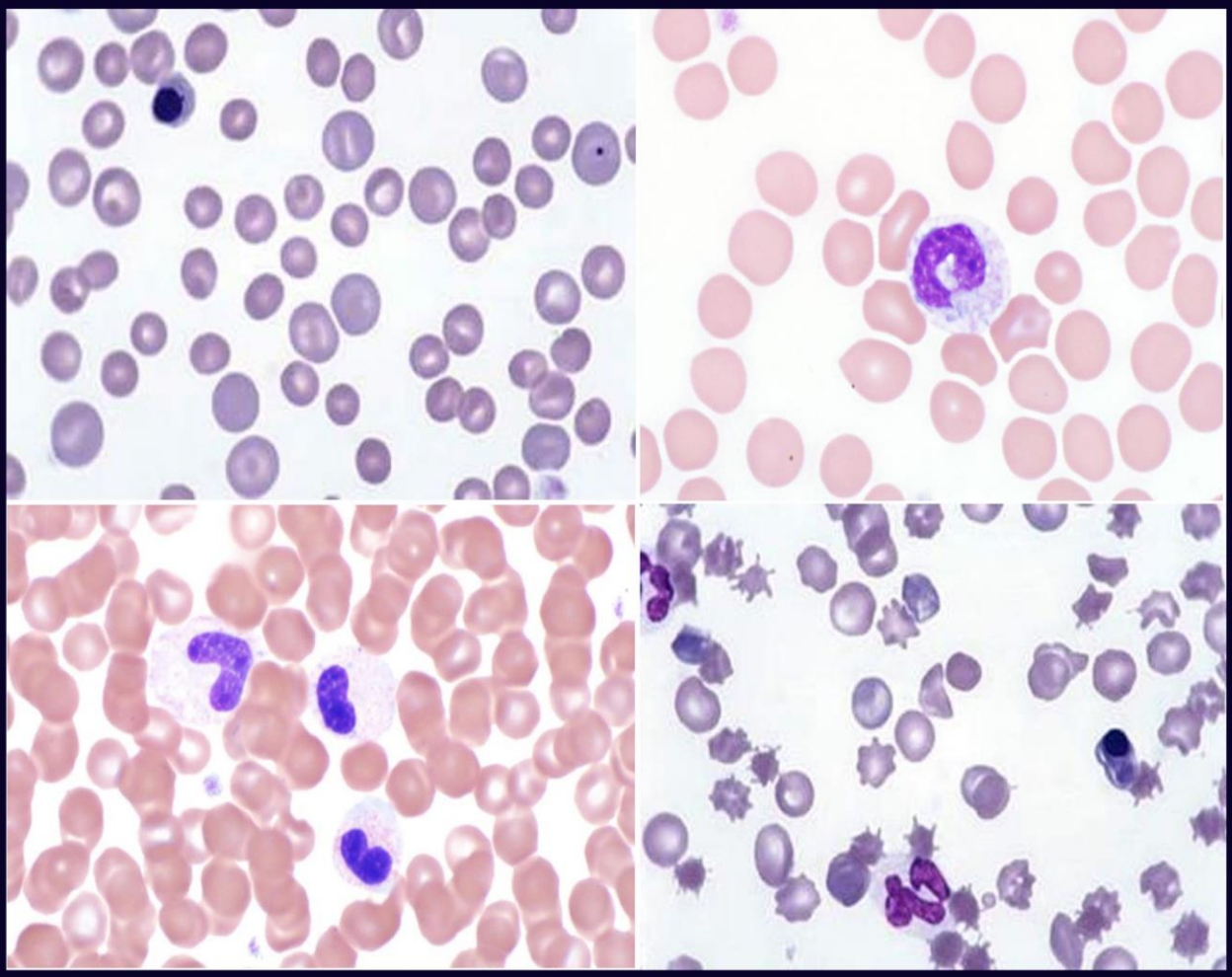
ISSN 2423-5695

التیام

نشریه علمی ترویجی

بیوشیمی بالینی در دام‌های کوچک

سردبیر مهمان
دکتر مهرداد مهری



دوره ۵. شماره ۱. ۱۳۹۷

به نام خدا

التیام

(نشریه علمی ترویجی انجمن جراحی دامپزشکی ایران)

با اعتبار علمی ترویجی به شماره ۸۴/۱۸/۸۰۵۵ مورخ ۱۳۹۳/۱۰/۲۵ از
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دوره ۵. شماره ۱. ۱۳۹۷

التیام

(بیوشیمی بالینی در دام‌های کوچک)

Print ISSN: 2423-5695

صاحب امتیاز: انجمن جراحی دامپزشکی ایران

سردبیر: دکتر احمدرضا محمدنیا

سردبیر مهمان: دکتر مهرداد مهری
(متخصص کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی، استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

مدیر داخلی: دکتر سمانه قاسمی
(متخصص جراحی دامپزشکی)

هیئت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا)

دکتر محسن احمدی نژاد (استادیار دانشگاه علمی کاربردی تهران)
دکتر محمدرضا امامی (دانشیار جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)
دکتر محمد مهدی دهقان (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)
دکتر سیامک زارعی (متخصص جراحی بخش خصوصی، تهران)
دکتر کامران سرداری (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)
دکتر محمد مهدی علومی (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنرکرمان)
دکتر علی قشقایی (استادیار جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی کرمانشاه)
دکتر احمدرضا محمدنیا (دانشیار جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)
دکتر مجید مسعودی فرد (دانشیار تصویربرداری تشخیصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)
دکتر ایرج نوروزیان (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)

آدرس دبیرخانه: خراسان رضوی - مشهد - بزرگراه آسیایی - روبروی بیمارستان رضوی - بیمارستان و پلی‌کلینیک تخصصی دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، کد پستی: ۹۱۸۷۱۹۵۷۸۶

تلفن: ۳۶۵۷۹۴۳۰- ۰۵۱ نمابر: ۳۶۵۷۹۴۳۰- ۰۵۱

وب‌سایت: www.eltiamjournal.ir

پست الکترونیکی: eltiam.ivsa@gmail.com

جمعیت‌های دامی به عنوان اصلی‌ترین حامی بقای بشر در طول زمان شناخته شده‌اند هر چند بشر در بسیاری از مقاطع همراهی لازم با این جمعیت ها را نداشته و به فراوانی موجبات آزار، حذف، از بین رفتن و حتی انقراض کامل آن‌ها را فراهم نموده است. از سوی دیگر پیشرفت علوم در شاخه‌های مختلف بر دوش جمعیت‌های حیوانی قرار گرفته و خوشبختانه امروزه در بسیاری از نقاط جهان این جمعیت‌ها از پیشرفت علوم خود نیز بهره‌مند می‌گردند.

جراحی دامپزشکی در کنار سایر علوم تلاش فراوانی برای همراهی و کمک به انواع زیستی نموده است که در این مسیر نیازمند دانش حداکثری در جنبه‌های نظری و عملی می‌باشد. علوم کنار جراحی که البته در نوع خود از علوم پایه و اصلی هستند همیشه کمک‌های ارزنده ای به رشد و توسعه جراحی نموده‌اند. ارزیابی و معاینات قبل از عمل برای جراحان ارزش بسیار بالایی دارد به گونه‌ای که در پاره‌ای از موارد این معاینات می‌تواند منجر به عدم انجام جراحی، اتخاذ تمهیدات ویژه برای جراحی و بیهوشی، اتخاذ تمهیداتی برای بعد از عمل، تلاش در جهت پایدار نمودن هر چه بیشتر دام و بسیاری از اقدامات دیگر گردد. از جمله ارزشمندترین این معاینات بدون تردید آزمون‌های آزمایشگاهی یا به تعبیر گویاتر کلینیکال پاتولوژی می‌باشد. اندام‌های گرفتار می‌توانند تغییرات خود را به شکل کالبد شناختی بروز دهند که یکی از انواع ارزیابی این شکل از تغییرات در شماره قبلی مجله التیام در آموزش و به روزآوری اطلاعات در زمینه تصویربرداری تشخیصی منتشر شد و باعث افتخار است که در این شماره نتایج این تغییرات که بیشتر تغییردر فرآورده‌های ارگان‌ها حاصل از عملکرد بد یا متابولیسم نادرست است در اختیار علاقه‌مندان قرار گیرد. شاخه‌های علوم امروزه فاصله چندانی از یکدیگر ندارند و هر شاخه ضمن زیبایی‌های خاص خود تکمیل کننده شاخه‌های دیگر علوم است و این رخداد در ضرورت استفاده از آزمون‌های کلینیکال پاتولوژی قبل از انجام هر نوع جراحی کاملا احساس می‌گردد. دانستن اولیه‌ترین شاخص های کلینیکال پاتولوژی مثلا شمارش سلول‌های خونی یا هموگلوبولین و ..... حتما می‌تواند منجر به بهره‌گیری از تمهیدات ارزنده‌ای شود که حاصل آن انجام جراحی بدون حاشیه، بیهوشی و بازگشت بدون حاشیه و التیام و بازگشت به زندگی بسیار بهتر می‌گردد.

برخود لازم می‌دانم که از زحمات آقای دکتر مهری و گروهی که با ایشان در آماده سازی این شماره از مجله همراهی کرده‌اند صمیمانه سپاسگزاری نمایم. باشد تا با تلاش جمعی شاهد به روزآوری هرچه بیشتر علوم در شاخه‌های مختلف از جمله جراحی دامپزشکی باشیم.

دکتر احمدرضا محمدنیا

دانشیار جراحی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

سردبیر نشریه التیام

فهرست مطالب

سخن سردبیر	۳
تشخیص آزمایشگاهی بیماری‌های کبد در دام‌های کوچک (صبا احمدی، مرتضی حسن آبادی، مهرداد مهری)	۴
تشخیص آزمایشگاهی بیماری‌های کلیه در دام‌های کوچک (مرتضی حسن آبادی، صبا احمدی، مهرداد مهری)	۱۴
یافته‌های آزمایشگاهی پانکراتیت حاد در سگ و گربه (نیلوفر عابدی، مهدیه زعیمی)	۲۴
دیابت ملیتوس: تشخیص و یافته‌های آزمایشگاهی در سگ و گربه (مهسا مهتدی، محمد حیدرپور)	۳۴
غده تیروئید: بیماری‌ها و روش‌های تشخیص آزمایشگاهی در دام کوچک (مائده قاری، نیلوفر عابدی، محمد حیدرپور)	۵۱
غدد آدرنال، بیماری‌های و روش‌های تشخیص آزمایشگاهی در دام کوچک (ثمین مدرسه قهفرخی، محمد حیدرپور)	۶۶
بیومارکرهای تشخیص آسیب عضلات اسکلتی و میوکارد در دام‌های کوچک (مائده قاری، مهدیه زعیمی)	۸۶
تشخیص آزمایشگاهی اختلالات مرتبط با متابولیسم آهن در سگ و گربه (معصومه معصومه ورکی، مهدیه زعیمی)	۹۴

هنگامی‌که در اواخر دهه شصت مشغول گذراندن واحدهای کارورزی در بخش‌های مختلف درمانگاه‌های دام‌های بزرگ و دام‌های کوچک دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران بودم آزمایش CBC آن هم به ساده‌ترین شکل تقریبا تنها آزمایش رایج کلینیکال پاتولوژی در جهت کمک به تشخیص بیماری‌ها بود. به خوبی در خاطر دارم که همین آزمایش نیز محدود به اندازه‌گیری هماتوکریت، پروتئین تام، فیبرینوژن و شمارش تعداد تام گلبول‌های سفید و بررسی گسترش‌های خونی رنگ شده بود. انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی به ندرت و به روش‌های دستی صورت می‌گرفت. دامپزشکی در آن دوران عمدتا محدود به طب دام‌های بزرگ و طیور بود و به واسطه شرایط اجتماعی، سیاسی و فرهنگی طب دام‌های کوچک از محبوبیت و گسترش چندانی برخوردار نبود. بسیاری از ما به عنوان دامپزشک واحدهای درسی بیوشیمی بالینی و هماتولوژی بالینی را گذرانده بودیم اما استفاده بالینی چندانی از آن‌ها به واسطه نبود آزمایشگاه‌های تخصصی دامپزشکی صورت نمی‌گرفت.

اکنون بعد از گذشت حدود سی سال شرایط بسیار متفاوت است. درمانگاه‌ها و بیمارستان‌های دامپزشکی در سرتاسر کشور گسترش یافته و طب دام‌های کوچک به واسطه اقبال عمومی به نگهداری از حیوانات خانگی توسعه بسیاری یافته است، به طوری‌که امکانات تشخیصی و درمانی در بخش خصوصی فراهم شده که حتی در بعضی موارد دانشکده‌های دامپزشکی قادر به رقابت با آن‌ها نمی‌باشند. قطعا تشخیص دقیق بسیاری از بیماری‌ها نیازمند استفاده از روش‌های مختلف پاراکلینیک می‌باشد و این امر منجر به توسعه خدمات پاراکلینیک در سطوح تخصصی شده که نتایج آن در اختیار دامپزشکان جهت تشخیص بیماری‌ها، پیگیری روش‌های درمانی و پیش آگهی قرار می‌گیرد.

مسلم است که تفسیر دقیق این نتایج نقش مهمی در تشخیص، درمان و پیش آگهی بیماری‌ها دارد. آموزش دقیق و سپس بازآموزی مناسب با توجه به پیشرفت‌های روز افزون نقش مهمی در به روز نگه داشتن توانایی‌های حرفه‌ای دامپزشکان دارد. در این مجموعه سعی شده است ضمن یادآوری مطالب رایج در بیوشیمی بالینی دام‌های کوچک مطالب جدید و کاربردی نیز به اطلاع خوانندگان رسانده شود. امیدوارم نویسندگان در این مهم به این هدف نائل شده باشند.در پایان از کلیه همکاران عزیز که در خواست اینجانب را جهت تدوین مقالات این شماره از نشریه التیام پذیرفتند کمال تشکر را دارم.

دکتر مهرداد مهری

استاد بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

التیام، دوره ۵، شماره ۱: ۱۳-۴، ۱۳۹۷ Eltiam, 5 (1): 4-13, 2018

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

تشخیص آزمایشگاهی بیماری‌های کبد در دام‌های کوچک

صبا احمدی[1*]، مرتضی حسن آبادی[1]، دکتر مهرداد مهری[2]

۱. رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استاد کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

*sa.ahmadi@mail.um.ac.ir

چکیده

امروزه تشخیص دقیق بیماری‌های کبدی نیازمند به کارگیری روش‌های مختلف تشخیصی و پاراکلینیکی است. از گذشته تشخیص دقیق بیماری‌های کبدی چالشی جدی در طب انسان و حیوان بوده است. روش‌های بیوشیمی بالینی به عنوان بخش مهمی از روش‌های تشخیصی بیماری‌های کبدی مطرح است. ارزیابی عملکرد کبد از طریق اندازه‌گیری متغیرهای مرتبط با فعالیت ترشحی کبد، اعمال متابولیسمی و اندازه‌گیری فعالیت‌های آنزیم‌های کبدی صورت می‌گیرد. متاسفانه به علت ظرفیت کارکردی بالای کبد نشانه‌های مرتبط با با بیماری‌های کبدی زمانی ظاهر می‌شود که بخش عمده‌ای از بافت کبد آسیب دیده باشد. لذا به کارگیری روش‌های آزمایشگاهی حساس و در عین حال اختصاصی می‌تواند کمک شایانی در تشخیص به هنگام بیماری‌های کبدی داشته باشد. در حال حاضر تقریبا هیچ یک از آزمایش‌های موجود از ویژگی‌های یاد شده برخوردار نیستند. به نظر می‌رسد استفاده از سایر روش‌های تشخیصی اعم از سونوگرافی، سیتولوژی و ... رویکرد مناسبی در جهت تشخیص بیماری‌های کبدی باشد. مقاله حاضر تلاشی در جهت به کارگیری صحیح آزمایش‌های عملکردی کبد در تشخیص بیماری‌های کبد است.

واژه‌های کلیدی: : کبد، تشخیص آزمایشگاهی، آنزیم، زردی

مقدمه

عملکرد کبد شامل گستره وسیعی از اعمال زیستی ضروری برای حیات است. این اعمال شامل متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها، هورمون‌ها و ویتامین‌ها، سم‌زدایی و ترشح مواد زائد و سایر مواد سمی، هضم (به ویژه چربی‌ها) و تولید اغلب فاکتورهای انعقادی است. کبد دارای سیستم عروقی وسیعی می‌باشد و نه تنها خون سرخرگ کبدی، بلکه خون سیاهرگ پورتال را هم دریافت می‌کند. در حقیقت غالبیت خون دریافتی کبد (۷۰٪ تا ۷۵٪) از طریق جریان خون پورتال است و ظرفیت کبد برای پاک‌سازی بسیاری از مواد از جریان خون پورتال بر سایر وظایف کبد اولویت دارد. به دلیل وظایف قابل توجه کبد هر گونه اختلال در عملکرد آن می‌تواند منجر به نتایج آزمایشگاهی غیر طبیعی گسترده‌ای شود.

شاخص‌های آسیب هپاتوسیت‌ها

آنزیم‌ها در دو گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شوند که شامل آنزیم‌های نشتی (آلانین آمینوترانسفراز [ALT] و آسپارتات آمینوترانسفراز [AST]) است که نشان دهنده آسیب هپاتوسیت‌هاست و آنزیم‌های القایی (آلکالین فسفاتاز [ALP] و گاماگلوتامیل ترانسفراز [GGT]) که با افزایش تولید در هنگام القای آنزیمی همراه هستند.

