Protein/Creatinine Ratio in urine and Glycated Hemoglobin as Possible Predictors for Diabetic Retinopathy

A Thesis Submitted

By

Omar Akram Jarjees Al-Pachachee

To
The Council of the College of Medicine
University of Mosul

In Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of
Master of Science
In
Clinical Biochemistry

Supervised by
Prof. Raad Yahya Al-Hamdani

1426 A.H. **2005 A.D.**

ABSTRACT

Diabetic retinopathy (DR) is one of the common complications in diabetics, and an important cause of visual loss in the working age group among diabetic patients.

The presence of laboratory investigations made it possible to predict the development of DR, or liability to have it, made the diagnosis and treatment (using drugs or laser) of the disease in its early stages easier than in advanced or late stages of the disease.

The aim of the present study is to find a possible relationship between laboratory investigations and the development of DR to diagnose in the early stages, in addition to periodic ophthalmological examination.

The samples were collected from 150 diabetic patients in the fasting state (89 males and 61 females) aged between 13-78 years (49.87 $\pm$ 10.0) (13 type 1 and 137 type 2 diabetes). The patients were selected from two main diabetic clinics in Mosul, al-Wafaa' Diabetic Clinic in Mosul medical city and the diabetic clinic in al-Salaam General Hospital during the period from 1st of October 2004 to the 28th of April 2005. The patients were classified into 2 groups, patients with and without DR, each of which consisted of 75 patients. The diagnosis of DR was established by an ophthalmologist using a slit lamp, special lenses and ophthalmoscopic examination all was newly diagnosed and for the first time. Random urine samples from all patients were collected in both groups, in addition to random urine samples collected from hundred apparently healthy non-diabetic non-hypertensive individuals with no renal disease, to obtain our own reference range for protein/creatinine ratio(PCR) in Mosul, to determine a cut-off value and to classify patients accordingly.

The biochemical parameters measured were fasting plasma glucose(FPG), glycohemoglobin(HbA1c), serum lipid profile (including total cholesterol(TC), triglycerides(TG), low-density lipoprotein cholesterol(LDL-c), high-density lipoprotein cholesterol(HDL-c), and atherogenic index). Enzymatic methods were used for most lipid profile, while HbA1c was measured using cation-exchange resin to separate HbA1c from other types of HbA1 and measured by spectrophotometric method.

The different statistical tests used were unpaired Z-test, Chi square, ANOVA and Duncan test. The sensitivity and specificity were measured and compared with the two groups to find the p-value.

Significant differences were detected at $p<0.001$ in FPG, TC, TG, $p<0.01$ for HbA1c and PCR and $p<0.05$ for LDL.

Hyperlipidemia in most diabetic patients enrolled in this study was of hypertriglyceridemia. It gives an impression that it could be a possible cause for the development and progression of DR.

Most of the patients were in the poor glycemic control when HbA1c or FPG criteria were used separately, and a slight increase in the sensitivity was detected using both criteria.

Significant difference was detected at $p<0.05$ in PCR between the three groups (healthy, patients with and without DR) respectively depending on a cut-off value from our own reference range(12.8 mg/mmol). It was noticed that

94.7 % of patients with DR were in the proteinuric category, giving an impression of the importance of PCR to predict the development of DR.

Lipid profile in most of the patients with DR was in the high risk category regarding TC, TG, LDL-c with a significant difference between the two groups giving an idea about the importance of these factors in predicting the development of DR.

HbA1c test proved to be superior than the FPG for glycemic control assessment in diabetic patients in regards to the development or slowing of the progression of serious complications of diabetes. It is considered in most recent national studies as a gold standard to follow up diabetic patients compared to other tests.

There was a slight increase in the sensitivity of diabetics with DR when combining HbA1c and FPG, highlighting that HbA1c is a gold standard and FPG may be a complementary test sometimes.

In conclusion:

1. It is important to use HbA1c for the following up of glycemic control in diabetic patients, at least twice a year for good control patients and four times a year for poor control patients, taking into consideration patients at risk for development of diabetic complications and increasing frequency of HbA1c according to patients' requirements or to re-evaluate their treatment.
2. DR is one of the most important causes of visual loss in diabetic patients, and finding laboratory investigations to diagnose this disease during its early stages is an essential factor for clinical diagnosis by ophthalmologist. Regular periodic examination is considered one of the urgent requests in the present time and in the future there will be a rapid increase and worldwide distribution for DM and its acute and chronic complications which cause disability, morbidity and a percent of all mortalities.

This study recommends:

1. HbA1c should be used as the main biochemical marker for the follow up of the glycemic control in diabetic patients.
2. All diabetics should have an periodic ophthalmological examination the frequency of which should be increased according to the requests of the ophthalmologist.
3. Microalbuminuria, if available, is a necessary biochemical marker in these patients, otherwise PCR can be used as an alternative routine test to follow up patients with DR and to assess their renal function as well considering PCR as a good indicator for the development of microvascular complications.
4. Directing the patients to the importance of detailed serum lipid profile has to be according to the instructions of the diabetologist to increase or decrease the frequency of testing.

