxide
O ₂ ⁻	: peroksida anion
O ₂ ^{•-}	: radikal superoksida
OCl ⁻	: ion hipoklorit
•OH	: radikal hidroksil
PAR-1	: proteinase activating receptors 1
PAR-2	: proteinase activating receptors 2
PERKENI	: Perkumpulan Endokrinologi Indonesia
PKC	: protein kinase C
PLP	: proteolipid protein
RAGE	: reseptor AGE
RE	: retikulum endoplasma
Riskesdas	: riset kesehatan dasar
ROO [•]	: organik peroxy
ROS	: reaktif oksigen species
SSP	: sistem saraf pusat

SST	: sistem saraf tepi
TCA	: tricarboxylic acid
TCSS	: toronto clinical scoring system
TGT	: toleransi glukosa terganggu
TNF	: tumor necrosis factor
Trx	: thioredoxin
VEGF	: vascular endothelial growth factor
VPT	: vibration perception threshold
WHO	: world health organization



RINGKASAN

Pola perubahan kadar serum *Nerve Growth Factor*, *Brain-Derived Neurotrophic Factor*, dan *Neurotrophin-3* pada perbaikan neuropati diabetik setelah melakukan senam kaki diabetik

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu masalah utama bagi kesehatan manusia di abad 21. *World Health Organization* (WHO) memprediksi adanya peningkatan jumlah penyandang DM di berbagai negara termasuk Indonesia. Sejak ditemukannya insulin, komplikasi DM bergeser dari komplikasi akut ke komplikasi kronik yaitu makroangiopati, mikroangiopati dan neuropati diabetik. Neuropati diabetik merupakan kelompok penyakit degeneratif progresif yang melibatkan sistem saraf tepi akibat DM. Prevalensi neuropati diabetik di berbagai negara berkisar 20% - 62%. Di Indonesia, Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada pusat data dan informasi tahun 2011 menyebutkan, neuropati diabetik menyerang lebih dari 50% penderita DM dengan angka amputasi berkisar 15-30%. Hal tersebut mengakibatkan angka kecacatan yang tinggi, produktifitas menurun dan biaya yang besar.

Upaya penanggulangan telah dilakukan. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) dalam Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe2 di Indonesia tahun 2011 telah menetapkan 4 pilar utama penatalaksanaan DM yaitu : edukasi, diet, farmakologis dan olah raga. Para ahli di bidang DM telah menciptakan tata cara olah raga, namun tidak semua jenis olah raga dianjurkan bagi pengidap DM karena DM merupakan penyakit kronis sehingga kondisi pasien sangat bervariasi dari yang ringan sampai berat. Pada penderita yang sudah mendapat komplikasi, intensitas olah raga perlu disesuaikan. Ritme dan gerakan yang lebih ringan telah diciptakan, yaitu senam kaki diabetik.

Berbagai manfaat klinis olah raga bagi penderita DM telah dilaporkan, demikian pula manfaat laboratoris yaitu tentang peran faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan saraf disebut *neurotrophin*, yang meliputi *nerve growth factor* (NGF), *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), *neurotrophin-3* (NT-3). NGF adalah faktor neurotropik pertama yang ditemukan. NGF adalah salah satu *neurotrophin* yang penting, yang diproduksi dalam sel post sinaps. Saraf perifer memerlukan NGF untuk perkembangan dan kelangsungan hidup dan fungsi saraf. BDNF merupakan faktor neurotropik yang awalnya ditemukan di otak, tetapi juga ditemukan di perifer meskipun sumber utama BDNF yang beredar di sitemik berasal dari otak, yaitu mencapai 80%. BDNF adalah zat yang aktif untuk merangsang neurogenesis. *Neurotrophin-3* (NT-3) berperan dalam pencegahan degeneratif pada neuron. NT-3 unik di antara *neurotrophin* dalam hal jumlah dan mampu mengaktifkan beberapa reseptor tirosin kinase (misalnya, TrkC dan TrkB). Semua *neurotrophin* ada dalam otot, namun mayoritas (75%) dari saraf aferen otot mengekspresikan TrkC dan responsif terhadap NT-3.

Penelitian tentang olah raga dengan intensitas tinggi dan sedang yang terkait *neurotrophin* telah dilakukan, namun jenis olah raga peregangan tingkat ringan seperti senam kaki yang terkait *neurotrophin* belum dilakukan, pola perubahan kadar *neurotrophin* tersebut juga belum jelas. Pola tersebut jika dapat dijelaskan secara

