

Evaluation of serum & urinary tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in different stages of diabetic nephropathy

Thesis

*Submitted for partial fulfillment of M.D. Degree
In Internal Medicine*

By

Haitham Ezzat Abd El Aziz

M, B.B.Ch M. Sc. Internal Medicine - Ain Shams University

Supervised by

Professor Doctor. Hany Aly Refaat

Professor of Internal Medicine and Nephrology.

Ain Shams University.

Professor Doctor. Gamal El Sayed Mady

Professor of Internal Medicine and Nephrology.

Ain Shams University.

Professor Doctor. Mohammed Mahmoud Abd El Ghany

Professor of Internal Medicine and Nephrology.

Ain Shams University.

Professor Doctor. Khaled Husein Abou Seif

Professor of Internal Medicine and Nephrology.

Ain Shams University.

Doctor. Eman Saleh El Hadidi

Lecturer of Clinical Pathology.

Ain Shams University.

**Faculty of Medicine
Ain Shams University**

2006

Introduction

Diabetic Nephropathy (DN) is the single most common cause of end stage renal disease in many countries (*Caramori and Mauer, 2003*).

It accounts for more than 20% of the cases of chronic renal failure (*Buraczynska et al., 2004*).

The pathogenic mechanisms and molecular events involved in the development and progression of DN are not completely known (*Navarro et al., 2005*).

An interaction of metabolic & hemodynamic factors has been considered a traditional aspect involved in the development of renal lesions in patients with type 2 diabetes mellitus (*Navarro et al., 2003*).

Although many therapeutic interventions have postponed the development or slow the progression of diabetic nephropathy, however no intervention to date has been able to halt or reverse its progression .This reveals the complexity of the pathogenic process and mandates more investigations on the possible role of known pathogenic factors involved in the pathogenesis of other renal diseases including inflammatory cytokines (*Kambiz et al., 2003*).

Inflammation is a potential factor in the development and progression of DN, and recent data indicates that diabetes includes an inflammatory component that is related to diabetic complications (*Navarro et al., 2006*).

Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) is 157 amino acid peptide produced mainly by monocytes, macrophages, B & T Lymphocytes as well as glomerular mesangial cells (*Kambiz et al., 2003*).

TNF- α levels in urine is found and accused to play a role in some immune mediated glomerulonephritis (i.e. IgA nephropathy & Anti-Glomerular Basement Membrane Disease) (*Kambiz et al., 2003*).

However, studies about its role in diabetic nephropathy are scarce & mainly on experimental animals (*Navarro et al., 2003*).

Aim of the Work

- The aim is to evaluate levels of both serum & urinary TNF- α in different stages of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus.
- To correlate the findings with the stage of nephropathy as a prognostic marker for hopeful future treatment.
- Correlation with other parameters e.g. the degree of proteinuria, duration of diabetes and level of blood pressure will be evaluated.

Material and Methods

This study will be conducted in Ain Shams University Hospitals on 80 patients with type 2 diabetes mellitus & nephropathy as well as 15 healthy volunteers as a control group matched by age and sex.

Patients will be chosen & classified into 3 groups as following:-

1) Group I:-

- Will include twenty (20) diabetic patients with microalbuminuria and normal renal functions (Glomerular filtration rate more than 90 ml / min/1.73 m²).

2) Group II:-

- Will include thirty (30) patients with frank albuminuria as detected by Dipstick, with normal renal functions (Glomerular filtration rate more than 90 ml/ min/1.73 m²).

3) Group III:-

- Will include thirty (30) patients with frank albuminuria and lower Glomerular filtration rate (below 90 ml / min/1.73 m²).

Patients with current acute illness (including infections), cigarette smokers, immunologic or malignant diseases, morbid cardiovascular illness, and patients on angiotensin converting enzyme inhibitors and non-steroidal anti-inflammatory drugs will be excluded from the study.