آلانین آمینوترانسفراز: آلانین آمینوترانسفراز (ALT) که در گذشته به آن گلوتامیک پیرووِیکترانس‌آمیناز (GPT) می‌گفتند جز آنزیم‌های نشتی است که در سیتوزول سلول‌های کبدی به فراوانی حضور دارد. در سگ و گربه بیشترین غلظت ALT در هپاتوسیت‌های اطراف ناحیه پورتال است و بنابراین جز موارد مورد ارزیابی در پانل بیوشیمیایی این گونه‌هاست. این آنزیم اختصاصی کبد نیست. گلبول‌های قرمز و عضلات دارای مقادیر اندک آنزیم ALT هستند و آسیب به هر کدام از آن‌ها می‌تواند سبب افزایش جزئی فعالیت ALT سرم شود (دو الی سه برابر حد نرمال). به عنوان مثال آسیب‌های تحت کشنده و نکروز عضلات سبب افزایش مقادیر ALT سرم خواهد شد. فعالیت ایزوآنزیم عضلانی کمتر از ایزوآنزیم کبدی است (فعالیت ALT در عضلات اسکلتی و عضلات قلبی به ترتیب ۵ ٪ و ۲۵ ٪ فعالیت ALT کبدی است). با این وجود چون عضلات دارای حجم قابل توجهی در مقایسه با حجم کبد هستند لذا عضلات هم می‌توانند منبع قابل توجه نشت ALT به خون باشند. در صورت افزایش ALT اندازه‌گیری سایر آنزیم‌های سرم از جمله AST و کراتین کیناز (CK) که مختص آسیب‌های عضلانی است جهت تفکیک علت افزایش کمک کننده خواهد بود.

در سگ و گربه طیف وسیعی از بیماری‌ها می‌توانند سبب افزایش ALT سرم شوند (جدول‌های ۱ و ۲). هیپوکسی، تغییرات متابولیک که منجر به تجمع لیپیدها در هپاتوسیت‌ها می‌شوند، توکسین‌های باکتری‌ها، التهاب، نئوپلازی‌های کبد و داروها از جمله داروهای ضد تشنج و کورتون‌ها و مواد شیمیایی توکسیک می‌توانند با آسیب به هپاتوسیت‌ها سبب نشت آنزیمی شوند. افزایش فعالیت سرمی ALT متناسب با تعداد سلول‌های آسیب دیده است اما نمی‌توان به وسیله آن به علت آسیب پی برد. میزان ALT در اثر یک آسیب حاد پس از یک یا دو روز افزایش می‌یابد اما روند افزایش در بیماری‌های انسدادی به کندی صورت می‌گیرد. اگر آسیب پیشرونده نباشد فعالیت ALT در طی چند هفته کاهش می‌یابد. افزایش مقادیر ALT در طی بهبودی ناشی از آسیب‌های کبدی هم رخ می‌دهد. علت عدم بازگشت سطح آنزیمی به مقادیر طبیعی نیمه عمر بالای آن است که در سگ حدود ۱۷ تا ۶۰ ساعت و در گربه ۳ تا ۵ ساعت است. افزایش مقادیر ALT در آسیب‌های مزمن کبدی متغیر است و حتی ممکن است در محدوده نرمال باشد. کاهش میزان ALT سرم در بیماری‌های مزمن کبدی پیش‌آگهی نامطلوب دارد و نشان دهنده کاهش تعداد هپاتوسیت‌هاست، در صورتی‌که یک کاهش آهسته اما ثابت در میزان ALT در بیماری های حاد کبدی معمولا پیش‌آگهی مطلوب دارد.

آسپارتات آمینوترانسفراز: آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) که به آن گلوتامیک اگزالواستات (GOT) می‌گفتند در مقادیر قابل توجهی در ناحیه پری‌آسینار کبد وجود دارد. اندازه‌گیری AST به عنوان شاخص آسیب کبدی هیچ ارجحیتی نسبت به اندازه‌گیری ALT ندارد اما بعضی معتقدند با توجه به این‌که این آنزیم در میتوکندری سلول‌هاست بنابراین آزاد شدن آن مستلزم آسیب شدیدتر سلولی است. آزاد شدن آن در سرم در مقایسه با ALT اغلب با تاخیر همراه است اما با توجه به نیمه عمر کوتاه‌تر آن که در سگ حدود ۴ تا ۱۲ ساعت و در گربه حدود ۷۷ دقیقه می‌باشد خیلی سریع‌تر از ALT به مقادیر پایه برمی‌گردد. AST همچنین در مقادیر چشمگیری در سایر بافت‌ها اعم از عضلات، گلبول‌های قرمز، مغز، کلیه و قلب وجود دارد. مهم‌ترین علل افزایش AST آسیب‌های کبدی، آسیب‌های عضلانی (التهاب یا نکروز) و همولیز وداروهایی نظیر کورتیواستروئیدها و داروهای ضد تشنج نظیر فنوباربیتال است. افزایش توام مقادیر ALT و AST سرم مبین این است که افزایش AST ناشی آسیب کبدی است. اگرچه افزایش آن به نسبت ALT از ویژگی کمتری نسبت به آسیب‌های کبدی برخوردار است اما در گربه و سگ جهت تشخیص بعضی از

بیماری‌های کبدی حساسیت بالایی دارد. به عنوان مثال در گربه‌های مبتلا به لیپیدوز کبدی ۸۹٪ موارد ابتلا با افزایش مقادیر AST همراه هستند در حالی‌که افزایش مقادیر ALT تنها در ۷۲٪ موارد رخ می‌دهد.

علل غیرکبدی افزایش آنزیم‌های نشتی کبد (ALT و AST)	
التهاب	پیومتر
پانکراتیت	بیماری‌های اندوکرین
التهاب روده	کم‌کاری و پرکاری تیروئید
التهاب عضلانی	پرکاری آدرنال
عفونت	دیابت ملیتوس
عفونت مجاری ادراری	داروها
اندوکاردیت	کورتیکواستروئیدها در سگ
پنومونی	داروهای ضد صرع
پریتونیت سپتیک	همولیز

جدول ۱. علل غیرکبدی افزایش آنزیم‌های نشتی کبد

علل بالقوه افزایش فعالیت سرمی ALT و AST
نکروز یا آسیب هپاتوسیت‌ها: سیروز، آسیب‌های کبدی ناشی از کورتیکواستروئیدها (درون‌زاد یا برون‌زاد)، مسمومیت دارویی/واکنش‌های فردی (استامینوفن، داروهای بیهوشی، ترکیبات دارای آرسنیک، کارپروفن، دیازپام، اگزازپام، گریزئوفولوین، ایتراکونازول، کتوکونازول، لوموستین، فنوباربیتال، فنیتوئین، پریمیدون، مبندازول، متیمازول، اکسیبندازول، دی‌اتیل‌کاربامازین، تتراسایکلین، تری‌متوپریم-سولفادیازین)، کمبود اکسیژن (نارسایی قلبی، احتقان کبدی، کم خونی)، کم‌کاری تیروئید (گربه سانان)، مسمومیت (آفلاتوکسین، قارچ آمانیتا، جلبک‌های سبزآبی، مس، آفت کش‌ها، آهن، مس، زایلیتول)
بیماری‌های التهابی(هپاتیت، کلانژیوهپاتیت)
عوامل عفونی: عفونت‌های باکتریای روده‌ای بالا رونده، پریتونیت ویروسی عفونی گربه‌سانان، ترماتودهای کبدی، هیستوپلاسموزیس، لپتوسپیروزیس
عوامل غیرعفونی: آسیب‌های کبدی ناشی از مس (نژادهای بدلینگتون تریر، دالمشن، دوبرمن پینچر، لابرادور رتریور)، هپاتیت مزمن با علل نامشخص
شانت پورتوسیستمیک
نئوپلازی
ضربه
آسیب و نکروزهای سلول‌های عضلانی: دیستروفی عضلانی گوشتخواران، ایسکمی، التهاب عضلانی

جدول ۲. علل بالقوه افزایش فعالیت سرمی ALT و AST

شاخص‌های انسداد مجاری صفراوی (کلستاتیک)

آلکالین فسفاتاز: آلکالین فسفاتاز (ALP) یک آنزیم القایی است که به غشای سلولی متصل است و توسط بافت‌های مختلفی از جمله کبد، روده، کلیه، استخوان وجفت سنتز می‌شود. بیشترین میزان ALP سرم منشا کبدی دارد. ایزوفرم جفتی فقط در حیوانات آبستن است، فرم روده‌ای در سطح پرزدار روده است و قسمت اعظم آن به داخل لومن روده ترشح می‌شود. به طور مشابه ایزوفرم کلیوی داخل ادرار ترشح می‌شود و افزایش ALP ادرار شاخص بسیار خوبی برای آسیب‌های کلیوی است. میزان ایزوآنزیم استخوانی در حیوانات جوان در حال رشد و همچنین بیماری‌های استخوانی بالا خواهد بود. نیمه عمر ایزوفرم‌های جفتی، روده‌ای و کلیوی در سگ حدود ۶ دقیقه و نیمه عمر ایزوفرم روده‌ای در گربه تنها حدود ۲ دقیقه است، بنابراین این ایزوفرم‌ها نمی‌توانند علت افزایش آنزیمی سرم باشند. نیمه عمر سرمی ALP کبدی در سگ حدود ۷۰ ساعت و در گربه حدود ۶ ساعت است. به علت وجود این ویژگی تنها ALP کبدی و استخوانی در گربه و سگ و ایزوآنزیم القایی توسط کورتیکواستروئیدها در سگ سبب افزایش چشمگیری در فعالیت سرمی این آنزیم می‌شود. فعالیت سرمی افزایش یافته ALP می‌تواند شاخص بیماری اولیه کبد و مجاری صفراوی از جمله انسداد مجاری صفراوی و نکروز سلول‌های مجاری صفراوی باشد. ایزوآنزیم کبدی متصل به غشای سلول‌های کبدی پس از آزادسازی، به وسیله فسفولیپاز افزایش یافته ناشی از انسداد مجاری صفراوی به فرم محلول تبدیل می‌شوند. فعالیت ALP سرم اغلب در بیماران مبتلا به انسداد مجاری صفراوی به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (جدول‌های ۳ و ۴). تصور می‌شود ALP حساسیتی معادل ۸۵٪ در بیماری‌های انسدادی کبد دارد. نیمه عمر پایین در گربه‌ها سبب می‌شود افزایش مقادیر آنزیمی ALP در مقایسه با سگ‌ها بسیار کمتر باشد و بنابراین ALP شاخص حساسی از کلستاز در این گونه نیست. فعالیت سرمی افزایش یافته ALP نمی‌تواند بین کلستازهای داخل و خارج کبدی تمایز قائل شود. افزایش ALP به دنبال آسیب کبدی در مقایسه با

افـزایش شـاخص‌های آسـیب هپاتوسـیت‌ها (ALT و AST) بـا تاخیر صـورت می‌گیـرد. علـت آن ایـن اسـت کـه سـاخت و آزادسازی این آنزیم به جریان خون بـه زمـان بیشـتری نیـاز دارد.

داروهای رایج افزایش دهنده ALP	
آزاتیوپرین	متوترکسیت
باربیتورات‌ها	نیتروفوران
سفالوسپورین‌ها	اگزاسیلین
سیکلوفسفامایید	فنوباربیتال
داکسی‌سایکلین	پریمیدون
استروژن‌ها	پروژسترون
گلوکورتیوئیدها	سالیسیلات‌ها
گریزئوفولوین	تستسترون
هالوتان	تتراسایکیلن
ایبوپروفن	تیابندازول
متیمازول در گربه‌ها	داروهایی با پایه تریمتوپریم-سولفامتوکسازول

جدول ۳. داروهای رایج افزایش دهنده ALP

بیماری‌های رایج افزایش دهنده ALP
بیماری‌های اولیه مجاری صفراوی (سگ و گربه): کلانژیت، پانکراتیت، نئوپلازی مجاری صفراوی، پارگی مجاری صفراوی، سنگ‌های مجاری صفراوی
بیماری‌های پارانشیمی در سگ: کلانژیوهپاتیت (عفونی یا با واسطه ایمنی)، هپاتیت مزمن فعال، سیروز کبدی، نئوپلازی، لنفوما، هپاتوما، کارسینومای سلول‌های کبدی، همانژیوسارکوما، سارکومای هیستیوسیتیک، کارسینومای متاستاز دهنده (ثانویه به انسداد مجاری صفراوی)، سموم
بیماری‌های پارانشیمی در گربه: کلانژیوهپاتیت (سپتیک یا با واسطه سیستم ایمنی)، لیپیدوز کبدی، نئوپلازی (لنفوما، تومورماست‌سل‌ها)، پریتونیت عفونی گربه‌سانان، سموم
بیماری‌های سیستمیک در سگ: پرکاری آدرنال، دیابت ملیتوس، کلستاز همراه با عفونت، بیماری‌های ناشی از کنه مثل ارلشیوز، استئومیلیت، استئوسارکما، گیر کردن کبد در موارد فتق‌های دیافراگمی، نارسایی قلب راست، هیپرپاراتیروئیدیسم اولیه و ثانویه، ترمیم شکستگی‌ها
بیماری‌های سیستمیک در گربه: پرکاری تیروئید، دیابت ملیتوس

جدول ۴. بیماری‌های رایج افزایش دهنده ALP

گامـا گلوتامیـل ترانسـفراز: بـاوربر ایـن اسـت کـه گاماگلوتامیل‌ترانسفراز (GGT) جـز آنزیم‌هـای القـایی اسـت. بیماری‌های حاد کبـدی می‌تواننـد سـبب افـزایش سـریع در فعالیـت سـرمی GGT شـوند کـه احتمـالا بـه علـت آسـیب غشاهایی است که آنزیم به آن‌هـا متصـل شـده اسـت. اغلـب بافت‌های بدن GTT را سنتز می‌کنند اما قسمت عمـده آن در کلیه و پـانکراس سـنتز می‌شـود. ایـن آنـزیم بـا غلظت‌هـای پایین‌تر درهپاتوسیت‌ها و بافت پوششـی مجـاری صـفراوی و مخـاط روده و بـا غلظت‌هـای بـالاتر در غـدد پسـتانی گـاو و گوسفند وسگ ساخته می‌شود.آزاد شدن GGT از سـلول‌های پوششی کلیه سبب افزایش مقادیر آن در ادرار می‌شـود ولـی در سطح سرمی ایـن آنـزیم بی‌تـاثیر اسـت. بـه طـور مشـابه سلول‌های پانکراس GGT را به داخل مجـاری پانکراسـی آزاد می‌کننـد. افـزایش تولیـد و فعالیـت سـرمی آنـزیم در مـوارد کلستاز و هیپرپلازی مجاری صفراوی رخ می‌دهد. در سـگ‌ها افزایش مقادیر GGT در اثـر القـای دارویـی نیـز رخ می‌دهـد. جهت شناسایی بیماری‌های کبدی این آنزیم دارای ویژگی بالا اما حساسیت پایینی نسبت به آنزیم ALP است (جز در مورد لیپیدور کبدی در گربه). در گربه‌های مبتلا به لیپیدوز کبدی سطح فعالیت ALP در مقایسه با GGT بیشـتر اسـت. افـزایش فعالیـت GGT در سـگ‌هایی کـه کورتیکواسـتروئید دریافـت کرده‌اند دیده می‌شود اما هنوز مشخص نیسـت ایـن افـزایش ناشی از افزایش تولید GGT است یا به صورت ثانویه به علـت آسیب‌های کبدی ناشی از این داروهاست. به طور مشابه القای آنزیمی در سگ‌هایی که داروهای ضد تشنج دریافت می‌کننـد مشاهده می‌شود. در توله سگ‌ها افزایش مشـخص در مقـادیر GGT (۱۰۰ برابر مقادیر بالغین) به دنبال مصرف آغوز اتفاق می‌افتـد کـه بسـیار سـریع طـی ده روز بـه محـدوده بـالغین برمی‌گردد.

سایر آنزیم‌های سرم: در بسـیاری از مـوارد ALT و AST تنهـا شاخص‌های آنزیمی برای ارزیابی هپاتوسیت‌ها هستند. با ایـن وجـود تعـدادی شـاخص دیگـر از جملـه آرژینـاز، گلوتامـات دهیدروژناز (GLDH)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، سوکسینات دهیدروژناز (SDH) و اورنیتـین کربامویـل ترانسـفراز (OCT) وجود دارد. اندازه‌گیری این آنزیم‌ها ارزش تشخیصی چنـدانی

ندارد. بعضی مثل LDH با توجه به اینکه در اکثر نقاط بدن تولید می‌شود چندان کمک کننده نیست ولی آرژیناز و SDH می‌توانند مفید باشند. با توجه به این‌که این آنزیم‌ها در میتوکندری حضور دارند نشت آن‌ها در طی بهبودی متوقف می‌شود، بنابراین افزایش ثابت آن‌ها پیش‌آگهی نامطلوب دارد. تست‌های ارزیابی کننده فعالیت کبد شامل اندازه‌گیری غلظت سرمی موادی است که در حالت طبیعی به وسیله کبد پاک‌سازی می‌شود و سپس به وسیله سیستم صفراوی متابولیزه یا ترشح می‌شوند (به عنوان مثال بیلی‌روبین، اسیدهای صفراوی، آمونیاک، کلسترول) و موادی که به طور طبیعی توسط کبد ساخته می‌شود (به عنوان مثال آلبومین، اوره، کلسترول و فاکتورهای انعقادی) تغییرات مقادیر طبیعی هر کدام از فاکتورهای بالا می‌تواند ناشی از بیماری‌ها و نارسایی‌کبد باشد.