ilmiah, maka penatalaksanaan DM dengan senam kaki diabetik dapat dipertanggung jawabkan. Berdasarkan fakta tersebut, maka penelitian ini didesain untuk menentukan pola perubahan kadar serum NGF, BDNF, dan NT-3 pada perbaikan neuropati diabetik setelah melakukan senam kaki diabetik. Diagnosis neuropati diabetik ditegakkan melalui pemeriksaan *electroneuromyography* (ENMG). Kontraksi otot pada senam kaki diabetik akan memicu translokasi GLUT4 sehingga transport glukosa ke dalam sel meningkat dan dapat digunakan sebagai energi serta mengurangi hiperglikemia. Senam kaki juga memperbaiki aliran darah yang akan dinilai melalui skor *ankle brachial index* (ABI), tekanan darah sistolik dan diastolik. Perbaikan aliran darah dan transport energi akan memperbaiki fungsi sel. Perbaikan tersebut secara biomolekular akan dinilai melalui pengukuran kadar serum protein yang potensial bagi perbaikan neuropati diabetik yaitu NGF, BDNF dan NT-3. Pola perubahan kadar ketiga protein tersebut juga akan dianalisis. Secara klinis perbaikan neuropati diabetik akan dinilai melalui tanda dan gejalanya yaitu dengan *diabetic neuropathy scale* (DNS) dan *diabetic neuropathy examination* (DNE). Variabel lain yang dikendalikan adalah umur, jenis kelamin, HbA1c, BMI, lama menderita DM, lama menderita hipertensi, fungsi ginjal dan profil lipid.

Penelitian ini merupakan *true experimental study* dengan metode *randomized pre test – post test control group design*. Sebanyak 36 subyek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dimasukkan ke dalam kelompok perlakuan (18 subyek) atau kelompok kontrol (18 subyek) dengan metode *systematic random sampling* yang dipadankan (*matching*) dalam hal umur subyek. Pengukuran variabel dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan, yaitu melakukan senam kaki diabetik selama 4 minggu dengan dosis satu kali sehari. Kelompok kontrol tidak melakukan senam kaki diabetik, hanya melakukan aktifitas fisik sehari – hari seperti biasa. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah : (1) penderita neuropati diabetik derajat ringan, sedang, atau berat baik laki - laki maupun perempuan, (2) berusia 40 - 64 tahun, (3) tidak memiliki penyakit yang mempengaruhi ekstremitas bawah yang mengganggu pelaksanaan senam, (4) tidak memiliki gangguan fungsi ginjal melalui pemeriksaan kadar asam urat, *urea* dan *creatinine*, (5) tidak sakit jiwa, keganasan, gangguan kognisi dan komunikasi, (6) bersedia jadi sampel penelitian dengan menanda tangani *informed consent*. Kriteria eksklusi adalah konsumsi alkohol.

Variabel pada penelitian ini meliputi variabel independen, senam kaki diabetik dan variabel dependen, yaitu skor ABI, Tekanan darah sistolik dan diastolik, DNS, DNE, kadar serum NGF, BDNF dan NT-3. Variabel terkendali, yaitu derajat neuropati diabetik berdasarkan pemeriksaan ENMG, penderita DM dengan status kadar HbA1c, profil lipid yaitu kadar *cholesterol* total, HDL, LDL dan *triglyceride*, fungsi ginjal yaitu kadar asam urat, ureum, *creatinine*, lama menderita DM, lama menderita hipertensi, BMI, umur, jenis kelamin.

Penelitian dilakukan di poliklinik bagian penyakit dalam dan saraf RSUD Muhammadiyah Yogyakarta. Protokol penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta, dan dilakukan sesuai dengan deklarasi Helsinki. Analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS 21, tingkat kemaknaan ditetapkan dengan nilai $p < 0,05$.

Data awal menunjukkan, subyek pada kedua kelompok menderita neuropati derajat ringan, sedang dan berat yang tidak berbeda bermakna (p 0.370). Pemeriksaan fungsi ginjal tidak ada perbedaan bermakna pada kadar asam urat (p 0.619) dan *creatinine* (p 0.652). Kadar ureum menunjukkan perbedaan yang bermakna (p 0.006) namun masih dalam rentang batas normal. Umur subyek telah dipadankan sehingga nilai $p = 1$. Karakteristik lain juga tidak ada perbedaan bermakna yaitu jenis kelamin (p 0.443), status perkawinan (p 0.338), pendidikan (p 0.309), pekerjaan (p 0.194), jenis terapi DM (p 0.084), BMI (p 0.545), ABI (p 0.056), tekanan darah sistolik (p 0.772), tekanan darah diastolik (p 0.506), DNS (p 0.387), DNE (p 0.761), kadar serum NGF (p 0.497), BDNF (p 0.479), NT-3 (p 0.676), lama menderita DM (p 0.266), lama menderita hipertensi (p 0.680), kadar kolesterol (p 0.735), HDL (p 0.665), LDL (p 0.479) dan *triglyceride* (p 0.725). Status kontrol DM pada kedua kelompok memiliki perbedaan yang bermakna, yaitu pada kelompok senam lebih banyak yang terkontrol baik dari pada kelompok kontrol yang lebih banyak berstatus sebagai terkontrol sedang dan jelek (p 0.019). Kadar ureum dan HbA1c yang berbeda bermakna ini akan dianalisis lebih rinci dengan cara memasukkan variabel kadar ureum dan HbA1c sebagai ko-variabel dalam analisis statistik.