All Patients will be subjected for:-

- 1) Complete history with stress on duration of diabetes and degree of control.
- 2) Complete physical examinations with stress on mean arterial blood pressure and estimation of Body Mass Index (BMI).
- 3) Routine investigations with stress on glomerular filtration rate measured by Modification of Diet in Renal Disease Abbreviated Equation (MDRD) [$GFR = 186 \times (S.Cr)^{-1.154} \times (age)^{-0.203} \times (0.742 \text{ if female}) \times (1.210 \text{ if African American})$], glycosylated hemoglobin (HbA1c), and degree of proteinuria measured by protein/creatinine in urine.
- 4) Pelvi-abdominal U/S.
- 5) Fundus oculi examination.
- 6) Estimation of serum & urinary TNF- α in all patients and control group.
- 7) Estimation of serum high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in all patients and control group.
- 8) Renal biopsy will be done when indicated to exclude non-diabetic aetiology.

9) Exclusion of other glomerulopathies will be done using appropriate tests needed per individual case including: ANA, Anti ds-DNA, ANCA, cryoglobulins and complement levels. Also tests for Hepatitis B and C and HIV will be done as indicated.

10) Correlation between serum as well as urinary TNF- α and serum hs-CRP will be done with the duration of diabetes, mean arterial blood pressure, HbA1c, degree of proteinuria, as well as creatinine clearance.

11) Results will be compared statistically between the three groups & control group.

References

1. **Buraczynska K, Koziol-Montewaka M, Majdun M et al. (2004):** Genetic determination of TNF and myeloperoxidase production in dialyzed patients with diabetic nephropathy. Ren Fail; Nov; 26:633-9.
2. **Caramori ML and Mauer M. (2003):** Diabetes & nephropathy. Cur. Opin. Nephrol. Hypertens. May, 12 (3): 273-282.
3. **Navarro JF, Carmen M, et al. (2003):** Inflammatory parameters are independently associated with urinary albumin in type 2 diabetes. American Journal of Kidney Diseases; 42:53-61.
4. **Kambiz K, Alaa S. Awad, and Helmy MS. (2003):** Urinary & renal interstitial concentrations of TNF- α increase prior to the rise in albuminuria in diabetic rats. Kidney International; 64:1208-1213.
5. **Navarro JF, Milena FJ, Mora C et al. (2005):** Tumor necrosis factor-alpha gene expression in diabetic nephropathy: relationship with urinary albumin excretion and effect of angiotensin-converting enzyme inhibition. Kidney Int Supp; Dec; 99:S98-102.
6. **Navarro JF, Mora C, Muros M et al. (2006):** Urinary tumor necrosis factor alpha excretion independently correlates with clinical markers of glomerular and tubulointerstitial injury in type 2 diabetic patients. Nephrol Dial Transplant; 21: 3428–3434.

**تقييم مستوى عامل نخرة الورم ألفا في مصل الدم و البول في مختلف مراحل مرض
اعتلال الكلية السكري**

رسالة
توطئة للحصول على درجة الدكتوراه
في أمراض الباطنة العامة

مقدمة من

الطبيب/هيثم عزات عبد العزيز
ماجستير أمراض الباطنة- جامعة عين شمس
تحت اشراف

الأستاذ الدكتور /جمال السيد ماضي
أستاذ أمراض الباطنة و الكلى
كلية الطب- جامعة عين شمس

الأستاذ الدكتور/هاني علي رفعت
أستاذ أمراض الباطنة و الكلى
كلية الطب- جامعة عين شمس

الأستاذ الدكتور /خالد حسين أبو سيف
أستاذ أمراض الباطنة و الكلى
كلية الطب- جامعة عين شمس

الأستاذ الدكتور /محمد محمود عبد الغني
أستاذ أمراض الباطنة و الكلى
كلية الطب- جامعة عين شمس

الدكتور/ايمان صالح الحديدي
مدرس الباثولوجيا الإكلينيكية
كلية الطب- جامعة عين شمس

كلية الطب
جامعة عين شمس
2006

المقدمة

يعتبر مرض اعتلال الكلى السكري من أكثر الأمراض المسببة للفشل الكلوي في كثير من البلاد. فهو يمثل أكثر من 20% من حالات الفشل الكلوي.

و تعتبر كيفية حدوث و تطور المرض الباثولوجية و الجزيئية غير معروفة كليا . و هناك تفاعل بين العوامل الأيضية و الديناميكية الدموية مسئولة عن حدوث الاعتلال الكلوي في مرضى الداء السكري من النوع الثاني.

