

**Thesis Title**      Levels of Urinary N-Acetyl- $\beta$ -D-Glucosaminidase  
                           and Microalbumin in Diabetic Patients

**Author**                Mrs. Kanokwan Mohprasit

**M.S.**                  Medical Technology

**Examining Committee :**

Associate Professor Nantaya Chanarat	Chairman
Associate Professor Dr. Maitree Suttajit	Member
Lecturer Prasit Chanarat	Member

**Abstract**

For early detection of diabetic nephropathy, methods for quantitative determination of urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) activity, microalbumin and serum fructosamine were developed. Principles of the methods were kinetic-enzymatic assay using CNP-NAG as substrate for NAG determination, dye (bromphenol blue, BPB) for microalbumin and nitroblue tetrazolium (NBT) reduction test for fructosamine. All tests were set for suitable parameters and performed on automated chemistry analyzer (Abbott CCx). HbA<sub>1C</sub> was performed using affinity column chromatography (Glyco-Tek Helena Laboratories).

Mean  $\pm$  standard deviation in 220 diabetics for NAG, MA and fructosamine were statistically higher than in 100 healthy individuals ( $25.33 \pm 10.83$  vs.  $18.06 \pm 4.78$  U/gm creatinine,  $2.78 \pm 4.65$  vs.  $1.44 \pm 0.51$  mg/gm creatinine and  $2.85 \pm 0.80$  vs.  $1.45 \pm 0.56$  mmol/L,

respectively,  $p < 0.05$ ). Cut-off levels for MA, NAG from receiver operating characteristic (ROC) curve were 3.48 mg/gm creatinine and 37.2 U/gm creatinine. Sensitivity, specificity, false positive and false negative predictive values for early detection of diabetic nephropathy at these cut-off levels were 94.1%, 93.1%, 6.4% and 0.5% by using MA alone, 75.0%, 90.7%, 86% and 1.8% by using NAG alone, and 100%, 98.3%, 1.4% and 0.0% when the two tests were used in combination. The positive predictive values at 5.0, 10.0, 15.0% prevalences were 72.5%, 87.5% and 89.8%, respectively while negative predictive values were 100%.

Correlation coefficient ( $r$ ) of MA and NAG with HbA<sub>1C</sub> were 0.156 and 0.391 ( $p < 0.05$ ) in patients without nephropathy and raised up to 0.49 and 0.45 ( $p < 0.05$ ) in patients with nephropathy. The  $r$  value between HbA<sub>1C</sub> and fructosamine was 0.700 ( $p < 0.05$ ).

In conclusion, urinary NAG activity and MA also with the glycemic control parameters could be useful for detection of early diabetic nephropathy which can not be detected by routine urinalysis and other renal function tests.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ระดับ N-Acetyl- $\beta$ -D-Glucosaminidase และไมโครอัลบูมิน ในปัสสาวะผู้ป่วยเบาหวาน
ชื่อผู้เขียน	นางกนกวรรณ เหมาะประสิทธิ์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต เทคนิคการแพทย์	

#### คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ :

รองศาสตราจารย์ นันทยา ชนะรัตน์	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. ไมตรี สุทธิจิตต์	กรรมการ
อาจารย์ ประสิทธิ์ ชนะรัตน์	กรรมการ

#### บทคัดย่อ

เพื่อบ่งชี้การเกิดพยาธิสภาพของไตระยะเริ่มแรกในผู้ป่วยเบาหวาน โดยวิทยานิพนธ์นี้ได้พัฒนาเทคนิควิธีการตรวจวัดระดับ N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) activity, ไมโครอัลบูมิน (Microalbumin, MA) ในปัสสาวะและการหาระดับ Fructosamine ในซีรัมด้วยหลักการ Kinetic-enzymatic assay โดยใช้ CNP-NAG เป็นสับสเตรทสำหรับ NAG, การใช้สี Bromphenol blue (BPB) สำหรับการตรวจวัดไมโครอัลบูมิน และ Nitroblue tetrazolium (NBT) reduction test สำหรับการตรวจวัด Fructosamine แต่ละการทดสอบได้ทำการตั้งโปรแกรมที่เหมาะสมสมสำหรับใช้กับเครื่องทดสอบอัตโนมัติ (Abbott CCx) สำหรับการตรวจวัดระดับ HbA<sub>1c</sub> ได้ใช้ Affinity column chromatography Glyco-Tek ของ Helena Laboratories

การศึกษาในกลุ่มคนปกติ 100 คน และผู้ป่วยเบาหวาน 220 คน ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับ NAG, MA and fructosamine ในผู้ป่วยมีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญคือ  $25.33 \pm 10.83$  vs.  $18.06 \pm 4.78$  U/gm creatinine,  $2.78 \pm 4.65$  vs.  $1.44 \pm 0.51$  mg/gm creatinine and  $2.85 \pm 0.80$  vs.  $1.45 \pm 0.56$  mmol/L, ตามลำดับ ( $p < 0.05$ ). จากการศึกษาโดยใช้ receiver operating characteristic (ROC) curve ได้ค่า cut-off สำหรับ MA และ NAG เป็น  $3.48$  mg/gm creatinine และ  $37.2$  U/gm creatinine ค่าความไว ความจำเพาะต่อการเกิดโรค ค่าการท่านายบวก และค่าการทำนายลบสำหรับบ่งชี้การตรวจพบโรค ได้ระยะเริ่มแรกในผู้ป่วยเบาหวาน (Diabetic nephropathy) ที่ค่า cut-off ตั้งกล่าวไว้เป็น  $94.1\%$ ,  $93.1\%$ ,  $6.4\%$  และ  $0.5\%$  เมื่อใช้การตรวจวัด MA อย่างเดียว,  $75.0\%$ ,  $90.7\%$ ,  $86\%$

และ 1.8% เมื่อใช้การตรวจวัด NAG อย่างเดียว และ 100%, 98.3%, 1.4% และ 0.0% เมื่อใช้ทั้งสองการทดสอบร่วมกัน ค่าการทำนายผลบวกที่ระดับความซูกของโรค 5.0, 10.0, 15.0% เป็น 72.5%, 87.5% และ 89.8% ตามลำดับ โดยที่ค่าการทำนายผลลบเท่ากับ 100%

ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation coefficient,  $r$ ) ระหว่าง MA และ NAG กับ HbA<sub>1c</sub> เท่ากับ 0.156 และ 0.391 ( $p < 0.05$ ) ในผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่มีโรคไต และเพิ่มเป็น 0.49 และ 0.45 ( $p < 0.05$ ) ในผู้ป่วยที่มีโรคไต โดยที่ค่า  $r$  ระหว่าง HbA<sub>1c</sub> กับ Fructosamine เท่ากับ 0.700 ( $p < 0.05$ )

โดยสรุป การตรวจระดับ NAG activity และ MA ในปัสสาวะร่วมกับการทดสอบเพื่อติดตามการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด สามารถเป็นตัวชี้วัดบ่งชี้การเกิดพยาธิ สภาพของโรคไตในระยะเริ่มแรกซึ่งยังไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยวิธีการตรวจปัสสาวะและการทดสอบสมรรถภาพไตประจำวันอื่นๆ