Pada akhir penelitian, analisis dilakukan terhadap 15 subyek kelompok senam, karena 3 subyek (16,6%) *drop out*, yaitu 1 subyek mengalami *osteo arthritis genu* dan 2 subyek lainnya mengalami *myalgia*. Hasilnya menunjukkan, pada kelompok senam terjadi peningkatan yang bermakna skor ABI dibandingkan kelompok kontrol, yaitu (0.92 ± 0.06) menjadi (1.01 ± 0.08) p 0.002 vs. (0.88 ± 0.04) menjadi (0.88 ± 0.05) p 0.131, sehingga kedua kelompok tersebut berbeda secara bermakna dengan nilai p 0.01. Hal ini terjadi sebagai respon kontraksi otot terhadap *endothelium-dependent vasodilatasi* yaitu asetilkolin. Kontraksi otot pada senam kaki akan memicu neurotransmitter *acetylcholine*, yang bergabung dengan reseptor M3 *muscarinic* memicu *endotel derived vasodilator prostanoid*, kemudian berdifusi ke otot menimbulkan vasorelaksasi dan resistensi perifer turun.

Tekanan darah sistolik pada kelompok senam terjadi penurunan yang bermakna, yaitu (132.00 ± 20.33) menjadi (124.00 ± 14.04) p 0.014 vs. (131.76 ± 14.24) menjadi (132.35 ± 11.47) p 0.668, sehingga kedua kelompok tersebut memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai p 0.01. Tekanan darah diastolik menurun pada kelompok senam meskipun tidak bermakna yaitu (82.00 ± 8.61) menjadi (78.67 ± 9.90) p 0.055, sedangkan pada kelompok kontrol meningkat meskipun juga tidak bermakna yaitu (80.88 ± 5.65) menjadi (82.06 ± 5.32) p 0.216. Hasil pada masing-masing kelompok tersebut tidak bermakna, namun jika dibandingkan antara keduanya menjadi bermakna (p 0.01) karena nilai p untuk kelompok senam adalah 0.055 atau lebih mendekati bermakna jika derajat kemaknaan adalah $p < 0.05$, sedangkan pada kelompok kontrol nilai p lebih jauh dari tingkat kemaknaan yaitu p 0.216. Perbaikan tekanan darah tersebut terjadi karena adanya vasorelaksasi dan penurunan resistensi perifer. Hal itu secara keseluruhan akan mempengaruhi kelancaran aliran darah serta perbaikan tekanan darah.

Pada skor DNS terjadi perbaikan yang bermakna pada kelompok senam yaitu (2.13 ± 1.06) menjadi (1.07 ± 0.96) p 0.01. Pada kelompok kontrol (2.18 ± 1.01) menjadi (2.18 ± 1.01) p 1.00. Kedua kelompok memiliki hasil yang berbeda

bermakna dengan nilai p 0.01. Nilai DNE juga terjadi perbaikan yang bermakna pada kelompok senam dengan terjadi penurunan, yaitu (3.20 ± 2.14) menjadi (1.73 ± 1.66) p 0.001. Pada kelompok kontrol (4.41 ± 2.71) menjadi (4.53 ± 3.01) p 0.543. Kedua kelompok tersebut memiliki hasil yang berbeda secara bermakna dengan nilai p 0.01. Perbaikan tersebut terjadi, karena kontraksi otot pada senam kaki diabetik mengakibatkan ion calcium meningkat dan akan mengaktifkan enzim adenilat siklase yang selanjutnya akan merubah ATP menjadi cAMP. Selanjutnya cAMP akan membantu proses metabolisme dan penyerapan glukosa ekstraseluler dengan mentranslokasi GLUT4 intra vesikel untuk bergerak ke permukaan membran guna mengangkut glukosa ekstraseluler memasuki sel sehingga dapat digunakan sebagai energi serta mengurangi keadaan hiperglikemia. cAMP yang meningkat mengaktifkan *cAMP response element-binding protein* (CREB) yang membantu penggabungan fragmen axon dan mielin yang rusak akibat neuropati diabetik. Aliran darah yang membaik akan memperbaiki suplai material yang dibutuhkan untuk regenerasi dan perbaikan axon serta mielin. Mekanisme tersebut akan memperbaiki fungsi sel yang tampak dengan adanya perbaikan DNS dan DNE.