تست‌های عملکردی کبد

بیلی‌روبین تام

متابولیسم طبیعی بیلی‌روبین: بیلی‌روبین حاصل تجزیه هموگلوبین و در مقادیر جزئی سایر هموپروتئین‌ها (میوگلوبین، سیتوکروم‌ها، پراکسداز و کاتالاز) است. اریتروسیت‌های پیر در اواخر دوره زندگی توسط فاگوسیت‌های تک هسته‌ای در طحال و همچنین کبد و مغز استخوان فاگوسیت می‌شوند. هموگلوبین اریتروسیت‌های فاگوسیت شده کاتابولیزه شده و بخش گلوبینی آن به آمینواسید تبدیل شده و بخش هم به آهن و پروتوپورفیرین شکسته می‌شود. آهن مجدد بازیابی شده اما پروتوپورفیرین ابتدا به بیلی‌وردین و سپس بیلی‌روبین تبدیل می‌شود. بیلی‌روبین غیرکونژوگه تازه تشکیل شده (بیلی‌روبین غیر مستقیم) از ماکروفاژها آزاد و به صورت غیر کووالان به آلبومین باند می‌شود و توسط جریان خون به سینوزوئیدهای کبدی حمل می‌شود و بعد از جدا شدن از آلبومین وارد هپاتوسیت‌ها می‌شود. در داخل کبد بیلی‌روبین غیرکونژوگه به پروتئین‌هایی از قبیل لیگاندین و پروتئین Z متصل می‌شود تا از بازگشت مجدد به پلاسما جلوگیری شود. در داخل هپاتوسیت‌ها، بیلی‌روبین با گروه‌های قندی کونژوگه شده و تبدیل به بیلی‌روبین کونژوگه (بیلی‌روبین مستقیم) می‌شود. این گروه‌های قندی در اغلب پستانداران گلوکورونیک اسید است. این واکنش به وسیله آنزیم UDP-گلوکورونوزیل ترانسفراز انجام می‌شود.

بیلی‌روبین کونژوگه اتصال محکمی به پروتئین ندارد و حلالیت آن در آب بالاست. بیشتر بیلی‌روبین کونژوگه به صورت فعال و بر خلاف جهت شیب غلظت به داخل مجاری صفراوی حمل و سپس به درون صفرا ترشح می‌شود. مقادیر جزئی از بیلی‌روبین کونژوگه درحالت طبیعی از غشای هپاتوسیت‌ها عبور و به خون پس می‌زند و چنان‌چه به پروتئین متصل نشود خیلی سریع توسط فیلتراسیون گلومرولیترشح می‌شود. بخشی از بیلی‌روبین کونژوگه می‌تواند به صورت کووالان به آلبومین متصل شود و بیلی‌پروتئین یا دلتا پروتئین نام دارد. بیلی‌روبین کونژوگه پس از ترشح شدن در مجاری صفراوی به روده کوچک رفته و در آن‌جا توسط باکتری‌ها به یوروبیلینوژن تبدیل می‌شود. ۹۰٪ آن ترشح می‌شود و ۱۰٪ باقی‌مانده جذب خون می‌شود و بخشی از آن توسط کبد از خون برداشته می‌شود و بخش دیگر توسط فیلتراسیون گلومرولی از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود.

هیپربیلی‌روبینمی در نتیجه بیماری‌های پیش‌کبدی (همولیتیک)، بیماری‌های کبدی اولیه و بیمارهای پس‌کبدی رخ می‌دهد. شایع‌ترین علل همولیز شامل آنمی همولیتیک با واسطه ایمنی، انگل‌های هموتروپیک، داروها، توکسین‌ها یا بیماری‌های میکروآنژیوپاتیک هستند (جدول ۵). افزایش هم‌زمان آنزیم ALT ممکن است در مواقع آسیب‌های ناشی از کمبود اکسیژن هپاتوست‌ها رخ دهد. هیپربیلی‌روبینمی کبدی می‌تواند به علت کاهش هم‌زمان عملکرد هپاتوست‌ها و کلستازهای داخل کبدی باشد. در این شرایط جذب، کونژوگاسیون و ترشح بیلی‌روبین کاهش می‌یابد. بنابراین یک بیماری کبدی مشخص باید وجود داشته باشد تا سبب افزایش بیلی‌روبین خون شود، پس بیلی‌روبین تام سرم شاخص حساسی از بیماری کبدی نیست. هیپربیلی‌روبینمی پس‌کبدی به صورت ثانویه در انسداد مجاری صفراوی خارج کبدی رخ می‌دهد. علل شایع شامل پانکراتیت، التهاب

باکتریایی کیسه صفرا، نئوپلازی صفراوی و نئوپلازی پانکراس رخ می‌دهد. انسداد مجاری صفراوی خارج‌کبدی اغلب منجر به افزایش نامتوازن آنزیم‌های (GGT و ALP) در مقایسه با آنزیم‌های ناشی از آسیب‌های هپاتوسیت‌ها (ALT و AST) می‌شود. علاوه بر آن غلظت سرمی کلسترول در طی انسداد مجاری صفراوی افزایش می‌یابد (جدول ۶).

داروها و سموم ایجاد کننده همولیز
آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (پنی‌سیلین‌هاوسفالوسپورین‌ها)، سولفانامیدها، ماکرودانتین (نیتروفورانتوئین)، استامینوفن، سرب، روی، خانواده پیاز، ویتامین K در گربه‌ها

جدول ۵. داروها و سموم ایجاد کننده همولیز

بیماری‌های متدوال افزایش دهنده بیلی‌روبین خون
سگ‌ها: تومورهای Round-cells از جمله لنفوما، سارکومای هیستیوسیتیک و بیماری‌های ماست‌سل‌ها
گربه‌ها: لیپیدوز کبدی، کلانژیت، کلانژیوهپاتیت، پریتونیت عفونی گربه‌ها، تومورهای Round-cells از جمله لنفوما و تومورهای ماست سل

جدول ۶. بیماری‌های متدوال افزایش دهنده بیلی‌روبین خون

آمونیاک: آمونیاک در روده در اثر کاتابولیسم گلوتامین به وسیله انتروسیت‌های روده و دآمیناسیون باکتریایی پروتئین‌های موجود در جیره غذایی تولید می‌شود و از لومن روده جذب خون و سپس از طریق گردش خون پرتال به فرم آمونیوم به کبد می‌رسد. با توجه به ظرفیت بسیار بالای کبد برای تبدیل آمونیاک به اوره اندازه‌گیری آمونیاک پلاسما یک شاخص نسبتا غیرحساس جهت بررسی عملکرد کبد است و از دست رفتن بیش از ۷۰٪ عملکرد کبد لازم است تا سبب افزایش مشخص غلظت آمونیاک سرم شود. غلظت آمونیاک پلاسما در صورتی‌که کلستاز یا اختلالات کبدی منجر به کاهش توده فعال کبد یا اختلال در گردش خون پورتوسیستمیک نشود تغییر نمی‌کند. حساسیت مقادیر آمونیاک پلاسما در تشخیص شانت‌های پورتوسیستمیک در سگ‌ها ۸۱٪ تا ۱۰۰٪ و در گربه‌ها ۸۳٪ است. همچنین نقص در آنزیم‌های چرخه اوره می‌تواند غلظت آمونیاک خون را افزایش دهد. این نقص‌های آنزیمی می‌توانند به صورت ارثی یا به صورت ثانویه در اثر کمبود کوبالامین یا آرژنین ایجاد شوند. کمبود آرژنین در گربه‌های مبتلا به لیپیدور کبدی رخ می‌دهد و منجر به افزایش آمونیاک خون می‌شود (جدول ۷). آمونیاک نقش مهمی در ایجاد هپاتوانسفالوپاتی دارد، با این وجود غلظت آمونیاک می‌تواند در بعضی موارد هپاتوانسفالوپاتی طبیعی باشد. آمونیاک در نمونه‌های پلاسما چندان پایدار نیست، لذا باید با حفظ شرایط مناسب به سرعت اندازه‌گیری شود.

علل افزایش دهنده سطوح آمونیاک
جیره غذایی با سطح پروتئین بالا، تمرین و فعالیت بدنی بیش از حد، نمونه گیری نامناسب یا تاخیر در آنالیز نمونه نارسایی کبد، اختلالات مادرزادی چرخه اوره، داروها: مسکن‌ها و مدرهایی که منجر به آلکالوز می‌شوند

جدول ۷. علل افزایش دهنده سطوح آمونیاک

اسیدهای صفراوی: اسیدهای صفراوی استروئیدهای دوگانه دوستی هستند که به صورت اولیه از کلسترول به وسیله آنزیم ۷- آلفا هیدروکسیلاز با غالبیت کولیک اسید در کبد سنتز می‌شوند. اسیدهای صفراوی با ایجاد ساختارهای میسلی باعث افزایش حلالیت لیپیدها در روده، تسهیل هضم و جذب چربی‌ها می‌شوند و اغلب در سگ‌ها و گربه‌ها برای ارزیابی عملکرد کبد استفاده می‌شوند و شاخصی برای بررسی آنزیم‌های کبدی افزایش یافته در حیوانات مبتلا به شانت‌های پورتوسیستمیک یا سیروز و کنترل بیماران بستری مبتلا به اختلالات کبدی می باشند. برای بیشترین میزان حساسیت باید دو نمونه خون یکی پس از ۱۲ ساعت ناشتا و نمونه دیگر ۲ ساعت پس از مصرف غذا اخذ شود.

فاکتورهای متفاوتی می‌توانند نتایج تست اسیدهای صفراوی را متاثر کنند. همولیز و لیپمی ممکن است به صورت کاذب باعث افزایش یا کاهش غلظت اسیدهای صفراوی اندازه‌گیری شده با روش اسپکتروفتومتریک شود. بیمارانی که کیسه صفرای آن‌ها برداشته شده یا حیواناتی که مبتلا به بیماری ایلئوم هستند با توجه به این‌که این ناحیه اولین محل جذب چربی‌هاست ممکن است دارای نتایج غیر قابل اعتمادی باشند. انقباض خود به خود کیسه صفرا در حالت ناشتا می‌تواند منجر به افزایش شاخص‌ها در نمونه خون اخذ شده

پس از دریافت غذا شود. با این حال تمام شاخص‌ها در هر دو نمونه خون باید در محدوده مقادیر مرجع باشد در غیر این صورت بیماری کبدی محتمل است. اگرچه اسیدهای صفراوی شاخص‌های بسیار خوبی برای عملکرد کبد هستند ولی میزان این افزایش جهت تشخیص و پیش آگهی مناسب نیست. اسیدهای صفراوی در موارد بیماری‌های غیر کبدی، درمان با داروهای ضد تشنج و گلوکوکورتیکوئیدها افزایش نمی‌یابد (جدول ۸). اسیدهای صفراوی ادرار کاربرد مشابهی با اسیدهای صفراوی خون در سگ و گربه دارند. مزیت اندازه‌گیری اسیدهای صفراوی ادرار شامل حساسیت و ویژگی بالاتر در مقایسه با اسیدهای صفراوی سرم جهت ارزیابی عملکرد کبد در سگ و گربه، امکان اخذ نمونه از حیوان غیر ناشتا است. نمونه ادرار باید در خانه گرفته شود.

علل کاهش و افزایش اسیدهای صفراوی
کاهش اسیدهای صفراوی: کاهش حرکات دستگاه گوارش، دستگاه گوارش با حرکات افزایش یافته، سو جذب معده‌ای-روده‌ای، قطع ایلئوم، بیماری‌های ایلئوم
افزایش اسیدهای صفراوی: بیماری‌سلول‌های کبدی مانند لیپیدوز کبدی، سموم، نکروز (سموم، ایسکمی، حرارت)، التهاب (سیروز، بیماری‌های سیستم ایمنی، عفونت)

جدول ۸. علل کاهش و افزایش اسیدهای صفراوی

شاخص‌های غیر مستقیم ارزیابی بیماری‌های کبدی

گلوبولین و آلبومین: کبد محل اصلی سنتز بسیاری از گلوبولین‌ها به جز ایمونوگلوبولین‌هایی است که در بافت‌های لنفاوی سنتز می‌شوند. نارسایی کبد می‌تواند سبب کاهش ساخت و غلظت سرمی این گلوبولین‌ها شود. در نارسایی کبدی غلظت گلوبولین به شدت آلبومین کاهش پیدا نمی‌کند در نتیجه نسبت آلبومین به گلوبولین به طور معمول کاهش می‌یابد. در بسیاری از موارد غلظت گلوبولین در بیماری‌های مزمن کبدی به علت تولید پروتئین‌های فاز حاد و همچنین تولید ایمونوگلوبولین‌ها افزایش می‌یابد. در حیوانات با بیماری‌های کبدی حاد پاک‌سازی پروتئین‌های بیگانه توسط سلول‌های کوپفر کبدی کاهش می‌یابد. این پروتئین‌های غیرخودی از روده جذب شده و به وسیله گردش خون پورتال به کبد می‌رسند. بنابراین زمانی که سلول‌های کوپفردر پاک‌سازی این پروتئین‌ها به صورت ناکارآمد عمل کنند، این پروتئین‌ها در تماس با سیستم ایمنی در سایر نقاط بدن قرار می‌گیرند که منجر به بروز پاسخ‌های ایمنی و افزایش گلوبولین‌های خون می‌شوند. با توجه به این‌که نیمه عمر آلبومین حدود ۳-۱ هفته در سگ‌ها گزارش شده، کاهش قابل توجه در غلظت آلبومین در بیماری‌های کبدی پیشرفت کندی دارد و نشان دهنده بیماری‌های مزمن کبدی است.

گلوکز: کبد نقش مهمی در متابولیسم گلوکز دارد. گلوکز جذب شده توسط روده باریک به وسیله گردش خون پورتال به کبد می‌رود و سپس وارد هپاتوسیت‌ها می‌شود. کبد گلوکز را به گلیکوژن تبدیل می‌کند و از طریق گلیکوژنولیز به تنظیم گلوکز خون کمک می‌کند. گلوکز در کبد به وسیله گلوکونئوژنز ساخته می‌شود. در حیوانات مبتلا به نارسایی کبدی غلظت گلوکز می‌تواند از کاهش یافته تا افزایش یافته متغیر باشد. غلظت گلوکز افزایش یافته ممکن است به دلیل کاهش جذب کبدی گلوکز باشد که منجر به هیپرگلایسمی طولانی مدت بعد از خوردن غذا می شود. کاهش غلظت گلوکز ممکن است به دلیل کاهش گلوکونئوژنز یا گلیگولیز باشد. کبد دارای ظرفیت بالایی در حفظ سطح گلوکز در مقادیر طبیعی است. در ۷۰٪ موارد که بخشی از کبد برداشته شده است کاهش قند خون دیده می شود. هیپرگلایسمی طولانی مدت پس از خوردن غذا ممکن است به علت کاهش ذخیره گلیکوژن و همچنین کاهش پاک‌سازی انسولین به وسیله کبد رخ دهد. تغییرات ایجاد شده در مقادیر گلوکز خون معمولا زمانی رخ می‌دهند که ۸۰٪ توده فعال کبد از بین رفته باشد.

اوره: اوره توسط کبد و از آمونیاک سنتز می‌شود. در حیواناتی با نارسایی کبدی، کاهش توده عملکردی کبد سبب کاهش تبدیل آمونیاک به اوره می‌شود و هم‌زمان میزان آمونیاک خون افزایش می‌یابد و میزان اوره خون (BUN)کاهش می‌یابد.

کلسترول: کلسترول در بدن از هر دو منبع جیره غذایی و سنتز توسط کبد حاصل می‌شود. به همین دلیل غلظت

کلسترول سرم به عنوان شاخصی از عملکرد کبد دارای ارزش محدودی است چون ممکن است غلظت آن کاهش یافته، افزایش یافته یا طبیعی بسته به نوع بیماری کبدی و نوع جیره غذایی باشد. افزایش کلسترول خون در اثر انسدادهای مجاری صفراوی خارج کبدی در سگ و گربه رایج است اما ممکن است در بیماری‌هایی که به صورت ثانویه کبد را متاثر می‌کند از جمله دیابت ملیتوس، کم کاری تیروئید، پرکاری آدرنال، پانکراتیت و سندرم نفروتیک هم مشاهده شود. کاهش کلسترول خون در بیماری‌هایی نظیر سیروز کبدی و نارسایی کبد و همچنین در اثر سو جذب و بی‌اشتهایی ممکن است دیده شود.