و بالرغم من ان كثير من التدخلات العلاجية أبطأت تطور مرض اعتلال الكلى السكري، الا انه لا يوجد تدخل حالي يتمكن من توقيف او عكس تطور المرض، وهذا يدل على مدى تعقيد العملية الباثولوجية للمرض و الاحتياج الى فحوصات أكثر.

يعتبر الالتهاب عامل مسئول عن تطور مرض اعتلال الكلى السكري و هناك بيانات حديثة تشير الى وجود عامل التهابي مسئول عن مضاعفات الداء السكري.

يتكون عامل نخرة الورم ألفا من 157 حمض أميني و يتم انتاجه عن طريق خلايا الكرية الوحيدة، الخلايا البلعمية الكبيرة، الخلايا الليمفية من نوع ب و ت و كذلك من خلايا الكبيبات الكلوية. و يعتبر مستوى عامل نخرة الورم ألفا في البول مسئول عن حدوث بعض التهابات الكبيبات الكلوية المناعية، ولكن تعتبر الدراسات عن دوره في مرض اعتلال الكلى السكري قليلة و أكثرها على حيوانات التجارب.

الهدف من الدراسة

- تقييم مستوى عامل نخرة الورم ألفا في مختلف مراحل مرض اعتلال الكلى السكري في مرضى الداء السكري من النوع الثاني.
- ربط نتائج مستوى عامل نخرة الورم ألفا بمرحلة اعتلال الكلى و ذلك لاستخدامه كعامل تنبؤي للعلاج في المستقبل.
- ربط نتائج مستوى عامل نخرة الورم ألفا بعوامل أخرى مثل كمية الزلال في البول، مدة الإصابة بالداء السكري و مستوى ضغط الدم.

الحالات و الطرق

سوف تتضمن هذه الدراسة 80 مريض من مستشفيات عين شمس الجامعي مصابين بالداء

السكري من النوع الثاني و الاعتلال الكلوي بالاضافة الى 15 شخص سليم كمجموعة قياسية.

سيتم تقسيم المرضى الى ثلاث مجموعات كالتالي:

المجموعة الأولى:

سوف تشمل 20 مريض بالداء السكري مع وجود بول زلالي دقيق و وظائف كلى طبيعية (استخلاص الكرياتينين أكثر من 09مل/دقيقة/1.73 م²).

المجموعة الثانية:

سوف تشمل 30 مريض بالداء السكري مع وجود بول زلالي واضح و وظائف كلى طبيعية (استخلاص الكرياتينين أكثر من 90مل/دقيقة/1.73 م²).