Analisis terhadap 3 protein *neurotrophin* yang diperiksa menunjukkan hasil yang bervariasi. Pada kelompok senam terjadi peningkatan kadar NGF yang tidak bermakna yaitu (4.32 ± 0.88) menjadi (10.83 ± 7.33) p 0.157. Pada kelompok kontrol juga terjadi peningkatan yang tidak bermakna pula yaitu (8.54 ± 1.95) menjadi (13.77 ± 2.11) p 0.402. Perbedaan hasil pada kedua kelompok tersebut jika dibandingkan antar kelompok adalah bermakna dengan nilai p 0.04, karena derajat kemaknaan untuk kelompok senam adalah p 0.157 atau lebih mendekati kebermaknaan yaitu $p < 0.05$ sedangkan kelompok kontrol p 0.402 atau lebih jauh dari tingkat kemaknaan. Hal itu berarti bahwa kelompok senam memiliki peningkatan kadar serum NGF yang lebih bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Senam kaki diabetik akan melancarkan aliran darah dan transportasi glukosa. Aliran darah yang meningkat serta glukosa yang dapat memasuki sel sebagai energi akan memicu regenerasi melalui perbaikan fungsi DNA yang selanjutnya meningkatkan transkripsi protein termasuk faktor pertumbuhan NGF yang dengan bantuan mRNA Trk A dan p 75 akan di transportasi menuju perbaikan akson dan mielin yang mengalami degenerasi.

Kadar serum BDNF pada penelitian ini terjadi penurunan pada kedua kelompok. Pada kelompok senam adalah (33106.4 ± 7697.9) menjadi (31212.4 ± 6965.2) p 0.059. Pada kelompok kontrol (30813.6 ± 8246.1) menjadi (30340.9 ± 10613.9) p 0.803. Hasil pada masing – masing kelompok menurun secara tidak bermakna karena nilai masing – masing $p > 0.05$, namun hasil tersebut jika di bandingkan antara keduanya memiliki perbedaan yang bermakna, karena nilai p untuk kelompok senam adalah 0.059 atau lebih mendekati nilai kebermaknaan yang ditetapkan, sedangkan kelompok kontrol 0.803. Hal ini berarti bahwa, pada kelompok senam terjadi penurunan yang lebih bermakna kadar BDNF dibanding kontrol dengan perbedaan yang bermakna, nilai p 0.01. Hal ini bertolak belakang dengan hipotesis penelitian yang menyebutkan kadar serum BDNF akan meningkat. Literatur menunjukkan, pada penderita DM akan terjadi penurunan kadar plasma BDNF yang berkorelasi negatif dengan kadar glukose plasma. Makin tinggi kadar glukose, maka kadar BDNF plasma akan makin turun karena terjadi kerusakan struktur hipokampus

yang mengakibatkan pelepasan BDNF otak menurun. Hal itu sesuai dengan hasil penelitian ini, bahwa pada kelompok HbA1c baik - sedang menunjukkan penurunan BDNF yang tidak bermakna yaitu (31166.6667 ± 3992.2804) menjadi ($30283.5000 \pm 4507.60850$) p 0.629, sedangkan pada kelompok dengan kadar HbA1c jelek terjadi penurunan yang hampir bermakna yaitu (34399.5556 ± 9435.9978) menjadi (31831.7778 ± 8433.4502) p 0.051. Data lain menyebutkan, trombosit dapat menyimpan dan melepaskan BDNF. Senam kaki sampai batas tertentu akan meningkatkan kadar BDNF akibat pelepasan BDNF dari trombosit yang teraktivasi oleh kontraksi otot pada senam kaki, selain itu BDNF juga bisa bersumber dari neuron yang ada di dalam otot skeletal, namun sayangnya BDNF yang dihasilkan oleh otot tersebut tidak dilepaskan ke dalam sirkulasi dan BDNF otot tersebut akan bekerja secara lokal saja. Adanya peningkatan BDNF otot akibat senam kaki yang bekerja secara lokal mengakibatkan BDNF dari sentral atau otak kurang dilepaskan dalam sirkulasi, padahal secara umum hiperglikemia pada penderita DM juga akan menurunkan kadar BDNF sirkulasi. Hal itu sesuai dengan hasil penelitian ini, bahwa pada kedua kelompok terjadi penurunan kadar serum BDNF, namun penurunan tersebut lebih tinggi secara bermakna pada kelompok senam daripada kontrol. Pada kelompok senam menghasilkan BDNF otot yang bekerja lokal dan mengakibatkan BDNF dari otak kurang dirilis karena secara umum BDNF tersebut juga menurun pada penderita DM. Penurunan ini merupakan kompensasi reduksi.

Hal lain yang ditemukan dalam penelitian ini adalah, subyek penelitian tidak memiliki kebiasaan berolah raga secara rutin. Perubahan kebiasaan hidup setelah subyek berpartisipasi dalam penelitian yaitu harus melakukan senam kaki setiap hari dengan didampingi oleh instruktur diduga menimbulkan depresi. Data menyebutkan, penurunan ekspresi BDNF berhubungan dengan gangguan fungsi *hippocampus* dan peningkatan tingkat depresi pada geriatri. Berbagai faktor tersebut secara keseluruhan mengakibatkan hasil yang sesuai dengan penelitian ini, bahwa penurunan kadar serum BDNF lebih tinggi pada kelompok senam dari pada kelompok kontrol.