فاکتورهای انعقادی: با توجه به این‌که کبد جایگاه اصلی ساخت اکثر فاکتورهای انعقادی است، لذا نقش مهمی در روند انعقاد دارد. همچنین فاکتورهای ضدانعقادی از قبیل آنتی‌ترومبین، پروتئین C و پروتئین S نیز در کبد تولید می‌شوند. علاوه بر آن انسداد مجاری صفراوی می‌تواند سبب کاهش جذب ویتامین K شود که در نتیجه آن کاهش عملکرد فاکتورهای انعقادی وابسته به ویتامین K از جمله فاکتورهای II, VII, IX, X و فاکتورهای ضدانعقادی (پروتئین C و S) می‌شود. بنابراین احتمال وقوع نقص در هر دو مسیر فیبرینولیز و هموستاز در حیوانات مبتلا به بیماری‌های کبدی وجود دارد. بر این اساس حیوانات مبتلا ممکن است حالت‌های غیرطبیعی در تست‌های انعقادی مختلف از جمله زمان پروترومبین(PT)، زمان نسبی ترومبوپلاستین(PTT)، فعالیت آنتی‌ترومبین، فعالیت پروتئین C و غلظت فیبرینوژن نشان دهند. اگر چه حالت‌های غیرطبیعی در بسیاری از تست‌های انعقادی رخ می‌دهد اما تمایل به خونریزی ازشیوع کم‌تری برخوردار است. اختلالات پلاکتی از جمله کاهش تعداد ترومبوسیت‌ها و کاهش عملکرد پلاکت‌ها ممکن است هم‌زمان با بیماری‌های کبدی رخ دهد.

در مقایسه با آلبومین عوامل انعقادی نیمه عمر کمتری دارند و کاهش تولید آن‌ها در نتیجه کاهش توده فعال کبد به کاهش غلظت آن‌ها در پلاسما منجر می‌شود. در صورتی‌که غلظت هر یک از عوامل انعقادی به کم‌تر از ۳۰٪ میزان طبیعی برسد نتایج غیر طبیعی در تست‌های انعقادی مشاهده می‌شود.

هماتولوژی

یافته‌های غیرطبیعی محدودی در بررسی خون کامل و اسمیر میکروسکوپی وجود دارد که اختصاصی بیماری‌های کبد و مجاری صفراوی باشد.

- میکروسیتوز می‌تواند در موارد شانت‌های پورتوسیستمیک و نارسایی‌های حاد کبدی به علت تغییر در متابولیسم آهن رخ دهد.
- آکانتوسیتوزیس می‌تواند در اثر اختلالات لیپیدی و قطع شبکه عروقی (مثلا در همانژیوسارکوما) رخ دهد.
- گلبول‌های قرمز بیضی شکل در گربه‌های مبتلا به لیپیدوز کبدی ایجاد می شوند.

یافته‌های غیرطبیعی آنالیز ادرار در بیماری‌های کبدی

یکی از نشانه‌های بالینی اولیه و رایج در بیماری‌های کبدی پرنوشی و پرادراری است. بنابراین، وزن مخصوص ادرار در بیماران مبتلا به بیماری‌های کبدی اغلب کاهش یافته است. بیلی‌روبین ادراری و سنگ‌های اوراتی و کریستال ادراری هم از شاخص‌های حضور بیماری‌های کبدی است.

بیلی‌روبین جهت ترشح به ادرار باید حتما کونژوگه شود. بیلی‌روبین‌اوری ۲+ در نوار ادراری در سگ‌ها و هر مقدار بیلی‌روبینوری در گربه‌ها می‌تواند احتمال حضور بیماری کبدی را بالا ببرد. بیلی‌روبین‌اوری می‌تواند در سگ‌های مبتلا به بیماری‌های غیر کبدی و همولیتیک هم رخ دهد که منجر به از دست دادن بیلی‌روبین غیر کونژوگه (در بیماران مبتلا به بیماری‌های کلیوی همراه با دفع پروتئین) و تولید و کونژوگاسیون بیلی‌روبین در سلول‌های توبولی کلیه (به طور اولیه در نرها) می‌شود. گربه‌ها دارای آستانه دفع بالاتری برای بیلی‌روبین در مقایسه با سگ‌ها هستند و وجود هر مقدار از بیلی‌روبین در ادرار آن‌ها شاخصی از بیماری کبدی و همولیتیک است.

سنگ‌های ادراری اوراتی و یا کریستال‌ادراری در ۴۰٪ تا ۷۰٪ بیماران مبتلا به شانت پورتوسیستمیک مشاهده می‌شود که ممکن است وابسته به نژاد باشد. ادرار اسیدی می‌تواند منجر

به سنگ‌های اوراتی در هر دو گونه سگ و گربه شود.

شاخص‌های جدید بیماری‌های کبدی

پروتئین C یک پروتئین زیموژن وابسته به ویتامین K است که در کبد سنتز می‌شود و نقش مهمی در روند انعقاد دارد. گزارش شده که تعیین مقدار پروتئین C پلاسما در تشخیص بیماری‌های کبدی بسیار کمک کننده است. مطالعه بالینی در سگ‌های مبتلا به اختلالات مادرزادی عروق پورتال نشان می‌دهد پروتئین C یک شاخص غیر تهاجمی از جریان خون پرتال است و در تمایز بین شانت‌های پورتوسیستمیک از دیس‌پلازی عروق کوچک نقش دارد. فعالیت بیش از ۷۰٪ پروتئین C بدن نشان‌گر دیس‌پلازی عروق کوچک و نه شانت‌های عروقی مادرزادی است. افزایش فعالیت پروتئین C به بیش از ۷۰٪ و یا بیشتر پس از جراحی‌های اصلاحی برای شانت‌های پورتوسیستمیک نشان‌دهنده بازگشت جریان خون پورتال است.

MicroRNA ها یک نوع کوچک از RNA های غیر کد کننده هستند که بیان ژن‌های پس از رونویسی را تنظیم می‌کند. مطالعات زیادی توانایی MicroRNA هایی با منشا کبدی را به عنوان شاخص‌های حساس و پایدار غیر تهاجمی در آسیب‌های سلول‌های کبدی در مدل‌های حیوانی وهمچنین در انسان‌هایی که غلظت‌های ALT درآن‌ها طبیعی تا افزایش یافته است را نشان می‌دهد. بسیاری از این مطالعات نشان داده که MicroRNA های مشتق شده از سلول‌های کبدی حساسیت بیشتری در مقایسه با ALT نسبت به آسیب‌های کبدی دارد. مطالعات اخیری که در سگ‌های نژاد لابرادور رتریور انجام شد نشان داد MicroRNA-122 یک شاخص حساس و اختصاصی برای آسیب‌های سلول‌های کبدی در مقایسه با ALT است. MicroRNA-122 همچنین برای شناسایی بیمارانی با مس بالای کبد که دارای مقادیر ALT طبیعی هستند هم کاربرد دارد.

اسید هیالورونیک یک گلیکوزآمینوگلیکان غیر سولفاته در بافت همبند است و یکی از ترکیبات اصلی ماتریکس خارج سلولی است. اسید هیالورونیک یک شاخص سرمی برای فیبروز کبد است که جهت تمایز بیماران فاقد فیبروز تا فیبروز ملایم از بیماران دارای فیبروز متوسط تا حاد دارای حساسیتی معادل ۷۵٪ تا ۸۷٪ و ویژگی معادل ۸۰٪ تا ۱۰۰٪ است. مطالعات اولیه همچنین نشان داد که اسید هیالورونیک سرم جهت شناسایی فیبروز کبدی در گوشتخواران کاربرد دارد. همچنین در یک مطالعه در سگ‌ها نشان داده شد که سگ‌های مبتلا به سیروز کبدی دارای سطح اسید هیالورونیک افزایش یافته نسبت به سگ‌های سالم یا سگ‌های با بیماری‌های خارج کبدی هستند.

تست Fibrovet که در سال‌های اخیرتوسعه یافته است، یک تست خونی است که در سگ‌ها برای بررسی فیبروز کبدی و التهاب مورد استفاده قرار می‌گیرد. این تست یک اندیس ترکیبی از سن، جنس و پارامترهای بیوشیمیایی مختلف در الگوریتم اختصاصی است. گزارش شده است که این اندیس دارای توانایی پیشگویی منفی معادل ۹۰٪ تا ۱۰۰٪ برای فیبروز کبدی ملایم و همچنین دارای توانایی تمایز سگ‌های دارای فیبروز با پیشگویی مثبت ۹۰٪ تا ۱۰۰٪ است.

منابع

1. Bain PJ. Liver. In: Latimer KS, editor. *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine clinical pathology*, 5th ed. West Sussex: Wiley Blackwell; 2011. p. 211-230.
2. Hall EJ, German AJ. Laboratory evaluation of hepatic disease. In: Villiers E, Ristic J, editors. *BSAVA manual of canine and feline clinical pathology*, 3rd ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association; 2016. p. 237-261.
3. Hall RL. Laboratory evaluation of liver disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1985; 15 (1): 3-19.

4. Lawrence YA, Steiner JM. Laboratory Evaluation of the Liver. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017, 47 (3): 539-553.
5. Allison RW. Laboratory evaluation of the liver. In: Thrall MA, Weiser G, Allison R, Campbell T, editors. *Veterinary hematology and clinical chemistry*, 2ed ed. John Wiley & Sons; 2012. p. 401-424.
6. Willard MD, Twedt DC: Gastrointestinal, pancreatic, and hepatic disorders. In: Willard MD, Tvedton H, editors. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*, 5th ed. St. Louise, Elsevier; 2012. p. 191-225.

Abstract in English

Laboratory diagnosis of liver disease in small animal practice

Saba Ahmadi[1*], Morteza Hasanabadi[1], Mehrdad Mohri[2]

1. Resident of Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

2. Prof. Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

*sa.ahmadi@mail.um.ac.ir

Today's accurate diagnosis of disease requires using of different diagnostic and paraclinical methods. Diagnosis of liver disease was a serious challenge both in medicine and veterinary medicine from the past. Clinical biochemistry is one of the main parts of diagnostic methods. Liver function is evaluated by measuring the variables such as excreting and metabolic functions and enzymes. Because of large functional reserve of liver, symptoms of liver disease appear after loss of huge number of hepatocytes, therefore using of laboratory methods with high specificity and sensitivity could be helpful. None of existing laboratory methods has all characteristics mentioned above. It seems that using different laboratory methods of liver function beside other diagnostic methods such as sonography, cytology and … could be an appropriate approach for reaching a diagnosis of hepatobiliary disease. Current article reviews the perfect utility of liver function tests for general diagnosis of liver disease.

Key words: Liver, Laboratory Diagnosis, Enzyme, Icterus

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

تشخیص آزمایشگاهی بیماری‌های کلیه در دام‌های کوچک

مرتضی حسن آبادی*[۱]، صبا احمدی[۱]، مهرداد مهری[۲]

۱. رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استاد کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

*hassanabadi.morteza@mail.um.ac.ir

چکیده

تست‌های متداول برای ارزیابی عملکرد کلیه شامل اندازه گیری اوره و کراتینین می‌باشد که البته مارکرهای غیر مستقیم برای تعیین GFR مثل Cystatin C و Symmetrical Dimethyl Arginine در حال گسترش هستند. با استفاده از این تست‌ها می‌توان به وقوع ازوتمی در بیمار پی برد. در قدم بعدی برای تشخیص و درمان باید ازوتمی را در یکی از گروه‌های پیش کلیوی، کلیوی و پس کلیوی طبقه بندی کرد. در بیماری‌های کلیوی قدم بعدی در جهت اطلاع از پیش آگهی طبقه بندی اختلال و نارسایی به حاد و مزمن است. تشخیص بیماری حاد از مزمن براساس تاریخچه مریض و معاینه فیزیکی انجام می‌شود. کاهش وزن و کم خونی غیر جبرانی ممکن است از نشانه‌های بیماران مبتلا به CKD باشد. آزمایش مفید دیگر در جهت اطلاع از وضعیت عملکرد کلیه‌ها و مجاری ادرارای آنالیز کامل ادرار است. آزمایش ادرار کامل اطلاعات ارزشمندی در مورد ازوتمی و دلایل آن می‌دهد. آزمایشات تکمیلی دیگری نیز جهت تشخیص نارسایی کلیه مثل اندازه‌گیری فسفر، کلسیم، پتاسیم، وضعیت اسید و باز، کلسترول، آلبومین ادرار، نسبت GGT به کراتینین ادرار وجود دارند. دسته‌ای از مارکرها هم در جهت تشخیص زود هنگام بیماری‌های کلیوی در حال پژوهش و تجاری سازی می‌باشند اما هنوز کاربرد بالینی پیدا نکرده‌اند. از جمله این بیومارکرها می‌توان به Cystatin C، Kidney injury molecule، Neutrophil gelatinase-associated Lipocalin اشاره کرد.

واژه‌های کلیدی: کلیه، بیوشیمی بالینی، ازوتمی، آزمایش ادرار

بررسی کارکرد کلیه

عملکرد کلیه تنظیم حجم و محتویات مایع خارج سلولی است. این مهم به وسیله فیلتر شدن پلاسما با مواد محلول در آن شامل الکترولیت‌ها، پروتئین‌های کوچک و کلیه ساختارهای غیر سلولی با عبور از سد فیلتراسیون گلومرولی به دست می‌آید. در یک حیوان سالم با وضعیت فیزیولوژیک طبیعی کمتر از ۱٪ از مایعی که فیلتر می‌شود توسط ادرار دفع می‌شود. آزمایش‌های معمول تا زمانی‌که نفرون‌های باقیمانده توانایی جبران آسیب‌های ایجاد شده را داشته باشند

در مقادیر نرمال خود باقی می‌مانند. معمولا بیماری‌های کلیوی به دو صورت ازوتمی و عدم توانایی در تغلیظ ادرار خودر را نشان می‌دهند. عدم توانایی در تغلیظ زمانی ایجاد می‌شود که ۶۶٪ از نفرون‌ها از بین رفته باشند همچنین ازوتمی زمانی ایجاد می شود که ۷۵٪ از نفرون‌ها از بین رفته باشند.

نارسایی کلیه به دو دسته حاد و مزمن تقسیم می‌شود. برحسب این‌که کدام قسمت از نفرون‌ها دچار بیماری شده باشند می‌توانیم نارسایی را طبقه بندی کنیم. اگر بیماری در گلومرول‌ها باشد می‌تواند شامل گلومرولونفریت یا آمیلوییدوز، درگیری توبول‌ها مثل نفروزیس، اینترستیشیوم مثل Interstitial nephritis، لگنچه مثل پیلونفریت و یا مجاری دفع کننده مثل التهاب مثانه، انسداد یا پارگی مثانه باشد. بسته به نوع و محل آسیب از روش‌های آزمایشگاهی مختلفی جهت تشخیص می‌توان استفاده کرد.

تست‌های عملکردی گلومرول‌ها

تعیین GFR: با این‌که تعیین GFR یکی از بهترین تست‌های پذیرفته شده در جهت بررسی عملکرد کلیه می‌باشد اما از این نکته نباید غافل شد که کلیه یک ارگان با وظایف مختلف است پس این امکان وجود دارد که بیماری‌های مختلف کلیوی با وجود مقادیر طبیعی GFR وجود داشته باشند. مثلا در سگ های دالماسین که دفع بیش از اندازه اوریک اسید دارند این امر به دلیل اختلال در تبادل کننده‌های توبول‌های پروکسیمال روی می‌دهد یا در بیماری پلی‌کیستیک در گربه‌های جوان تغییری در GFR به وجود نمی‌آید.

GFR یکی از بهترین شاخص‌های پیشگویی کننده برای تعیین تعداد نفرون های عملکردی در کلیه است. محاسبه خود GFR کار آسانی نیست اما در مطالعات از موادی که از گلومرول‌ها فیلتر می‌شوند اما بازجذب یا ترشحی به توبول‌ها ندارند استفاده می‌شود. به عنوان مثال از اینولین، Iohexol، Mannitol، P-amminohippuric acid و کراتینین می‌توان استفاده کرد. در روش‌های جدید برای تعیین GFR به مارکرهای جدیدی مانند Symmetric dimethylarginine (SDMA) و Cystatin C هم برمی‌خوریم. به جهت سختی‌هایی که تعیین GFR در دامپزشکی دارد به صورت معمول انجام نمی‌شود. در بالین می‌توان از تست‌هایی که به صورت غیر مستقیم حاکی از کاهش GFR هستند مثل اندازه‌گیری اوره، کراتنین، فسفر، کلسیم و اطلاعات دیگر از آنالیز ادرار یا پروتیین در ادرار، پاک‌سازی کراتینین و البته دفع سهمی سدیم استفاده کرد.

اوره: اوره در کبد در پاسخ به دآمینه شدن اسیدهای آمینه مازاد بر نیاز تغذیه‌ای ساخته می‌شود. اوره مولکول کوچکی است که در تمام مایعات بدن منتشر می‌شود. اوره به راحتی توسط گلومرول ها فیلتر می‌شود اما بخش عمده آن توسط توبول‌ها و لوله‌های جمع کننده بازجذب می‌شود. بازجذب با کاهش جریان توبولی و به وسیله هورمون ADH افزایش می‌یابد. اگر چه که اوره به عنوان یک شاخص با حساسیت بالا در جهت تشخیص ازوتمی پیش کلیوی مطرح است اما ممکن است تست تشخیصی خوبی در این جهت نباشد. علت این موضوع را باید در عوامل غیر کلیوی موثر در غلظت اوره مثل گرسنگی، میزان پروتیین غذا، خونریزی گوارشی، عملکرد کلیه، پرادراری و هایپرتیروئیدیسم جستجو کرد. این عوامل همراه با بازجذب زیادی که در توبول ها انجام می‌شود باعث محدودیت ارزش اوره در جهت اندازه‌گیری GFR می‌شود.