نسبة البروتين/الكرياتنين في الادرار وخضاب الدم المسكر كمؤشرات محتملة لاعتلال شبكية العين السكري

عمر أكرم جرجيس

رسالة مقدمة الى كلية الطب جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل
شهادة الماجستير علوم في
الكيمياء الحياتية السريرية

المشرف
أ.د. رعد يحيى الحمداني

1426 A.H. **2005 A.D.**

الخلاصة

اعتلال شبكية العين السكري من المضاعفات الشائعة في مرضى داء السكر، و أحد أهم أسباب فقدان البصر في الفئة العمرية العاملة ضمن المصابين بداء السكر.

أن وجود الفحوص البايوكيمياوية التي مكنت من التنبؤ بنشوء المرض أو قرب وقوعه سهل مهمة تشخيص المرض و تقديم العلاج (بالدواء أو بالليزر) في المراحل الاولى للمرض، وهي مهمة أسهل مما هي في المراحل المتقدمة أو الاخيرة للمرض .

تهدف هذه الدراسة الى امكانية ايجاد علاقة تربط بين الفحوص البايوكيمياوية و بين نشوء اعتلال شبكية العين السكري لتشخيص المرض في مراحله الأولية ، بالاضافة الى الفحص الدوري السريري لشبكية العين.

تم جمع عينات الدم في حالة الصوم من ١٥٠ شخص مصابا بداء السكر (٨٩ من الذكور ، و ٦١ من الاناث) ، تراوحت أعمارهم بين ١٣-٧٨ سنة (بمعدل ٤٩,٨٧ $\pm$ ١٠,٠ سنة) ، (١٣ سكريا من النوع الأول، و ١٣٧ سكريا من النوع الثاني).

تم اختيار المرضى من مركزين رئيسين لمرضى داء السكر في مدينة الموصل وهما عيادة الوفاء لمرضى السكر في مدينة الموصل الطبية و عيادة السكر في مستشفى السلام العام، للفترة من ١/تشرين الأول/٢٠٠٤ لغاية ٢٨/نيسان/٢٠٠٥ .

تم تقسيم المرضى ضمن مجموعتين، مجموعة المصابين باعتلال شبكية العين السكري و المجموعة الأخرى من غير المصابين بها ، تكونت كل منهما من ٧٥ مريضا . كان تشخيص أعتلال شبكية العين السكري بواسطة أخصائي العيون و باستخدام فحص الفتحة الضوئية (Slit lamp), عدسات خاصة وفحص العين الناظوري و كلهم حديثي التشخيص ولأول مرة.

قام الباحث بجمع عينة عشوائية من الأدرار من جميع المرضى أعلاه، بالأضافة الى ذلك فقد جمعت عينات عشوائية للأدرار لمائة شخص من الأصحاء غير المصابين بداء السكر أو ضغط الدم أو أمراض الكلية ، لأجل حساب القيمة المرجعية لنسبة البروتين/الكرياتنين في الأدرار في مدينة الموصل لأستخدامها لتقسيم المرضى الى مجاميع حسب هذه النسبة .

تضمنت فحوص الدم قياس سكر العنب في المصل في حالة الصوم ، خضاب الدم المسكّر ، الشحوم في الدم ممثلة بالكوليسترول الكلي ، الشحوم الثلاثية ، الكوليسترول في الشحوم البروتينية واطئة الكثافة ، و الكوليسترول في الشحوم البروتينية عالية الكثافة ، و حساب معامل تصلب الشرايين .

أستخدمت طرق التفاعل الأنزيمية في قياس معظم أجزاء الشحوم ، في حين تم قياس خضاب الدم المسكّر بأستخدام راتنج مشحون بالشوارد السالبة لفصل خضاب الدم المسكّر عن باقي أنواع خضاب الدم وقياسه بجهاز قياس الطيف .

بعد حساب نتائج الفحوصات تم استخدام معايير احصائية مختلفة مثل فحص Z غير المزدوج ، معامل الأنحدار ، مربع كاي و فحص أنوفا و دنكن ، و تم حساب الحساسية و الخصوصية للفحوصات أعلاه بعد المقارنة بين المجموعتين الرئيسيّتين ، و أيجاد مستوى المعنوية للتعرف على الفروق المعنوية بين المجموعتين.

لوحظ وجود فروقات أحصائية معتدة بأقل من ٠,٠٠١ في تركيز سكر العنب ، الكوليسترول الكلي ، الشحوم الثلاثية ، و بأقل من ٠,٠١ في تركيز خضاب الدم المسكّر ، و نسبة البروتين/الكرياتنين في الادرار ، و بأقل من ٠,٠٥ في تركيز الكوليسترول في الشحوم البروتينية واطئة الكثافة .