Pada pemeriksaan kadar NT-3 terjadi peningkatan yang bermakna. Pada kelompok senam yaitu (1.05 ± 0.23) menjadi (1.26 ± 0.38) p 0.049, sedangkan pada kelompok kontrol (1.19 ± 0.50) menjadi (1.98 ± 1.81) p 0.264. Perbedaan keduanya bermakna dengan nilai p 0.01. Hasil tersebut sesuai dengan data sebelumnya, yang menyebutkan bahwa mayoritas (75%) dari aferen otot mengekspresikan TrkC dan responsif terhadap NT-3. Senam kaki lebih banyak merupakan kerja lokal di perifer melalui manipulasi pada otot anggota gerak bawah, sehingga lebih banyak menghasilkan dampak lokal pula. Data menunjukkan, GLUT-4 merupakan transporter glukosa insulin-responsif utama yang terletak terutama dalam sel otot dan adiposa. Pada keadaan tidak ada insulin, sekitar 90 persen GLUT-4 terletak intraseluler. Kontraksi otot pada senam kaki dapat merangsang translokasi GLUT-4 ke membran plasma dan meningkatkan transportasi glukosa dalam otot rangka melalui jalur yang berbeda dari insulin (*insulin independent*). Ketersediaan energi dapat dipergunakan untuk membangun protein *neurotrophin* pada fungsi regenerasi.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang ditemukan, antara lain : (1) tidak dilakukan pemeriksaan kadar *neurotrophin* otot skeletal pada kaki, (2) tidak dilakukan biopsi sebagai diagnosis pasti adanya degenerasi maupun regenerasi, (3)

subyek penelitian memiliki kadar awal HbA1c yang tidak setara antara dua kelompok, (4) Pengambilan subyek penelitian tidak dikelompokkan berdasarkan status dasar derajat berat ringannya neuropati diabetik.

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa pada penderita neuropati diabetik, senam kaki diabetik memiliki pengaruh perifer terhadap perbaikan bermakna secara klinis berdasarkan skor ABI, tensi sistolik dan diastolik, DNS dan DNE. Peningkatan bermakna kadar serum NGF, penurunan bermakna kadar serum BDNF sebagai kompensasi reduksi dari pengaruh kerja perifer senam kaki. NT-3 merupakan *neurotrophin* yang kadarnya paling terpengaruh meningkat dibandingkan NGF dan BDNF.

Berdasarkan hasil tersebut, maka disarankan bagi : (1) Para klinisi untuk selalu menyertakan olah raga sesuai kondisi penderita . Olah raga yang ringan seperti senam kaki diabetik tetap bisa diterapkan khususnya pada kondisi yang berat. (2) Para perawat, kelompok senam, penyuluh kesehatan, dan berbagai pihak yang terkait kesehatan dapat selalu menerapkan olah raga termasuk senam kaki diabetik dalam setiap usaha peningkatan derajat kesehatan. (3) Penderita dan masyarakat, bahwa olah raga yang ringan sekalipun seperti senam kaki diabetik terbukti bermanfaat. (4) Penelitian selanjutnya perlu dilakukan dengan dosis dan lama pengamatan yang bervariasi, pemilihan subyek dengan HbA1c yang homogen, perlu penelitian yang mengamati faktor – faktor yang menjadi kendala atau pemicu ketaatan untuk melakukan olah raga secara rutin, (5) Strategi terapi di masa depan perlu memperhatikan faktor *neurotrophic* khususnya NT-3 yang ternyata paling terpengaruh kadarnya oleh senam kaki diabetik, misalnya pembuatan dan pemberian sintetik NT-3 dalam bentuk injeksi intra muskular atau salep.

SUMMARY

PATTERNS OF CHANGES IN SERUM LEVELS OF NERVE GROWTH FACTOR, BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR, AND NEUROTROPHIN-3 TOWARD THE REPAIR OF DIABETIC NEUROPATHY, AFTER PERFORMING DIABETIC FOOT EXERCISE

Diabetes mellitus (DM) is one of the major problems for human health in the 21st century. The World Health Organization (WHO) predicts the more increasing number of people with diabetes in various countries including Indonesia. Since the discovery of insulin, diabetes complications have shifted from acute to chronic complications namely macroangiopathy, microangiopathy and diabetic neuropathy. Diabetic neuropathy is a group of progressive degenerative diseases involving the peripheral nervous system due to DM. Its prevalence ranges from 20% - 62%. In Indonesia, the data and information centers of the Basic Health Research (Riskesdas) during 2011 informed that diabetic neuropathy affects more than 50% of diabetic patients with amputation numbers ranging from 15-30%. These problems led to a high number of disabilities, declining productivity and huge costs.