روش سنجش اوره در سرم یا پلاسما بر پایه آنزیم اوره‌آز است که اوره را به آمونیا و کربن دی اکسید هیدرولیز کرده که در مرحله بعد آمونیا به صورت مستقیم یا غیر مستقیم با روش‌های رنگ سنجی قابل سنجش است.

کراتینین: کراتینین یک مولکول کوچک می‌باشد که در واقع حاصل شکستن کراتین فسفات است. کراتین فسفات به عنوان یک مولکول ذخیره کننده انرژی است که عموما در ماهیچه‌ها وجود دارد و پیش‌ساز آن کراتین است. گردش کراتین فسفات در ماهیچه‌ها به صورت ثابت و حدود روزانه ۲٪ می‌باشد. مقدار ناچیزی کراتین و کراتین فسفات با غذا خوردن هم ایجاد می‌شود که البته در صورت داشتن رژیم غذایی نرمال این میزان اندک قابل چشم‌پوشی است. کراتینین دارای نیمه عمری حدود سه ساعت در پلاسما است. کاهش GFR باعث تغییر چشم‌گیر غلظت کراتینین می‌شود.

برای مدت‌های طولانی کراتینین با روش ژافه اندازه‌گیری شده است که البته اکنون به سرعت در حال تغییر به روش‌های اختصاصی آنزیماتیک است. در روش ژافه کراتینین و پیکرات در محیط قلیایی واکنش می‌دهند و تولید ماده زرد رنگ می‌کنند. متاسفانه مواد زیادی در سرم و پلاسما وجود دارند که می‌توانند با پیکرات وارد واکنش شده و باعث افزایش کاذب مقدار کراتینین در سرم شوند. مقادیر کروموژن‌های غیر کراتینینی در سرم افراد مختلف متفاوت است و نمی‌توان فرمول مشخصی در جهت به دست آوردن مقدار واقعی کراتینین در سرم به دست آورد. در سگ‌ها مقادیر کراتینین با افزایش وزن میل به افزایش دارد و به همین دلیل ممکن است مقادیر طبیعی با توجه به جثه دچار تغییر شود. مثلا در سگ‌های گری‌هاوند ممکن است مقادیر نرمال کراتینین از مقادیر نرمال آزمایشگاهی بالاتر باشد. قسمتی از این به خاطر حجم بیشتر ماهیچه‌ها در سگ‌های بزرگ‌تر است. در گربه‌ها هم با این‌که تفاوت فنوتیپی آن‌ها با هم اندک است اما تفاوت در غلظت کراتینین در آن‌ها هم مشاهده می‌شود. عموما به دلیل دشواری در تعیین مستقیم GFR از مقادیر کراتینین سرم برای تخمین میزان GFR استفاده می‌شود که البته باید با آگاهی از جنس، سن و وزن بدن صورت گیرد. باید این نکته را مد نظر داشت که مثلا مقادیر بالا اما نرمال برای سگی مثل شی هوآهوآ ممکن است دلیل بر بیماری کلیوی باشد اما مقادیر افزایش یافته در سن برنارد ممکن است نشان دهنده کارکرد طبیعی کلیه‌ها باشد (جدول ۱).

دلایل عدم تناسب BUN با CRE
افزایش BUN همراه با کراتینین نرمال: ازوتمی پیش کلیوی اولیه، افزایش BUN، جیره با پروتئین بالا، خونریزی گوارشی، تجویز تتراسایکلین یا کورتیکواستروئید، تب، ضربه شدید به بافت، کاهش CRE، کاهش وزن شدید
افزایش کراتینین همراه با BUN نرمال یا کاهش یافته: کاهش BUN، نارسایی کبدی، پرنوشی و پرادراری، جیره کم پروتئین، افزایش CRE، میوزیت/آسیب عضلانی، رژیم غذایی گوشت پخته کتونمی (افزایش کاذب)

جدول ۱. دلایل عدم تناسب BUN با CRE

مارکرهای غیر مستقیم برای تعیین GFR: مارکرهای غیر مستقیم به صورت وسیعی در حال گسترش در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی هستند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که این مارکرها همبستگی خوبی با میزان GFR دارند اما هنوز ثابت نشده که بهتر از کراتینین هستند. در بعضی موارد انتخابی، برای تشخیص ضایعات پارانشیم کبد، عروق کبدی، مجاری صفراوی و کیسه صفرا است. تکنیک اولتراسونوگرافی اطلاعات و جزئیات بیشتری در خصوص بیماری‌های کبد ارائه می‌دهد.

Cystatin C: مهارکننده سیستئین پروتئاز است که به وسیله همه سلول‌های هسته دار ساخته می‌شود. سیستئین سی مستقیم توسط گلومرول‌ها فیلتر شده و مقداری از آن توسط سلول‌های اپی‌تلیال توبولار بازجذب می‌شود. در بعضی مطالعات از سیستئین سی برای محاسبه GFR استفاده شده و مزیت‌هایی نسبت به کراتینین هم برای ذکر شده است البته در همه مطالعات به این صورت نیست. سیستئین سی در موارد هایپرتیروئیدیسم افزایش می‌یابد که احتمالا به دلیل افزایش متابولیسم سلولی است.

SDMA :Symmetrical Dimethyl arginine به واسطه متیلاسیون ال آرژنین در هسته و آزاد شدن آن در جریان خون پس از پروتئولیز روی می‌دهد. این تست هم همبستگی با مقدار GFR دارد اما مزیتی نسبت به کراتینین در آن یافت نشده است.

تخمین مستقیم GFR: اندازه گیری مستقیم GFR در دام‌های کوچک در شرایط زیر می‌تواند مفید باشد:

۱- در بیمارانی که مشکوک به بیماری کلیوی هستند (هنوز ازوتمیک نیستند)

۲- برای بررسی عملکرد کلیه‌ها در حین مصرف داروهای نفروتوکسیک

۳- برای بررسی عملکرد کلیه در تداخل‌های درمانی

در موارد بالا بررسی مستقیم GFR نسبت به اندازه‌گیری کراتینین برتری دارد. با این‌که فرض می‌شود اندازه‌گیری مستقیم GFR تست برتر و با حساسیت بیشتر است اما باید این نکته را مد نظر داشته باشیم که مقادیر نرمال GFR گسترده و بسیار وابسته به وزن است. روش پاک‌سازی ادراری برای تخمین GFR به دلیل نیاز به کنترل برای جمع آوری

ادرار عملا غیر ممکن است. به همین دلیل تخمین GFR به وسیله اندازه‌گیری پاک‌سازی سرم و پلاسما با یک ماده قابل تزریق است. این روش به دو صورت ممکن است. اول نمونه‌گیری‌های متوالی از خون برای بررسی محو شدن ماده تزریق شده از خون یا اگر ماده تزریق شده رادیواکتیو باشد بسته به تجمع ماده رادیواکتیو در پارانشیم کلیه به وسیله دوربین‌های گاما قابل بررسی است. برتری روش دوم بررسی GFR هر کلیه به صورت مجزاست که در مواردی همچون نفروکتومی اهمیت پیدا می‌کند.

تشخیص آزمایشگاهی کاهش GFR

عموما در بالین کاهش GFR با افزایش کراتینین در سرم/پلاسما همراه است. به این بیماران ازوتمیک می‌گویند که به معنی افزایش محصولات دفعی نیتروژنی در خون است. اوره هم از شاخص‌هایی مناسب برای تعیین کاهش GFR است اما به دلیل اثر پذیری از عوامل خارج کلیوی تعیین کراتینین ترجیح داده می‌شود. بعد از این‌که ازوتمی تشخیص داده شد در مرحله بعد نیاز هست نوع آن از جهت پیش کلیوی، کلیوی و پس کلیوی و همچنین حاد یا مزمن بودن بررسی شود. ازوتمی پیش کلیوی به علت افزایش ساخت محصولات نیتروژنی دفعی، کاهش پرفیوژن کلیوی، ازوتمی کلیوی به علت اختلال در عملکرد کلیه و ازوتمی پس کلیوی به علل انسداد مسیر ادراری و بازجذب ادرار از حفره بطنی به واسطه خروج آن از مجاری ادراری رخ می‌دهد.

دفع سهمی الکترولیت‌ها: ارگان اولیه برای دفع الکترولیت‌های اضافی و همچنین حفظ الکترولیت‌ها کلیه است. الکترولیت‌های آزاد در سرم آزادانه از گلومرول‌ها فیلتر شده و در توبول‌های پروکسیمال، لوپ هنله و لوله‌های دیستال بازجذب می‌شود. میزان بازجذب الکترولیت‌ها به عواملی همچون جیره غذایی، عملکرد کلیه، هورمون‌های مختلف (شامل پاراتیروئید و آلدوسترون) سرعت فیلتر شدن پلاسما و تنظیم تعادل برای دفع یا احتباس مایعات براساس حجم مایع موثر بستگی دارد. مجموع درصد دفع الکترولیت به نسبت غلظت آن الکترولیت در سرم و تصحیح بر اساس سرعت فیلتراسیون کراتینین در ادرار را دفع سهمی (Fractional Excretion) می‌گویند. چون عوامل مختلفی روی دفع سهمی الکترولیت‌ها موثر هستند به همین خاطر مقادیر مرجع مشخصی برای دفع سهمی وجود ندارد اما براساس قانون کلی دفع سهمی سدیم باید کمتر از ۱٪ باشد در صورتی‌که دفع سهمی پتاسیم زیاد (بیش از ۲۵٪) است. دفع سهمی بر اساس عوامل مختلف اندوژن یا اگزوژن کم یا زیاد می‌شود که در موارد کم یا زیاد شدن غلظت یک الکترولیت، تعیین مقدار دفع سهمی کمک زیادی در جهت تشخیص تفریقی دقیق می‌کند. برای تعیین مقادیر دفع سهمی یک الکترولیت باید حیوان به مدت یک هفته رژیم غذایی ثابتی داشته باشد تا اثر تغییرات غلظت الکترولیت‌ها در غذا به حداقل برسد. همچنین وضعیت آب بدن باید در طول یک هفته ثبات نسبی داشته باشد چون کلیه سالم سدیم را در جهت حفظ آب بازجذب می‌کند (با اثر آلدوسترون). تفسیر نتایج باید با در نظر گرفتن نکات زیر باشد:

۱- در حیوانات با غلظت سرمی زیاد یک الکترولیت انتظار دفع سهمی بیشتر آن الکترولیت هم می‌رود و البته بالعکس

۲- امکان بیماری‌های درون ریز که در دفع سهمی بعضی الکترولیت‌ها تداخل ایجاد می‌کند. برای مثال بالا بودن مقادیر هورمون پاراتیروئید در بیماران مبتلا به هایپر پاراتیروئیدیسم باعث تقویت بازجذب کلسیم و دفع فسفر می‌شود همچنین مقادیر ناکافی آلدوسترون (در بیماران دچار هایپوادرنوکورتیزیسم) باعث کاهش بازجذب سدیم و افزایش برداشت پتاسیم می‌شود.

۳- در بیشتر سگ‌ها و گربه‌های دچار نارسایی حاد یا مزمن کلیه غلظت سرمی الکترولیت ها علی‌رغم آسیب نفرون ها در محدوده نرمال باقی می‌ماند که به دلیل این است که نفرون‌های باقیمانده توانایی بازجذب یا دفع را دارند.

تشخیص ازوتمی کلیوی، پیش کلیوی و پس کلیوی: تشخیص پایه برای تفریق ازوتمی کلیوی از پیش کلیوی محاسبه وزن مخصوص ادرار است. اگر وزن مخصوص ادرار در سگ بیشتر از ۱/۰۳۰ و در گربه بیشتر از ۱/۰۳۵ باشد باید به ازوتمی پیش کلیوی توجه کرد اما باید به این نکته مهم توجه کرد که توانایی تغلیظ ادرار در گربه بالاست و به همین دلیل در

گربه‌های مبتلا به CKD هنوز وزن مخصوص ادرار ممکن است بالاتر از ۱/۰۳۵ حتی تا ۱/۰۴۰ باشد. همچنین در سگ‌ها و گربه‌های مبتلا به بیماری اولیه گلومرولی با وجود رخداد ازوتمی هنوز توانایی کلیه برای تغلیظ ادرار باقی می‌ماند. اما باید توجه داشت توانایی تغلیظ ادرار در ازوتمی پیش کلیوی به شرطی حفظ می‌شود که لوله‌های جمع آوری کننده و توبول از پس وظایف خود برآیند. اما در صورتی‌که تونیسیته بالای لوله‌های جمع آوری کننده مختل باشد (مثل هایپو آدرنوکورتیزیسم یا جیره غذایی که پروتیین حذف شده باشد) یا زمانی‌که تداخلی در کار توبول ها ایجاد شود (مثل مصرف مدر) یا اختلال در کار لوله های جمع آوری کننده (مثل بیماران دچار دیابت بی‌مزه اولیه یا ثانویه) در این صورت کلیه توانایی تغلیظ را از دست می‌دهند حتی اگر ازوتمی از نوع پیش کلیوی باشد. در این بیماران ازوتمی پیش کلیوی با تزریق وریدی مایعات یا قطع مصرف مدر مشخص می‌شود. عموما توجه و شک به ازوتمی پس کلیوی بر اساس تاریخچه، یافته‌های بالینی یا تصویربرداری تشخیصی در کنار یافته‌های کلینیکال پاتولوژی انجام می‌شود. به صورت کلی در صورت وجود مایعات در فضاهای صفاقی باید نمونه گیری و آنالیز آن انجام شود. غلظت بیش از دو برابر کراتینین در این مایع از خون نشان دهنده پارگی مجاری ادراری است (جدول‌های ۲ و ۳).

شاخص‌های تفریق ازوتمی پیش کلیوی، کلیوی و پس کلیوی
ازوتمی پیش کلیوی: وزن مخصوص ادرار ۰/۰۳۰ (در سگ)، برای گربه محدوده وزن مخصوص در نظر گرفته نمی‌شود. (در موارد پروتئین اوری شدید ممکن است مشکل اولیه گلومرولی باشد که در این موارد ادرار تغلیظ شده با وزن مخصوص بالا بیماری اولیه کلیوی را رد نمی‌کند.
ازوتمی کلیوی: وزن مخصوص در سگ‌ها در بازه ۱/۰۳۰-۱/۰۰۸ و در گربه در بازه ۱/۰۳۵-۱/۰۰۸ است. بعضی گربه‌ها در اوایل نارسایی کلیوی وزن مخصوص ادرار بیش از ۰/۰۳۵ دارند در صورتی‌که در سگ‌های دچار نارسایی کلیوی وزن مخصوص معادل ۰/۰۰۷-۱/۰۰۶ است.
ازوتمی پس کلیوی: به دلیل انسداد یا پارگی مجاری ادراری حیوان توانایی ادرار کردن را از دست می‌دهد. وزن مخصوص ادرار مقادیر متفاوتی دارد.

جدول ۲. شاخص‌های تفریق ازوتمی پیش کلیوی، کلیوی و پس کلیوی

بیماری‌ها یا شرایطی که منجر به قرار گرفتن وزن مخصوص ادرار در بازه ۱/۰۲۹-۱/۰۰۸ می‌شود
نارسایی کلیوی حاد یا مزمن
سپتی سمی با E.Coli، پیومتر، آبسه پروستات
هایپو آدرنوکورتیزیسم
هایپرکلسمی
هایپوناترمی شدید
هایپوکالمی شدید
کتواسیدوز یا دیابت ملیتوس هایپراسمولار
هایپرآدرنوکورتیزیسم همراه با دهیدرتاسیون
دیابت بی مزه همراه با دهیدرتاسیون (به ندرت)
نارسایی کبدی
پارگی یا انسداد مجاری ادرار
درمان ازوتمی پیش کلیوی با مایع درمانی یا تجویز مدر

جدول ۳. بیماری‌ها یا شرایطی که منجر به قرار گرفتن وزن مخصوص ادرار در بازه ۱/۰۲۹-۱/۰۰۸ می‌شود.

تشخیص ازوتمی حاد از مزمن: CKD عموما برای مواردی به کار می‌رود که بیماری کلیوی برای مدت بیش از سه ماه طول کشیده باشد. در واقع CKD زمانی رخ می‌دهد که تعداد زیادی از نفرون‌های عملکردی کلیه به صورت دائمی از کار بیفتند. این به معنی آن است که بدون توجه از زمان شروع بیماری، امکان بهبودی حتی با وجود هایپرتروفی نفرون‌ها و افزایش GFR امکان پذیر نباشد. اما در بیماران مبتلا به ضایعه کلیوی حاد (Acute kidney injury) شانس بهبودی وجود دارد. البته با توجه به شدت بیماری ممکن است حتی یوتانایز شوند یا تلف شوند. در بعضی بیماران هم این امکان وجود دارد که AKI مقدمه‌ای برای ابتلا به CKD باشد.