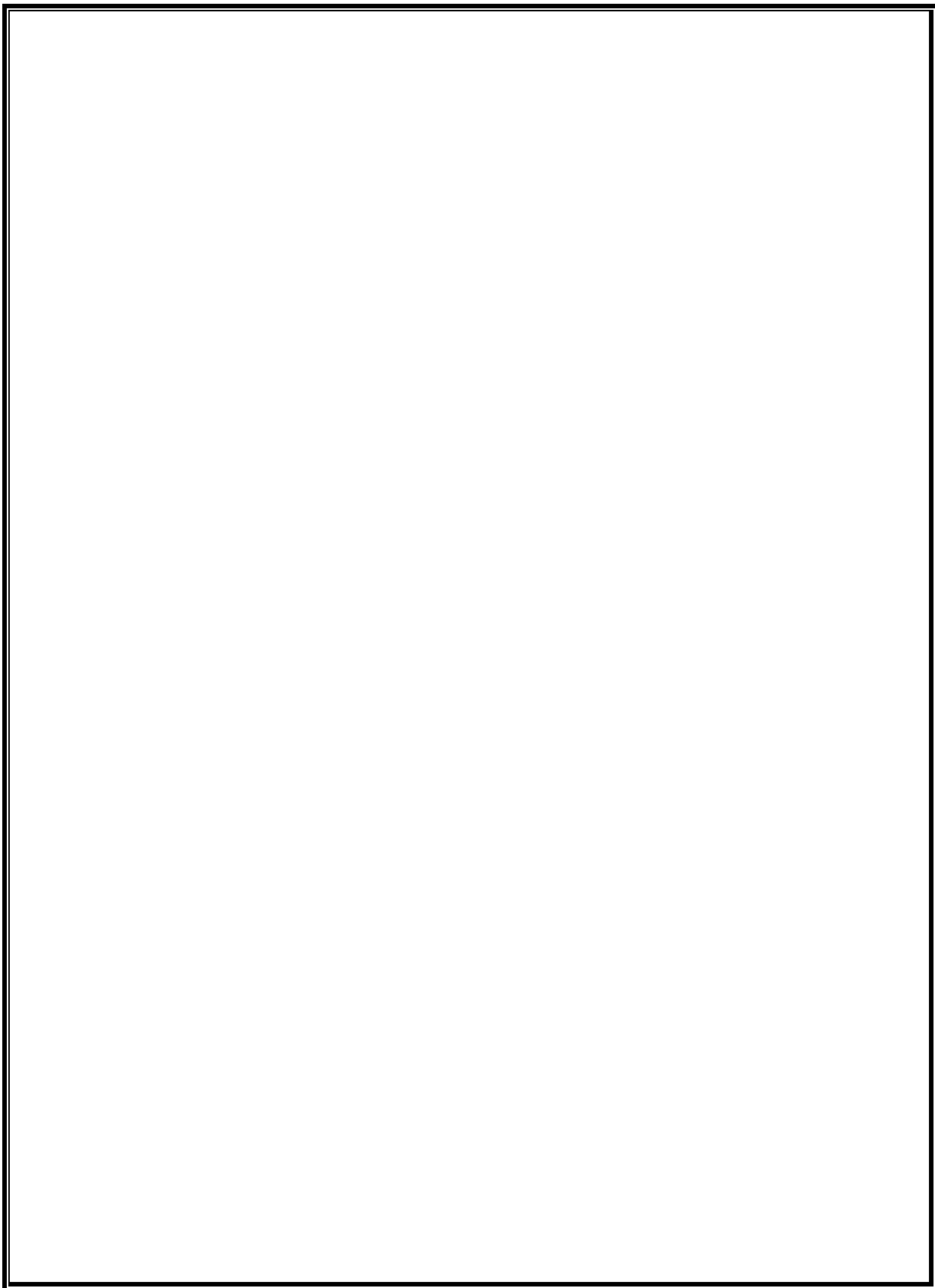
المجموعة الثالثة:

سوف تشمل 30 مريض بالداء السكري مع وجود بول زلالي واضح و قصور في وظائف الكلى (استخلاص الكرياتينين أقل من 90مل/دقيقة/1.73 م²).

سوف يتم استبعاد المرضى بأمراض حادة (شاملة العدوى)، المرضى المدخنين، المرضى المصابين بأمراض مناعية و أورام، مرضى القلب و المرضى الذين يتناولون أدوية مانع انزيم تحول الأنجيوتنسين، و المسكنات.

جميع المرضى سيخضعون للآتي:

1. التاريخ المرضي مع التركيز على مدة الإصابة بالداء السكري و مدى التحكم في المرض.
2. الفحص الاكلينيكي مع التركيز على ضغط الدم و مؤشر كتلة الجسم.
3. الأبحاث المعملية مع التركيز على استخلاص الكرياتينين، الهيموجلوبين السكري و معدل الزلال البولي.
4. موجات صوتية على البطن و الحوض.
5. فحص قاع العين.
6. قياس مستوى عامل نخرة الورم ألفا في مصل الدم و البول.
7. قياس مستوى البروتين التفاعلي الحساس في المصل.
8. عينة من الكلى عند اللزوم لتشخيص سبب قصور وظائف الكلى دون الاعتلال السكري.
9. استبعاد الأسباب الأخرى لالتهاب الكلى الكبيبي باستخدام الاختبارات المناسبة على حسب حالة كل مريض مثل دلالات الفيروسات الكبدية بي و سي والايذز، مضادات الحامض النووي.
10. ربط نتائج مستوى عامل نخرة الورم ألفا في مصل الدم و البول و مستوى البروتين التفاعلي الحساس في المصل بمدة الداء السكري، ضغط الدم، الهيموجلوبين السكري، معدل الزلال في البول و استخلاص الكرياتينين.
11. مقارنة النتائج احصائيا بين الثلاث مجموعات و المجموعة القياسية.



II

﴿ إِنَّمَا يَخْشَى اللَّهَ مِنْ عِبَادِهِ
الْعُلَمَاءُ ﴾

صدق الله العظيم
(فاطر : 28)