Efforts in preventing the disease have been conducted. Indonesian Society of Endocrinology (PERKENI) in 2011 Consensus Management and Prevention of Diabetes Mellitus Type 2 in Indonesia had set four main pillars in managing diabetes, namely: education, diet, pharmacology and exercise. DM experts have invented the exercise procedures though not all of the types were recommended for people with diabetes since DM is a chronic disease with various patients' conditions from mild to severe. Those patients with complications need to adjust the intensity. Slower rhythms and movements have been created known as diabetic foot exercise.

Various clinical benefits from the exercise for DM patients have been reported as well as those of laboratory, especially the role of growth factor. Nerve growth factor is called neurotrophin, including nerve growth factor (NGF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neurotrophin -3 (NT-3). NGF is the first neurotrophic factor found. This is one of the essential neurotrophin, produced in the post-synaptic cell. This is also required by peripheral nerves for development and survival in addition to nerve functions. BDNF is a neurotrophic factor initially found in the brain, but also found in peripheral although its primary source in the systemic circulation derives from the brain which has been a major contributor, 80%. This is an active substance to stimulate neurogenesis. Neurotrophin-3 (NT-3) contributes in the prevention of degenerative neurons. NT-3 is unique among neurotrophins in terms of number and its ability to activate multiple tyrosine kinase receptor (eg, TrkC and TrkB). All neurotrophins are in muscles, but the majority of afferent muscles (75%) expresses TrkC and is responsive to NT-3.

Several studies have been performed on the exercise with high and mild intensity associated with neurotrophin, but not the ones with mild stretching exercises like foot exercise related with neurotrophin, added with the unclear patterns of changes in neurotrophin levels. If the pattern can be explained scientifically, the management of diabetes mellitus with diabetic foot gymnastics is accountable. Accordingly, this study is designed to determine the pattern of changes in serum

levels of NGF, BDNF, and NT-3 in the improvement of diabetic neuropathy, after doing diabetic foot exercise. Diagnosis of diabetic neuropathy is confirmed with electroneuromyography (ENMG) examination. Muscle contractions in diabetic foot gymnastics will trigger the translocation of GLUT4 so that the transport of glucose into cells increases. This can be employed as energy and reduction of hyperglycemia. Foot exercise also improve blood circulation which will be assessed by an ankle brachial index (ABI), systolic and diastolic blood pressure scoring. This blood circulation and energy transport improvement will also improve cell function. This will be a biomolecular assessment through the measurement of serum protein levels potential for improving diabetic neuropathy, namely NGF, BDNF and NT-3. The patterns of changes in levels of these three proteins will also be analyzed. Clinically, improved diabetic neuropathy will be assessed through the signs and symptoms of diabetic neuropathy scale (DNS) and diabetic neuropathy examination (DNE). The other controlled variables are age, sex, HbA1c, BMI, DM and hypertension duration, renal function and lipid profile.

This study is a true experimental one with randomized pre-test post-test control group design method. A total of 36 subjects meeting the inclusion and exclusion criteria were included in the treatment group (18 subjects) or the control one (18 subjects) with age matched systematic random sampling method. Measuring variables was performed before and after the treatment of performing diabetic foot gymnastics for 4 weeks with once-daily dosing. The control group did not perform diabetic foot exercise, but their daily physical activity as usual. Inclusion criteria for this study were: (1) patients with diabetic neuropathy of mild, moderate, or severe level both men and women, (2) aged 40-64 years, (3) not suffering from a disease affecting the lower extremity and interfering exercise performance, (4) not possessing impaired renal function by examining the levels of uric acid, urea and creatinine, (5) not having mental illness, malignancy, impaired cognition and communication disorders, (6) willing to be a sample by signing informed consent. In addition, exclusion criterion was alcohol consumption.

Variables in this research include the independent variable is diabetic foot exercise. The dependent variables are ABI scores, systolic and diastolic blood pressure, DNS, DNE, serum levels of NGF, BDNF and NT-3. The controlled variables are degree of diabetic neuropathy based on ENMG examination, diabetic patients with status of HbA1c levels, lipid profile of total cholesterol level, HDL, LDL and triglyceride, renal function of uric acid, urea, creatinine levels, DM and hypertension duration, BMI, age, and sex.

The study was conducted in the clinic of internal medicine and neurological of General Hospital at PKU Muhammadiyah, Yogyakarta. The protocol for the research has been approved by the ethics committee of the Faculty of Medicine, University of Gajah Mada, and conducted in accordance with the declaration of Helsinki. Data analysis was performed using SPSS 21, the level of significance was set at $p < 0.05$.