تشخیص بیماری حاد از مزمن براساس تاریخچه مریض و معاینه فیزیکی انجام می‌شود. کاهش وزن و کم‌خونی غیر جبرانی ممکن از نشانه‌های بیماران مبتلا به CKD باشد. دلیل کم‌خونی ممکن است متفاوت باشد اما اختلال نسبی در تولید اریتروپویتین احتمالا مهم‌ترین عامل است. البته در بیماران مبتلا به AKI هم ممکن است آنمی با دلایل مختلفی از جمله مصرف مایعات زیاد، لپتوسپیروز یا هایپوآدرنوکورتیزیسم روی دهد. ضمن این‌که خونریزی و همولیز می‌تواند شروع کننده AKI باشد. هایپرکالمی عموما همراه با AKI به خصوص در موارد پس کلیوی آن روی می‌دهد. همچنین هایپرکالمی در

سگ‌های مبتلا به CKD که رژیم غذایی کلیوی می‌خورند به ویژه اگر همراه با مهارکننده (Angiotensin converting enzyme:ACE) و بلوک کننده رسپتورهای آنژیوتانسین باشد نیز رخ می‌دهد. آزمایش کامل ادرار اطلاعات ارزشمندی در مورد ازوتمی و دلایل آن می‌دهد. برای مثال پیوری، باکتری‌یوری و کست گلبول‌های سفید ممکن است همراه با پیلونفریت، کریستال‌های کلسیم اگزالات منوهیدرات در مسمومیت با ضدیخ یا گلوکزاوری بیانگر اختلال در توبول‌های پروکسیمال است. پیلونفریت و اختلال در توبول‌های پروکسیمال می‌تواند حاد یا مزمن باشد. مقادیر زیاد کست گرانولار و کست سلول‌های اپی‌تلیال توبولی بیانگر نکروز حاد توبولار (ATN) است. همچنین اندازه کلیه می تواند اطلاعات خوبی در مورد نوع ازوتمی بدهد. در بیماری های حاد کلیوی، با اندازه نرمال یا افزایش یافته کلیه مواجه هستیم و در بیماری‌های مزمن عموما با کوچک شدن و نامنظم شدن در شکل کلیه‌ها مواجهیم. همچنین ملامسه کلیه در گربه اطلاعات بیشتری نسبت به سگ فراهم می‌آورد. تصویربرداری تشخیصی اطلاعات مناسبی در مورد بررسی اندازه و شکل همراه با بررسی مینرالیزاسیون در کلیه‌ها و البته بررسی کلی قوام و ساختار در اختیار ما قرار می‌دهد.

یافته‌های آزمایشگاهی در بیماران کلیوی

فسفات: در بیماران کلیوی به دلیل کاهش GFR مقادیر فسفات فیلتر شده کاهش می‌یابد و مقادیر فسفات در خون رو به افزایش است. این رخداد را در اختلالات مزمن و حاد کلیوی می‌بینیم. اما رویدادهایی که به دنبال افزایش مداوم فسفات روی می‌دهد از قبیل بزرگ شدن غده پاراتیروئید و دمینراله شدن استخوان‌ها به دلیل زمان بر بودن در موارد مزمن اختلال کلیوی دیده می‌شود. در حالت نرمال بخش عمده فسفات از محل توبول‌های پروکسیمال بازجذب می‌شود روندی که با اثر هورمون پاراتیروئید و فاکتور رشد فیبروبلاست مهار می‌شود. هایپرفسفاتمی در CKD از نشانه‌های مرگ و میر بیشتر و کاهش شانس بهبودی است. غذای‌های مخصوص بیماران کلیوی به دلیل این‌که فسفات اندکی دارند باعث افزایش مدت زنده مانی در سگ و گربه می‌شوند. بر همین اساس برای بیماران CKD غلظت‌های هدف فسفات تعریف شده است. رسیدن به غلظت‌های پایین فسفات در بیمارانی که وضعیت وخیم‌تری دارند سخت‌تر است. در مورد فسفات حتما باید در آزمایشگاه به این نکته توجه شود که همولیز و طولانی شدن جدا کردن سرم باعث افزایش کاذب فسفات می‌شود (جدول ۴).

IRIS Stage	Target plasma/serum phosphate (mmol/lit)
1	Not applicable
2	0.81-1.45
3	0.81-1.61
4	0.81-1.94

جدول ۴. مقادیر فسفات در بیماری‌های کلیوی (IRIS:International Renal Interest Society)

کلسیم: غلظت‌های کلسیم یونیزه در سرم و پلاسمای بیماران مبتلا به CKD معمولا مقادیر نرمال یا کاهش یافته دارد. کاهش مقادیر کلسیم باعث تحریک ترشح PTH می‌شود. اطلاعات کمی برای بیماران مبتلا به AKI موجود است. برخلاف کلسیم یونیزه که در بیماران CKD میل به کاهش دارد غلظت کل کلسیم در این بیماران افزایش یافته یا نرمال است. این اختلاف به دلیل این است که کلسیم کل مجموع کلسیم یونیزه، کلسیم متصل به پروتیین و کلسیم کمپلکس است. کمپلکس کلسیم و غلظت کل کلسیم در بیماران مبتلا به نارسایی کلیه به دلیل احتباس آنیون‌های آلی و غیر آلی مثل سیترات، فسفات و سولفات افزایش می‌یابد. بسیار مهم است که اگر مقادیر کلسیم تام افزایش یافته است بین هایپرکلسمی با اختلال اولیه و هایپرکلسمی به دنبال نارسایی کلیه تمایز داده شود. این مهم با اندازه‌گیری مقادیر کلسیم یونیزه میسر می‌شود. اگر مقادیر کلسیم یونیزه در بیمار نرمال یا کاهش یافته باشد ازوتمی مشکل اولیه است و اگر غلظت کلسیم یونیزه در بیمار ازوتمیک افزایش یافته باشد این یک مشکل اولیه است و احتمالا ازوتمی از نوع ثانویه است. ازوتمی پیش کلیوی در بیماران هایپرکلسمیک می‌تواند به دنبال انقباض عروقی در کلیه‌ها و کاهش مایعات (به دلیل استفراغ و مایعات ناکافی در حیوان پلی‌یوریک) روی دهد که در این حالت ممکن است با مایع درمانی بهبود یابد. با این‌که ازوتمی

از نوع پیش کلیوی است اما ممکن است وزن مخصوص ادرار به میزان نامتناسبی کم باشد که به دلیل تداخل کلسیم با عملکرد ADH در نفرون‌های دیستال رخ می‌دهد. اگر هایپرکلسمی به صورت طولانی باقی بماند احتمالا صدمات جبران ناپذیری به دلیل رسوب کلسیم در پارانشیم کلیه روی می‌دهد.

PTH, FGF-23, Vitamin D: در بیماران CKD افزایش ترشح PTH به دلیل هایپرپاراتیروئیدیسم ثانویه کلیوی رخ می‌دهد. از گذشته PTH به دلیل همبستگی با نرخ مرگ و میر به عنوان فاکتور معمول برای کنترل و درمان بیماران CKD در انسان استفاده شده است. همبستگی PTH با نرخ مرگ و میر در حیوانات هم احتمالا وجود دارد. ثابت شده که جیره‌های غذایی با فسفات پایین باعث کاهش شدت هایپرپاراتیروئیدیسم و بهبود زنده‌مانی می‌شود. مطالعات پزشکی در دهه اخیر معطوف به یافتن هورمون‌های دیگر شبیه به PTH بوده‌اند. اصطلاح (CKD-Mineral bone and disorder:MBD) اختلال سیستمیک در متابولیسم استخوانی و معدنی است که با یک یا چند مورد از تظاهرات زیر همراه است:

۱- متابولیسم غیرطبیعی کلسیم، فسفر، PTH و ویتامین D

۲- اختلال در بازجذب و رسوب استخوانی، معدنی شدن، حجم و استحکام

۳- رسوب کلسیم در عروق و دیگر بافت‌های نرم

اهمیت فاکتورهای مختلف در CKD-MBD با توجه به مرحله بیماری متفاوت است. در همان مرحله ابتدای بیماری حتی قبل از ازوتمیک شدن بیمار ترشح FGF-23 از استئوبلاست و استئوسیت در پاسخ به کاهش پاک‌سازی فسفات در کلیه‌ها آغاز می‌شود. FGF-23 به صورت برگشت پذیر عملکرد آنزیم 1-alpha hydroxylase را مهار و به دنبال آن تولید 1.25dihydroxyvitamin-D (calcitriol) کاهش می‌یابد. کاهش کلسیتریول باعث افزایش ترشح PTH در مراحل پایانی بیماری می شود. عملکرد هر دو FGF-23 و PTH در جهت افزایش دفع فسفات از کلیه است. PTH همچنین باعث افزایش جابه‌جایی کلسیم و فسفات از استخوان‌ها می‌شود. در مراحل ابتدایی CKD عملکرد FGF-23 و PTH برای تصحیح مقادیر فسفات و کلسیم خون کافی است. با پیشرفت بیماری همچنان بازجذب فسفات از نفرون‌ها در حداقل است و افزایش PTH و FGF-23 به دنبال آن باعث افزایش بازجذب نمی‌شود. ترشح فسفات بسیار وابسته به GFR است و افزایش فسفات همراه با کاهش GFR اجتناب ناپذیر است. در مراحل پیشرفته CKD فعالیت هیدروکیسلاز به شکل برگشت ناپذیر کاهش یافته و هایپرفسفاتمی و کاهش کلسیم یونیزه باعث تحریک ترشح PTH می‌شود. در دامپزشکی هنوز اندازه‌گیری این هورمون‌ها به صورت معمول و بالینی در موارد CKD توصیه نمی‌شود اما موضوع بسیاری از مطالعات دامپزشکی است که احتمالا به سرعت پیشرفت و تغییر می‌کنند.

پتاسیم: در گربه‌های ازوتمیک و مبتلا به CKD هایپوکالمی یک یافته معمول است. دلیل این رویداد نامشخص است اما به نظر دلالیل متفاوتی داشته باشد. ساز و کارهای پیشنهادی شامل دریافت غذای ناکافی، افزایش دفع کلیوی و افزایش نسبی آلدوسترون هستند. هایپوکالمی در سگ‌های مبتلا به CKD غیر معمول است مگر این‌که آن‌ها مایعات وریدی بدون پتاسیم دریافت کرده باشند. هایپرکالمی در بیماری‌های حاد کلیوی معمول است به خصوص اگر بیمار آنوریک باشد.

وضعیت اسید و باز: در بیماران مبتلا به نارسایی حاد کلیوی اسیدوز متابولیک دیده می‌شود که شدت آن متناسب با ازوتمی است. استثنا در مسمومیت با اتیلن گلیکول، اسیدوز ایجاد شده مربوط به متابولیت های خود گلیکولیک اسید در گردش خون است. اسیدوز متابولیک ممکن است در مراحل انتهایی CKD هم ایجاد شود. علت اسیدوز کاهش آمونیوژنز و ناتوانی برای ترشح یون هیدروژن است. احتباس فسفات و اسیدهای ارگانیک (اوریک، هیپوریک و اسید لاکتیک) ممکن است منجر به افزایش آنیون گپ شود.

کلسترول: در سگ‌ها و گربه‌های مبتلا به CKD به خصوص آن‌هایی که درگیری در ناحیه توبولار و اینترستیشیال غالب است افزایش کلسترول دیده می‌شود. مکانیسم این پدیده بررسی نشده است. احتمالا غلظت دیگر لیپیدها هم دستخوش تغییر می‌شود اما در مورد حیوانات به خوبی نشان

داده نشده است.

بیومارکرهای ادراری معمول برای بررسی آسیب کلیوی

آلبومین ادرار/میکروآلبومینوری: در حیوان سالم به دلیل اندازه و شارژ، آلبومین از گلومرول‌ها فیلتر نمی‌شود اما آسیب به گلومرول‌ها باعث افزایش عبور آلبومین از سد گلومرولی و آلبومینوری می‌شود. با این‌که تست معمول برای بررسی حضور آلبومین در ادرار با استفاده از نوار ادراری است اما باید در نظر داشت که این روش غلظت حداقل ۳۰ mg/dl و بیشتر را نشان می‌دهد. غلظت آلبومین نرمال در ادرار سگ و گربه بسیار کمتر از این مقدار است و با وجود تفاوت‌های گونه‌ای بیشترین مقدار نرمال ۱ mg/dl است. محدوده بین ۱-۳۰ mg/dl را میکروآلبومینوری (Malb) و مقادیر بیشتر از ۳۰ mg/dl را پروتیین اوریا می‌گویند. تشخیص میکروآلبومینوری باعث کمک به تشخیص زود هنگام پروتیینوری پاتولوژیک که می‌تواند در موارد بیماری‌های گلومرولی اولیه یا در بیماری‌های التهابی خارج کلیه که در نهایت به کلیه آسیب می‌زنند رخ دهد. میکروآلبومینوری می‌تواند به سه دسته پیش کلیوی، کلیوی و پس کلیوی طبقه بندی شود. میکروآلبومینوری تقریبا در یک سوم سگ و گربه های بیمار مراجعه کننده با دلایل مختلف به بیمارستان‌های آموزشی دیده شده است. سگ‌های مبتلا به لنفوم و استئوسارکوم گاهی نسبت پروتیین به کراتینین نرمال و البته میکروآلبومینوری دارند. سگ‌های مبتلا به کرم قلب قبل از پروتیینوری میکروآلبومینوری دارند و شواهد هیستوپاتولوزیک هم نشان دهنده آسیب گلومرولی است. سایر موارد التهابی مثل نارسایی کلیوی، پانکراتیت و بیماری‌های قلبی عروقی هم در سگ همراه با میکروآلبومینوری هستند. با این وجود هنوز مشخص نیست وجود میکروآلبومینوری با پروگنوز بیماری یا آسیب گلومرولی در ارتباط باشد. برخلاف انسان در سگ فعالیت بدنی شدید باعث میکروآلبومینوری نمی‌شود. در گربه میکروآلبومینوری به دنبال بیماری‌های مزمن کلیوی، افزایش فشار خون یا هایپرتیروئیدیسم است و افزایش میزان میکروآلومینوری با کاهش شانس زنده‌مانی در ارتباط است.

نسبت GGT به کراتینین ادرار: اندازه‌گیری GGT در سگ و گربه بیشتر در موارد بیماری‌های کبدی و مجاری صفراوی کاربرد دارد. اما GGT در دیگر بافت‌ها از جمله در راس سلول‌های اپی‌تلیال توبول‌های پروکسیمال هم وجود دارد که مقادیر اندکی از آن وارد ادرار می‌شود. برخی مطالعات در سگ و گربه نشان داده که نسبت GGT به کراتینین به عنوان یک مارکر با حساسیت بالا قبل از بالا رفتن کراتینین در سرم، کاهش GFR، کاهش وزن مخصوص ادرار یا حضور کست در رسوب ادرار برای آسیب های توبولار مطرح است. در سگ‌های دریافت کننده جنتامایسین که به نارسایی کلیه منجر می‌شود بعد از ۲۴ ساعت افزایش نسبت GGT به کراتینین رخ می‌دهد در صورتی‌که افزایش کراتینین در سرم تا ۷ روز پس از مصرف دارو افزایش نمی‌یابد. همچنین در سگ‌های ماده مبتلا به پیومترا افزایش نسبت GGT به کراتینین قبل از برداشت رحم و تخمدان رخ می‌دهد که پس از جراحی در طی مدت ده روز کاهش می‌یابد.

GGT ادرار بسیار حساس است و نمونه در مدت ۲۴ ساعت باید اندازه‌گیری یا فریز شود. مقدار مرجع برای نسبت GGT به کراتینین طیف وسیع (۱/۹۳-۲۸/۵۷ IU/g) دارد. معمولا در بالین اندازه‌گیری سریال نسبت GGT به کراتینین به مقایسه آن با رفرنس رنج ارجحیت داده شده است.

بیومارکرهای ادراری بررسی آسیب کلیوی

Cystatin C: سیستئین سی (Cys C) یک مهارکننده پروتئیناز خارج سلولی است که توسط همه سول‌های هسته‌دار ساخته می‌شود و آزادانه از گلومرول‌ها فیلتر و توسط توبول‌ها بازجذب می‌شود. غلظت سرمی Cys C به دنبال کاهش GFR افزایش یافته و غلظت ادراری آن پس از آسیب توبولار افزایش می‌یابد. یک مطالعه در سگ‌های دچار آسیب حاد و مزمن کلیوی نشان داد که نسبت دفع Cys C به کراتینین نسبت به سگ‌های سالم افزایش یافته است. در حال حاضر هنوز به صورت معمول آزمایش نمی‌شود و بیشتر در جهت مقاصد پژوهشی اندازه‌گیری می‌شود.

Interleukin 18: اینترلوکین ۱۸ (IL-18) یک اینترلوکین تقویت کننده التهاب است که با اثر روی سلول‌های T کمکی

باعث ترشح اینترفرون گاما و تقویت ترشح کمپلمان‌های فعال کننده زیر گروه ایمنوگلوبین G می‌شود. غلظت IL-18 در سرم و ادرار افراد دچار آسیب حاد، مزمن کلیوی و بیماران گلومرولار افزایش می‌یابد. افزایش mRNA مربوط به IL-18 یا افزایش غلظت سرمی آن در سگ‌های مبتلا به بسیاری از بیماری‌های التهابی از جمله التهاب خود ایمن تیروئید، Immune-Mediated Hemolytic Anemia (IMHA) و آسپرژیلوس فصلی دیده می‌شود که با افزایش این اینترلوکین در سگ‌های دچار IMHA شانس مرگ و میر هم افزایش می‌یابد. در دامپزشکی با این‌که مشخص است که محل بیان IL-18 در سلول‌های Madin-Darby کلیه سگ قرار دارد اما مطالعات In vivo در سگ‌هایی که به صورت تجربی یا طبیعی دچار جراحات کلیوی شده باشند تا به حال انجام نشده است.