لوحظ أن تدسّم الدم عند أغلب المرضى من نوع زيادة في الشحوم الثلاثية ، مما يعطي انطباعا عن كونه أحد أسباب نشوء و تطور أعتلال شبكية العين السكري .

تبين وقوع أكثر المرضى ضمن السيطرة السيئة للسكر بالنسبة لسكر العنب و خضاب الدم المسكّر عند حسابهما منفصلين ، و عند حسابهما مجتمعين لوحظ زيادة طفيفة في الحساسية لتشخيص أعتلال شبكية العين السكري .

لوحظ وجود فروقات احصائية معتدة بأقل من ٠,٠٥ في تركيز البروتين/الكرياتنين في الادرار بين المجاميع الثلاثة (الأصحاء ، غير المصابين و المصابين بأعتلال شبكية العين السكّري) بالتتابع ، و عند أخذ الحد الفاصل المستحصل من مرضانا (٨،١٢ ملغ/مليمول) ، تبين وقوع ٧،٩٤ % من المصابين بأعتلال شبكية العين السكّري في مجموعة البيلة البروتينية ، مما يعطي انطباعا عن أهمية هذا الفحص في التنبؤ بوقوع أعتلال شبكية العين السكّري .

أمّا بالنسبة لفحوصات الشحوم فقد كان أغلبية المرضى المصابين بأعتلال شبكية العين السكّري ضمن مجموعة الخطورة العالية بالنسبة للكوليسترول الكلّي و الشحوم الثلاثية و الكوليسترول في الشحوم البروتينية واطئة الكثافة ، و وجود فرق معنوي بين المجموعتين ، مما يعطي انطباعا عن أهمية هذه العوامل في التنبؤ بنشوء أعتلال شبكية العين السكّري .أثبت فحص خضاب الدم المسكّر من نوع A1c تفوّقه على سكّر العنب في متابعة حالة السيطرة السكّرية في مرضى داء السكّر لتجنّب وقوع أو أبطاء تقدّم و تطوّر أختلاطات مرض داء السكّر الخطيرة ، و أعتباره كما في معظم الدراسات العالمية كفحص أساسي لمتابعة مرضى داء السكّر و تمييزه عن باقي الفحوصات ، مما يوضح أن فحص خضاب الدم المسكّر من نوع A1c هو فحص أساسي و أن فحص سكّر العنب قد يكون فحص مكمّل و مساعد في بعض الأحيان .

كان من أهم الأستنتاجات التي خلصت اليها هذه الدراسة هي :

١. أنّ من المهم أعتماد فحص خضاب الدم المسكّر من نوع A1c كفحص أساسي في متابعة مرضى السكّر ، بمعدّل مرتين/سنة للمرضى ذوي السيطرة الجيدة ، و أربع مرّات/سنة للمرضى ذوي السيطرة السيّئة ، مع مراعاة ظرف المرضى المعرضين للاصابة بأختلاطات داء السكّر ، و زيادة عدد مرّات الفحص حسب حاجة المريض أو لأعادة تقييم العلاج للمريض .
٢. أنّ مرض أعتلال شبكيّة العين السكّري أحد أهمّ أسباب فقدان البصر في مرضى داء السكّر ، و أيجاد فحوص لتشخيص هذا المرض في مراحله الأوّلية -كعامل مساعد للتشخيص السريري بواسطة فحص أخصّائي العيون الدوري - يعتبر من الأمور ذات الأهمية الملحّة في الوقت الحاضر ، و المستقبل حافل بالزيادة السريعة و الأنتشار العالمي لمرض السكّر و أختلاطاته الحادّة و المزمنة المسببة للأعتلال و المرض ونسبة من جميع حالات الوفاة .

توصي هذه الدراسة:

١. اعتماد فحص خضاب الدم المسكّر كفحص أساسي لمتابعة السيطرة السكريّة في مرضى داء السكّر .
٢. وجوب أداء فحص العين لجميع مرضى داء السكّر بشكل دوري ، و زيادة عدد مرات الفحص حسب توصية الطبيب .
٣. اعتماد فحص الزلال الدقيق في الادرار أن امكن توفيره لاجراء الفحص، و في حالة تعذر ذلك ، أبقاء فحص نسبة البروتين/الكرياتنين في الادرار كبديل جيد لمتابعة عمل الكلية و كمؤشّر جيّد لبدء أختلاطات الأوعية الدقيقة .
٤. توجيه المرضى الى أهمية فحص الشحوم بالدم المفصل حسب توجيهات أخصائي داء السكّر لزيادة أو نقصان عدد المرات اللازمة لاجراء هذا الفحص .