Preliminary data showed that the subjects in both groups suffered from no significant differences of mild, moderate and severe neuropathy ($p 0.370$). There was no significant difference in the examination of renal function in the levels of uric acid ($p 0.619$) and creatinine ($p 0.652$). Urea levels showed a significant difference (p

0.006) but still within the range of normal limits. Age subjects were matched so that the value of $p=1$. Other characteristics also showed insignificant difference: gender (p 0.443), marital status (p 0.338), education (p 0.309), job (p 0.194), the type of diabetes therapy (p 0.084), BMI (p 0.545), ABI (p 0.056), systolic blood pressure (p 0.772), diastolic blood pressure (p 0.506), DNS (p 0.387), DNE (p 0.761), serum levels of NGF (p 0.497), BDNF (p 0.479), NT-3 (p 0.676), duration of diabetes mellitus (p 0.266), from hypertension (p 0.680), cholesterol (p 0.735), HDL (p 0.665), LDL (p 0.479) and triglyceride (p 0.725), respectively. There was a significant difference in DM control status in both groups (p 0.019). The difference was significant in urea and HbA1c levels for both groups and will be analyzed further by classifying them as co-variant in the statistical analysis.

At the end of the study, the analysis was conducted on 15 subjects in exercise group, because 3 subjects (16.6%) dropped out, as one subject experienced an osteoarthritis genu and two other subjects with myalgia. The results showed a significant increase in the exercise group, ABI scores were compared to the control group, from (0.92 ± 0.06) into (1.01 ± 0.08) p 0.002 vs. (0.88 ± 0.04) into (0.88 ± 0.05) p 0.131, respectively. This means there were significant differences found in the two groups with the value of p 0.01. It occurred in response to muscle contraction of endothelium-dependent vasodilatation or acetylcholine. Muscle contraction in foot gymnastics triggered neurotransmitter of acetylcholine together with the M3 muscarinic receptor that also triggered endothelial derived vasodilator prostanoid, and then diffused into muscles causing vasorelaxation and a decrease in peripheral resistance.

Systolic blood pressure in exercise group decreased significantly, from (132.00 ± 20.33) into (124.00 ± 14.04) p 0.014 vs (131.76 ± 14.24) into (132.35 ± 11.47) p 0.668, respectively. Therefore, the two groups had significant differences with p value of 0.01. Diastolic blood pressure also decreased though not significant in exercise group at (82.00 ± 8.61) into (78.67 ± 9.90) p 0.055, whereas the control group was observed with no significant increase from (80.88 ± 5.65) into (82.06 ± 5.32) p 0.216. Results in each of these groups were not significant, yet they were significant (p 0.01) when compared between the two groups due to the p -value of 0.055 for the exercise group. Hence, this was closer to the significance if the degree of significance was $p < 0.05$, while in the control group, p -value was farther of p 0.216. Improvements in blood pressure occurred with regard to the onset of vasorelaxation and a decrease in peripheral resistance. Overall, this affected blood circulation and pressure improvements.

For DNS scores, the results revealed a significant improvement in exercise group, from (2.13 ± 1.06) into (1.07 ± 0.96) p 0.01 and in the control group from (2.18 ± 1.01) into (2.18 ± 1.01) p 1.00, respectively. Both groups showed significant different results with p 0.01. A significant improvement of DNE values also occurred in the exercise group with a decline, from (3.20 ± 2.14) into (1.73 ± 1.66) p 0.001, in the control group from (4.41 ± 2.71) into (4.53 ± 3.01) p 0.543, consecutively. Both groups revealed significant different results with p 0.01. Such improvements were due to muscle contraction in diabetic foot gymnastics causing increased calcium ions, then activated the adenylate cyclase enzyme, hence, the ATP was changed into

cAMP. Furthermore, cAMP helped the metabolism process and absorption of extracellular glucose by intra GLUT4 vesicles translocation to move near the membrane surface to transport the extracellular glucose to the cell to be used as energy and to reduce hyperglycemia. Increased cAMP activated cAMP response element-binding protein (CREB) assisting merging damaged fragments of axons and myelin of diabetic neuropathy. Improved blood circulation improved the supply of materials needed for regenerating and repairing axons and myelin. Such mechanism would repair perceptible cell function with improvement of DNS and DNE.