Kidney injury molecule-1: KIM-1 یک پروتیین ناقل است که در توبول‌های پروکسیمال طبیعی وجود دارد و با غلظت اندک در ادرار دفع می‌شود. در صورت آسیب کلیوی به سرعت بیان KIM-1 افزایش یافته و باعث افزایش نسبت KIM-1 به کراتینین می‌شود. در مورد انسان در موارد ایسکمی، نفروتوکسیک یا آسیب‌های عفونی، کلیه پلی‌سیستیک و نئوپلازی کلیوی افزایش می‌یابد. با این‌که در شرایط In vitro بیان KIM-1 در سلول‌های کلیوی سگ ثابت شده اما هنوز در شرایط In vivo مطالعه‌ای انجام نشده است. در حال حاظر این تست در سگ جهت اهداف پژوهشی قابل انجام است.

N-acetyl-ß-D-glucosaminidase: NAG یک پروتیین درون سلولی است که در کاتابولسیم گلیکوزآمینوگلیکان نقش دارد. گلیکوپروتیین‌ها توسط توبول‌های پروکسیمال بازجذب و توسط NAG و دیگر آنزیم‌های لیزوزومال شکسته می‌شوند. در افراد دچار آسیب توبول‌های پروکسیمال به خصوص در آسیب‌های حاد کلیوی مقدار دفع توسط کلیه‌ها افزایش می‌یابد. نسبت NAG به کراتینین در ادرار سگ‌های دچار نارسایی مزمن کلیوی، پیلونفریت، دیابت ملیتوس کنترل نشده، پیومتر یا نفروپاتی وابسته به X افزایش می‌یابد اما قبل یا بعد از کنترل هایپرآدرنوکورتیزیسم قابلیت تشخیصی ندارد. در گربه‌ها افزایش نسبت NAG به کراتینین در بیماری‌های مزمن کلیوی افزایش می‌یابد.

Neutrophil gelatinase-associated Lipocalin: NGAL یک پروتئین داخل سلولی در هپاتوسیت‌ها، گرانول‌های نوتروفیل و سلول‌های اپی‌تلیال شامل سلول‌های اپی‌تلیال توبولار قسمت صعودی لوپ هنله و لوله‌های جمع‌آوری کننده است. در حالت طبیعی بیان NGAL مختصر است اما در صورت وقوع التهاب بیان آن افزایش یافته و باعث احتباس آهن و با توقف عملکرد متالوپروتئینازها از رشد باکتری ها جلوگیری می‌کند. در انسان نسبت NGAL به کراتینین ادرار در آسیب‌های التهابی حاد کلیه افزایش یافته و حساسیت بالایی دارد و البته در آسیب‌های مزمن و پیشرونده هم افزایش می‌یابد. مطالعات اندکی در سگ در جهت کاربرد موثر NGAL به عنوان بیومارکر آسیب‌های کلیوی انجام شده که نشان دهنده افزایش آن قبل از افزایش کراتینین در سرم به دنبال اثر نفروتوکسیک جنتامایسین یا نفروپاتی وابسته به X و در سگ‌های دچار آسیب‌های حاد و مزمن کلیه است. هم اکنون تست ادراری NAGAL در سگ جهت مقاصد پژوهشی در دسترس است.

Retinol binding protein: RBPs یک کمپلکس حمل کننده رتینول (Vitamin A) است. در پلاسما کمپلکس RBP و رتینول به ترنس تایرتین متصل شده که از عبور پروتیین با وزن مولکولی پایین RBP (۲۱ کیلودالتون) از سد گلومرولی جلوگیری می‌کند. در نبود رتینول RBP توانایی اتصال به ترنس تایرتین را از دست می‌دهد و از سد گلومرولی عبور کرده و توسط توبول‌های پروکسیمال بازجذب می‌شود. آسیب به سلول‌های اپی‌تلیال باعث اختلال در بازجذب RBP و افزایش نسبت RBP به کراتینین در ادرار می‌شود. همچنین در سگ‌های مبتلا به آسیب مزمن کلیوی، هایپرآدرنوکورتیزیسم، نفروپاتی‌های وابسته به X و گربه‌های هایپرتیروئیدیسم هم افزایش دفع RBP دیده شده است. اندازه‌گیری RBP در ادرار هم هنوز به صورت معمول و در بالین استفاده نمی‌شود.

منابع

1. Meuten D. Laboratory evaluation and interpretation of the urinary system. In: Thrall MA, Weiser G, Allison R, Campbell T, editors. *Veterinary hematology and clinical chemistry*, 2ed ed. John Wiley & Sons; 2012. p. 323-376.
2. Syme HM: Laboratory evaluation of renal disorders. In: Villiers E, Ristic J, editors. *BSAVA manual of canine and feline clinical pathology*, 3rd ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association; 2016. p. 219-236.
3. Pressler BM. Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2013; 45: 1193-1208.
4. Hokamp JA. Renal biomarker in domestic species. *Vet Clin Pathol* 2016; 45 (1): 28-56.

Abstract in English

Laboratory diagnosis of renal diseases in small animal practice

Morteza Hasanabadi[1*], Saba Ahmadi[1], Mehrdad Mohri[2]

1. Resident of Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

2. Prof. Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

[*]hassanabadi.morteza@mail.um.ac.ir

Common tests for evaluating renal function include the measurement of urea and creatinine. However, indirect markers for the determination of GFR, such as Cystatin C and Symmetrical Dimethyl Arginine, are in developing. In the next step, for diagnosis and treatment, azotomia should be classified into one of the pre-renal, renal and post-renal groups. In the next step, it is necessary of categorizing the disorder to acute or chronic failure. Diagnosis of chronic or acute illness is done based on the history of the patient and physical examination. Weight loss and non-regenerative anemia may be signs of patients with CKD.Another useful test is urine analysis. A urine test prepared valuable information about azotemia and its causes. Additional tests are also available to diagnose kidney failure such as phosphorus, calcium, potassium, acid-base status, cholesterol, urine albumin, and GGT to urine creatinine ratio. Newbiomarkers such as Cystatin C, a Kidney injury molecule, and Neutrophil gelatinase-associated Lipocalinare also being studied and commercialized for early diagnosis of kidney disease, but they have not yet been clinically available for veterinary use.

Key words: Kidney, Clinical biochemistry, Azotemia, Urine analysis

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

یافته‌های آزمایشگاهی پانکراتیت حاد در سگ و گربه

نیلوفر عابدی[۱]، مهدیه زعیمی*[۲]

۱. رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استادیار کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

*zaeemi@um.ac.ir

چکیده

پانکراتیت شایع‌ترین بیماری بخش اگزوکرین پانکراس در سگ و گربه است. پانکراتیت بیماری التهابی حاد است که با نکروز و ادم مشخص می‌شود. فعال شدن زود هنگام تریپسین در سلول‌های آسینی پانکراس منجر به بروز آبشاری از واکنش‌هایی می‌شود که به آسیب و هضم بافت پانکراس ختم می‌گردد. علایم بالینی در سگ‌ها و گربه‌های مبتلا غیر اختصاصی است. سگ‌ها اغلب علایم گوارشی را بروز می‌دهند در حالی‌که بی‌اشتهایی و بی‌حالی از یافته‌های متداول پانکراتیت حاد در گربه‌ها می‌باشد. پانکراتیت حاد ممکن است شوک قلبی عروقی، انعقاد داخل عروقی منتشر، یا از کار افتادن چندین عضو و مرگ را نشان دهند. تشخیص پانکراتیت حاد در سگ و گربه دشوار است. روش‌های تشخیصی متعددی در طی سالیان گذشته برای تشخیص پانکراتیت مطرح شده است که اکثر آن‌ها به دلیل عملکرد ضعیف، در دسترس نبودن و یا تهاجمی بودن قابل استفاده نیستند. روش‌های تصویربرداری متعددی نیز استفاده می‌شود که به جز اولتراسونوگرافی هیچکدام برای تشخیص پانکراتیت کاربردی نیستند. تست‌های آزمایشگاهی متعددی شامل اندازه‌گیری فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی وجود دارد که متاسفانه اختصاصی پانکراتیت نمی‌باشد و تنها در رد سایر بیماری‌ها کمک کننده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تست‌های تشخیصی اختصاصی‌تر بیماری پانکراتیت حاد در دام‌های کوچک است.

واژه‌های کلیدی: دام‌های کوچک، پانکراتیت، PLI، TLI، TAP

مقدمه

پانکراس یک ارگان دو قسمتی با دو عملکرد درون‌ریز و برون‌ریز است. سلول‌های درون‌ریز در جزایر لانگرهانس متمرکز می‌شوند و تنظیم مقدار گلوکز خون بر عهده دارند. قسمت برون‌ریز پانکراس از اپی‌تلیوم گرانولار تشکیل شده است که حدود ۸۰٪ آن را مجاری آسینی تشکیل می‌دهد. این ارگان در محوطه شکمی پشت معده قرار گرفته است. در سگ دو مجرای پانکراسی وجود دارد که این مجاری در اغلب سگ‌ها قبل از ورود به دئودنوم به مجاری صفراوی متصل نمی‌شوند. در گربه فقط یک مجرای پانکراسی وجود دارد که

معمولا درست قبل از وارد شدن به دئودنوم به مجاری مشترک صفراوی متصل می‌شود.

اتیولوژی پانکراتیت حاد

علت‌های سبب شناختی التهاب پانکراس به طور کامل شناسایی نشده است اما به طور خلاصه شامل عوامل مکانیکی، عفونی ایسکمی، تغذیه‌ای و سایر موارد می‌شود. رفلاکس صفرا از مجاری صفراوی به مجرای پانکراس و همچنین پس زدن اسیدهای چرب از دوازدهه به پانکراس پس از خوردن یک غذای پر چرب می‌تواند منجر به بروز پانکراتیت حاد شود. تروما و همچنین سنگ‌های پانکراسی نیز از عوامل فیزیکی بروز پانکراتیت است. سگ‌ها و گربه‌ها در هر سن، نژاد و جنسی می‌وانند به پانکراتیت مبتلا شوند اما اغلب سگ و گربه‌های مبتلا میانسال یا سن بالا (اغلب بالای ۵ سال) هستند. تحقیقات نشان داده است که احتمال ابتلا به پانکراتیت در نژادهای Miniature Schnauzer و Terrier خصوصا Yorkshire Terrier بیشتر است. هایپرلیپیدمی ایدیوپاتیک در نژاد Miniature Schnauzer شایع است و اغلب در سگ‌های مبتلا به پانکراتیت حاد رخ می‌دهد. هنوز مشخص نیست که هایپرلیپیدمی علت پانکراتیت است یا از عوارض آن است.

عوامل خطر در سگ شامل چاقی، رژیم‌های غذایی پرچرب، طیف وسیعی از داروها، مسمومیت با روی، هایپرکلسمی، تروما، ایسکمی، انسداد مجاری صفراوی، نئوپلازی و عوامل عفونی است. در بسیاری از گربه‌ها پانکراتیت همراه با بیماری‌های التهابی روده و مجاری صفراوی همراه است که با عنوان التهاب سه‌گانه (Triaditis) شناخته می‌شود. همچنین آلودگی‌های ترماتودی کبد یا پانکراس نیز می‌تواند منجر به پانکراتیت شود. سایر عوامل خطر در گربه مشابه سگ است.

پاتوفیزیولوژی پانکراتیت حاد

پانکراس بسیار به ایسکمی حساس است و ایسکمی بعنوان یکی از عوامل آغازگر یا تشدید کننده پانکراتیت حاد مطرح است. کاهش میزان گردش خون در پانکراس می‌تواند به دنبال آزادسازی مواد وازواکتیو نظیر هیستامین، پروستاگلاندین‌ها، فاکتور سرکوب کننده میوکارد، رادیکال‌های آزاد و کینین رخ دهد. در شرایط ایسکمی تریپسینوژن به تریپسین تبدیل می‌شود و باعث فعال‌سازی سایر واسطه های التهاب می‌شود. تریپسین با فعال‌سازی پروالاستاز به الاستاز منجر به بروز آسیب‌های عروقی، خونریزی و ترومبوز و در نهایت نکروز بافتی می‌شود. همچنین فعال‌سازی سیستم کالیکرئین–کینینوژن به واسطه شرایط ایسکمی یا به واسطه تریپسین، منجر به افزایش برادی‌کینین شده که این ترکیب هم اثرات فعال کنندگی بر آبشار انعقادی دارد و هم این‌که باعث مهاجرت لکوسیت‌ها به موضع می‌گردد. از طرفی فسفولیپاز فعال شده توسط برادی‌کینین منجر به افزایش تولید پروستاگلاندین‌ها و فاکتور فعال کننده پلاکتی می‌شود که خود عامل افزایش نفوذپذیری عروق، ادم، التهاب و نکروز بافتی خواهد بود (شکل ۱).

علایم بالینی

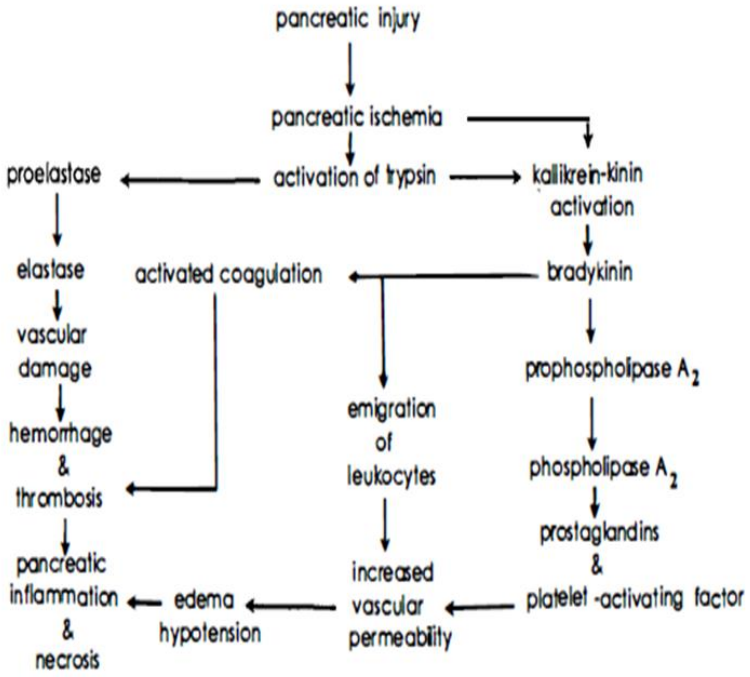
سگ‌ها و گربه‌های مبتلا به پانکراتیت حاد ممکن است درگیر شوک قلبی عروقی، انعقاد داخل عروقی منتشر (Disseminated intravascular coagulation:DIC)، از کار افتادن چندین عضو و در نهایت مرگ شوند. هیچ نشانه بالینی اختصاصی برای پانکراتیت سگ وجود ندارد. پانکراتیت حاد در سگ‌ها معمولا با بی‌اشتهایی ناگهانی، ضعف، استفراغ، اسهال و یا درد شکمی همراه می‌شود البته حیوان ممکن است یک یا چند مورد از این علائم را نشان دهد. ممکن است در معاینه بالینی در برخی سگ‌ها دهیدراتاسیون، درد شکمی، زردی، تب یا هیپوترمی، خونریزی یا آسیت دیده شود.

علائم بالینی در گربه‌ها مشابه سگ است اما یک تفاوت مهم این است که اغلب گربه‌های مبتلا درگیر بی‌اشتهایی و یا بی‌حالی می‌باشند. علائم مربوط به دستگاه گوارش از شیوع کمتری برخوردار است و شامل استفراغ، کاهش وزن و اسهال می‌شود. شایع‌ترین یافته در معاینه بالینی کم آبی، رنگ پریدگی و زردی است. به تاکی‌پنه و یا دیس‌پنه، هیپوترمی یا تب، تاکی‌کاردی، درد شکمی و توده قابل لمس در محوطه بطنی نیز باید توجه کرد. گاهی ممکن است که در گربه‌های

مبتلا به پانکراتیت حاد نیز همانند سگ‌ها علائم شدید عمومی نظیر DIC، ترومبوآمبولی ریوی، شوک قلبی عروقی و از کار افتادن چندین عضو دیده شود. لازم به ذکر است که پانکراتیت مزمن در گربه‌ها شایع‌تر از پانکراتیت حاد است.

به دلیل این‌که علائم بالینی در این بیماری غیر اختصاصی است و بر اساس شدت بیماری متفاوت می‌باشد، انجام تست‌های آزمایشگاهی، تصویربرداری و گاهی بیوپسی پانکراس برای تشخیص به کار گرفته می‌شود. تشخیص قطعی نیاز به بررسی بافت شناسی پانکراس دارد که شواهدی از التهاب چرکی، نکروز و ادم نشان دهنده پانکراتیت حاد است.

تست‌های آزمایشگاهی زیادی جهت تشخیص پانکراتیت حاد وجود دارد اما اغلب آن‌ها محدودیت‌هایی دارند. برای مثال فعالیت سرمی آنزیم‌هایی مانند آمیلاز و لیپاز اندازه‌گیری می‌شود اما این تست‌ها ویژگی و حساسیت پایینی در تشخیص پانکراتیت دارند. پروفایل بیوشیمیایی حساسیت و ویژگی مناسبی برای تشخیص پانکراتیت ندارند بنابراین نمی‌توانند برای تشخیص قطعی پانکراتیت استفاده شوند.