Analysis of the 3 neurotrophin proteins examined showed varying results. In the exercise group NGF levels increased though not significant at (4.32 ± 0.88) into (10.83 ± 7.33) p 0.157. Similar results were also in the control group, from (8.54 ± 1.95) into (13.77 ± 2.11) p 0.402. The difference results were observed in those two groups when being compared which was significant with p value of 0.04, as the significance level for the exercise group was p 0.157, closer to the significance of $p < 0.05$ while the control group was farther with p 0.402. This means that the exercise group showed more significant elevated serum levels of NGF than the control group. Diabetic foot exercise accelerated blood circulation and glucose transport. Increased blood circulation and glucose entering the cell as energy triggered regeneration through DNA repair function, further enhanced the transcription of proteins including growth factor of NGF with the help from mRNA Trk A and p 75, thus transported to repair axon and myelin degeneration. BDNF serum levels in this study decreased in both groups. In the exercise group it was from (33106.4 ± 7697.9) into (31212.4 ± 6965.2) p 0.059 while in the control one the decrease was from (30813.6 ± 8246.1) into (30340.9 ± 10613.9) p 0.803. Results on each group revealed no significant decrease since the value of each $p > 0.05$, but those when compared between the two showed significant differences, because the p -value for the gymnastics group was 0.059, closer to the significant value set, whereas the controlled one was 0.803. The more significant decrease in BDNF level of the exercise group compared to the control group, p -value of 0.01 was observed. This result has not confirmed with the research hypothesis stating that BDNF serum levels will increase. The literature said, diabetic patients will have decreased plasma levels of BDNF, negatively correlated with plasma glucose levels. The higher levels of glucose, the lower the plasma BDNF levels, due to the structural damage in hippocampus resulting in decrease while releasing BDNF in the brain. This confirms the results of the study, analyzing changes in the levels of neurotrophic factors in gymnastics groups based on the status of their HbA1c levels, good-moderate group and the poor one. The former group showed a non-significant decrease in BDNF from $(3992.2804 \pm 31166.6667)$ into $(30283.5000 \pm 4507.60850)$ p 0.629, whereas the latter was close to significant decrease from $(9435.9978 \pm 34399.5556)$ into $(31831.7778 \pm 8433.4502)$ p 0.051. Moreover, other data state, thrombocyte can store and release BDNF. Foot exercise to some extent will enhance BDNF levels as a result of the release of BDNF from thrombocyte, activated by muscle contractions in foot exercise. In addition, BDNF possibly originates from neurons within skeletal muscle. Unfortunately, such BDNF is not released into the circulation, yet the BDNF muscles work locally. Such increase results in less release of BDNF from the central or brain into circulation, while

generally hyperglycemia in diabetic patients will also reduce levels of circulating BDNF. This is in line with the results of the study, that in both groups decreased BDNF serum levels occur, but the significant decline was higher in exercise group than the control one. The reason is that the exercise group generates BDNF muscles working locally due to foot exercise, not released in circulation. Consequently, these muscles are the causes for lack of BDNF release from the brain as decreasing BDNF is commonly found in patients with DM. This decrease in other words is a reductive compensation from the influence of peripheral foot gymnastics.

This research also found that subjects of the study did not exercise regularly. Changes in daily habits after participating in research, requiring daily foot exercise accompanied by an instructor, were believed to cause depression. Data revealed a decrease in BDNF expression associated with impaired hippocampus function and increased depression levels in geriatrics. Those various factors as the overall results match with this study, that the decrease in BDNF serum levels is higher in exercise group than in the control.

In this study, the NT-3 level was examined and discovered a significant improvement at its level, namely, in exercise group from (1.05 ± 0.23) into (1.26 ± 0.38) p 0.049, whereas in the control group from (1.19 ± 0.50) into (1.98 ± 1.81) p 0.264, respectively. Differences were significant with a p -value of 0.01. These results are in accordance with previous data, claiming that the majority (75%) of afferent muscle expresses TrkC and is responsive to NT - 3. Foot exercise are more a local work in peripheral through manipulating lower limb muscles, thus, more local impact generates. The data show, that the glucose transporter (GLUT), especially GLUT-4 is the major insulin-responsive glucose transporter, located especially in cell muscle and adipose. In the absence of insulin, about 90 percent GLUT-4 is intracellularly located. Contraction of muscles in the foot exercise can stimulate GLUT-4 translocation to the plasma membrane and enhance glucose transport in skeletal muscle through different pathways from insulin (insulin independent). In order to build neurotrophin proteins in regenerative function the energy available is employed.

This study findings has several limitations: (1) no assessment on neurotrophin levels of skeletal muscles in the feet, (2) no biopsy as a definitive diagnosis of the onset of degeneration and regeneration, (3) the subjects of the study have inequivalent HbA1c levels between two groups, (4) subjects of this research were not grouped according to the basic status of severity in diabetic neuropathy.

Thus, it can be concluded that in patients with diabetic neuropathy, diabetic foot exercise has a peripheral effect on a clinically significant improvement based on ABI scores, systolic and diastolic blood pressure, DNS and DNE. A significant increase in serum levels of NGF, a significant decrease in BDNF serum levels are as reductive compensation from the influence of peripheral exercise foot work. The most affected Neurotrophin level is NT-3 which is more increased being compared to NGF and BDNF.

Accordingly, the study suggests (1) clinicians to include appropriate physical exercise suitable for the patients' condition. Low impact workout such as diabetic foot exercise can still be applied, especially in patients with severe conditions. (2) nurses, gymnastics groups, health counselors, and various stakeholders in health care

systems to always manage to implement physical exercise including diabetic foot gymnastics in any effort to improve health status. (3) patients and societies to perform actively even the low impact exercise like diabetic foot gymnastics as proven to provide benefits. (4) further research to be done with varied dose and duration for the observation, subjects selection with homogeneous HbA1c, observation on constrains or triggering adherence factors to workout regularly, (5) therapeutic strategies in the future to consider neurotrophic factors particularly NT-3 level given as the least affected by diabetic foot exercise, for instance, an intra-muscular injection for synthetic NT-3 or an ointment.