شکل ۱. پاتوفیزیولوژی پانکراتیت حاد

تست‌های تشخیصی پانکراتیت حاد

اندازه‌گیری فعالیت سرمی لیپاز: از آنجا که تست‌های آنزیمی به طور همزمان فعالیت سرمی لیپاز پانکراس و سایر بافت‌ها را اندازه‌گیری می‌کنند، بنابراین افزایش فعالیت لیپاز سرم برای تشخیص آسیب پانکراس اختصاصی نیست. فعالیت سرمی لیپاز اغلب در گربه‌های مبتلا به پانکراتیت نرمال است به همین دلیل برای تشخیص پانکراتیت حاد در این‌گونه مناسب نیست. اندازه‌گیری لیپاز به عنوان یک تست غربالگر برای تشخیص پانکراتیت حاد در سگ بکار می‌رود اما با این حال حساسیت و ویژگی برای تشخیص پانکراتیت ندارد. به طور کلی افزایش فعالیت لیپاز بیشتر از ۵-۳ برابر حد بالای مرجع می‌تواند نشان دهنده پانکراتیت حاد در سگ باشد و بهتر است برای ارزیابی دقیق‌تر از (Canine pancreatic lipase immunoreactivity) cPLI، تصویربرداری و بیوپسی پانکراس استفاده کرد.

اندازه‌گیری فعالیت سرمی آمیلاز: در حیوانات فقط آلفا آمیلاز وجود دارد که پانکراس، کبد و روده کوچک منابع اصلی آمیلاز سرم هستند. آمیلاز توسط گلومرول‌های کلیه فیلتر شده و توسط توبول ها مجددا بازجذب و غیر فعال می‌شود. سلول‌های کوپفر کبدی نیز مقادیر کمی از آمیلاز را بازجذب و غیر فعال می‌کنند. در سگ ۴ ایزوآنزیم آمیلاز شناسایی شده است که شامل کمپلکس‌های آمیلاز متصل شده به پروتئین هستند که نیمه عمر بیشتری نسبت به فرم غیر کمپلکس دارد. مطالعات نشان داده است که فعالیت آمیلاز سرم در ۱۲ تا ۴۸ ساعت پس از ایجاد فرم تجربی پانکراتیت حاد در سگ به بیشترین میزان رسیده و پس از ۸ تا ۱۴ روز مجدد به حد پایه باز می‌گردد و این نشان می‌دهد که هایپرآمیلازمی می‌تواند شاخصی از تخریب آسینی‌های پانکراس و یا انسداد مجاری آن باشد. البته لازم به ذکر است که غلظت سرمی آمیلاز ممکن است بدنبال آسیب های خارج پانکراسی نیز افزایش یابد که بعضی از آن‌ها حتی علایم بالینی مشابه پانکراتیت حاد دارند. بافت‌های مختلفی چون کلیه، روده و رحم ، تخمدان و بیضه‌ها نیز دارای فعالیت بالای آمیلاز هستند. در جدول ۱ به طور خلاصه به علل افزایش فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز سرم اشاره شده است.

علل افزایش فعالیت سرمی آمیلاز: پانکراتیت حاد، دیابت ملیتوس، بیماری کلیوی، بیماری‌های کبدی-صفراوی، بیماری‌های گوارشی، نئوپلازی،رجراحی پانکراس

علل افزایش فعالیت سرمی لیپاز: پانکراتیت حاد، بیماری کلیوی، پریتونیت، گاستریت/ انتریت، انسداد روده، بیماری کبدی، دستکاری احشایی حین جراحی، نئوپلازی، مصرف کورتیکواستروئیدها

جدول ۱. علل افزایش فعالیت سرمی آمیلاز و لیپاز

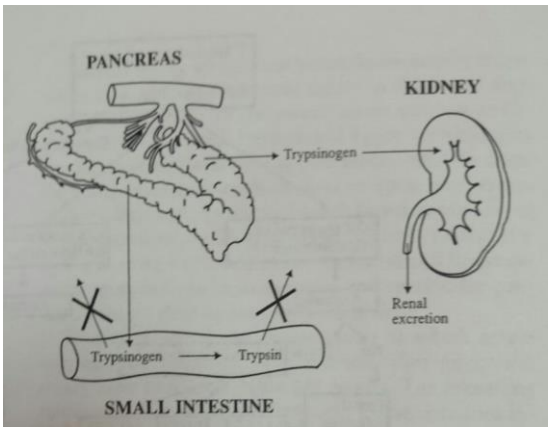
لازم به ذکر است که در بعضی از سگ‌های مبتلا به پانکراتیت حاد ممکن است میزان فعالیت آمیلاز سرم در محدوده مرجع باشد. نتایج منفی کاذب در مورد تست آمیلاز نسبت به تست لیپاز بیشتر است. لیپمی از مواردی است که می‌تواند مانع از فعالیت آمیلاز شود. افزایش آمیلاز معمولا در سگ‌های مبتلا به پانکراتیت حاد دیده شده اما این افزایش به ندرت در گربه‌ها دیده می‌شود. افزایش ۵-۳ برابری فعالیت آمیلاز ممکن است نشان دهنده پانکراتیت حاد باشد اما برای ارزیابی بیشتر اندازه‌گیری cPLI، تصویربرداری و بیوپسی از پانکراس پیشنهاد می‌شود.

اندازه گیری Pancreatic lipase immunoreactivity (PLI): اخیرا روش‌های رادیوایمونواسی برای اندازه‌گیری لیپاز پانکراس در سگ و گربه به صورت تجاری تولید شده است. در این روش از آنتی‌بادی‌ها برای اندازه‌گیری اختصاصی غلظت لیپاز پانکراس استفاده می شود. در حالی‌که در روش‌های آنزیمی فعالیت سرمی لیپاز نشات گرفته از بسیاری از بافت‌ها اندازه گیری می شود. در سگ‌ها حساسیت cPLI برای تشخیص پانکراتیت ۶۵ تا ۸۲ درصد و در گربه‌ها حساسیت fPLI در تشخیص پانکراتیت بسته به شدت بیماری بین ۵۴ تا ۱۰۰ درصد و ویژگی آن ۹۱ درصد برآورد شده است. این روش‌ها برای تشخیص پانکراتیت خفیف تا شدید قابل اعتمادتر بوده و تا کنون از کاربردی‌ترین تست‌های تشخیصی پانکراتیت در سگ و گربه بوده‌اند.

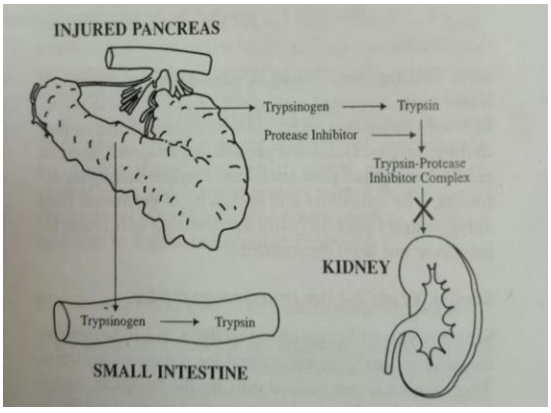
اندازه‌گیری Trypsin-like immunoreactivity (TLI): تست TLI از آنتی‌بادی‌های اختصاصی گونه برای شناسایی تریپسین و تریپسینوژن در سرم استفاده می‌کند. اخیرا این تست‌ها به راحتی در سگ و گربه مورد استفاده قرار می‌گیرند. بنابراین غلظت سرمی نرمال TLI اندیس خوبی برای اثبات تولید مقادیر کافی تریپسینوژن توسط پانکراس است. آنزیم تریپسینوژن از سلول‌های آسینی پانکراس ترشح می‌شود و توسط مجرای پانکراس وارد روده کوچک شده و در آنجا تحت تاثیر آنزیم انتروکیناز به آنزیم پروتئولیتیک فعال تریپسین تبدیل می‌شود. تریپسینوژن و تریپسین از طریق مدفوع از بدن دفع می شوند و هیچکدام از روده بازجذب نمی‌شوند اما در حیوانات سالم مقادیر کمی تریپسینوژن درخون وجود دارد که پس از نشت این آنزیم از آسینی‌ها ابتدا وارد فضای خارج سلولی و سپس لنف و خون می‌شود. این تریپسینوژن همان TLI موجود در خون حیوانات سالم است. تریپسینوژن نهایتا

توسط کلیه‌ها از خون پاک‌سازی می‌شود (شکل ۲).

در پانکراتیت حاد به دلیل نشت تریپسینوژن از سلول‌های آسینی آسیب دیده به فضای بین سلولی، افزایش غلظت TLI را خواهیم داشت. در شرایط التهابی تریپسینوژن به سرعت به تریپسین تبدیل می‌شود و وارد خون شده و سپس با مهار کننده‌های پروتئاز موجود در سرم تشکیل کمپلکس می‌دهد. بر خلاف فرد سالم، بیشتر TLI موجود در خون افراد مبتلا به پانکراتیت حاد از نوع تریپسین است. کمپلکس مهارکننده تریپسین-پروتئاز توانایی عبور از گلومرول‌ها را ندارد و در نتیجه در ادرار یافت نمی‌شود (شکل ۳).



شکل ۲. تولید تریپسینوژن در پانکراس و پاک‌سازی آن در حالت سلامت



شکل ۳. افزایش غلظت سرمی TLI در شرایط پانکراتیت حاد

حساسیت تست TLI برای تشخیص پانکراتیت حاد در سگ و گربه ۳۳ تا ۳۶ درصد و ویژگی این تست ۶۵ تا ۹۰ درصد است که در مقایسه با PLI از حساسیت و ویژگی کمتری برخوردار است. از آنجا که تریپسینوژن توسط کلیه‌ها پاک‌سازی می‌شود، هر اختلالی که منجر به کاهش فیلتراسیون گلومرولی شود نیز می‌تواند باعث افزایش غلظت سرمی TLI شود لذا در تفسیر نتایج این تست حتما باید میزان فیلتراسیون گلومرولی را مد نظر قرار داد.

اندازه‌گیری Trypsin Activation Peptide (TAP): طی فرایند فعال سازی تریپسینوژن قسمتی از ساختار آن توسط آنزیم انتروکیناز در روده برش خورده که به آن TAP گفته می‌شود. از نظر تئوری در حالت سلامت TAP نباید در پلاسما وجود داشته باشد حتی اگر تمام تریپسینوژن در روده کوچک فعال شود. با این حال مقادیر بسیار کمی از TAP در پلاسمای حیوانات سالم وجود دارد که نشان دهنده این است که مقداری از تریپسینوژن به صورت خود به خودی در پانکراس تجزیه و فعال می‌شود. افزایش سطح TAP پلاسما می‌تواند برای تشخیص پانکراتیت کمک کننده باشد اما ویژگی و حساسیت این تست برای تشخیص پانکراتیت در سگ به ترتیب ۷۶ درصد و ۵۳ درصد است. همچنین در بیماری کلیوی نیز افزایش TAP پلاسما همانند پانکراتیت دیده می‌شود. لازم به ذکر است که ساختار این پپتید در بین گونه‌های مختلف تفاوت چندانی ندارد به همین دلیل می‌توان از کیت های انسانی برای اندازه‌گیری TAP در سگ و گربه استفاده کرد و نیاز به استفاده از کیت های اختصاصی گونه نیست.

سایر یافته های آزمایشگاهی

تغییرات هماتولوژی: بیماری پانکراتیت حاد می‌تواند موجب پلی‌سیتمی خفیف یا آنمی خفیف تا متوسط شود که پلی‌سیتمی به دلیل از دست دادن مایعات از طریق استفراغ و کم‌خونی به دلیل بیماری‌های التهابی یا مزمن رخ می‌دهد و معمولا غیر جبرانی است. لوکوسیتوز خفیف همراه با نوتروفیلی خفیف، لوکوسیتوز همراه با انحراف به چپ و در برخی موارد لوکوپنی همراه با انحراف به چپ غیر جبرانی همگی در پانکراتیت دیده می‌شود. لوکوسیتوز بیشتر در پانکراتیت حاد نکروزان یا آبسه پانکراس دیده می‌شود. نوتروفیل‌ها ممکن است تغییرات توکسیک را نشان دهند.

لنفوپنی، ائوزینوپنی و مونوسیتوز می‌تواند به دلیل تولید داخلی کورتیزول در اثر بیماری دیده شود. از دیگر یافته های آزمایشگاهی پانکراتیت ترومبوستوپنی است که می‌تواند به دلیل انعقاد داخل عروقی منتشر ایجاد شده دیده شود.

تغییرات بیوشیمیایی: در پانکراتیت حاد هیپرپروتئینمی (معمولا نسبی) و هیپوپروتئینمی (هیپوآلبومینمی) ممکن است مشاهده شود. همچنین به دلیل دهیدراتاسیون و کاهش فیلتراسیون گلومرولی ممکن است ازتمی پیش کلیوی دیده شود. البته در برخی موارد به علت تاثیر آنزیم‌های آزاد شده از پانکراس بر ارگان‌های موجود در حفره صفاقی، ازتمی کلیوی ممکن است رخ دهد. ممکن است به دلیل ترشح گلوکاگون از سلول‌های آلفای جزایر لانگرهانس و در نتیجه افزایش گلیکوژنولیز هایپرگلایسمی رخ دهد. همچنین کاتکول آمین‌ها و کورتیزول آزاد شده از آدرنال به ترتیب باعث افزایش گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز و در نتیجه هیپرگلایسمی گذرا می‌شود. ممکن است در اثر تخریب سلول‌های بتای تولید کننده انسولین در جزایر لانگرهانس دیابت ملیتوس موقت یا دائم نیز رخ دهد.

پروتئین واکنش‌گر C (CRP) یک پروتئین مثبت فاز حاد است که در پاسخ به التهاب، عفونت و تخریب بافتی تولید می‌شود و معمولا در پانکراتیت حاد افزایش می‌یابد. در شرایط التهابی ممکن است افزایش CRP قبل از لوکوسیتوز و یا انحراف به چپ شناسایی شود.

هیپوکالمی و هیپوکلسمی شایع‌ترین اختلالات الکترولیتی در پانکراتیت حاد هستند. مکانیسم هیپوکلسمی نامشخص است اما صابونی شدن چربی‌های محوطه شکمی و یا از دست دادن آلبومین و متعاقب آن کم شدن کلسیم باند شده به آلبومین در افیوژن می‌تواند دلیلی برای این اختلال باشد. بروز هیپوکلسمی خصوصا زمانی که کلسیم یونیزه خون به کمتر از ۱۰ میلی مول در لیتر برسد نشان دهنده پیش آگهی نامطلوب بیماری خواهد بود. هیپوکالمی در پانکراتیت سگ‌ها کمتر دیده شده اما در گربه‌های مبتلا یافته شایعی است. استفراغ، کاهش بازجذب و افزایش دفع کلیوی به دنبال مایع درمانی از عوامل بروز هیپوکالمی است.

ادم، فیبروز یا نئوپلازی پانکراس می‌تواند منجر به انسداد ناقص یا کامل مجاری صفراوی شده و افزایش آنزیم‌های کبدی را به دنبال داشته باشد. به طور معمول انسداد خارج کبدی مجاری صفراوی باعث افزایش متوسط تا شدید بیلی‌روبین و آنزیم‌های القایی نظیر ALP و GGT می‌شود البته فعالیت سرمی آنزیم‌های هپاتوسلولار مانند AST و ALT نیز به دلیل اثرات مخرب صفرا بر روی هپاتوسیت‌ها افزایش می‌یابند. سگ‌های مبتلا به پانکراتیت حاد ممکن است درگیر زردی باشند و این زردی به دلیل فیبروز پانکراس و انسداد مجرای صفراوی می‌باشد که به مرور زمان بدون نیاز به جراحی برطرف می‌شود. در گربه‌ها معمولا پانکراتیت حاد و کولانژیوهپاتیت به صورت همزمان رخ می دهد. همچنین شیوع بالای لیپیدوز کبدی همراه با پانکراتیت حاد در گربه‌ها وجود دارد. بیلی‌روبین در هر دو بیماری افزایش پیدا می‌کند اما معمولا در گربه‌های مبتلا به لیپیدوز کبدی افزایش فعالیت ALP را همراه با فعالیت طبیعی GGT خواهیم داشت در حالی‌که در کلانژیت افزایش متوسط تا شدید در هر دو آنزیم رخ می‌دهد. با این حال دامپزشک نباید تنها به آنزیم‌های کبدی جهت تشخیص اعتماد کند زیرا حضور بیماری‌های همزمان می‌تواند بر روی الگوی آنزیمی تاثیر بگذارد.

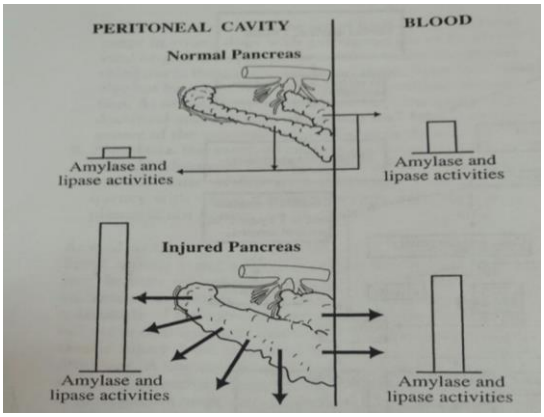
افزایش کلسترول و تری‌گلیسرید سرم از دیگر یافته‌های آزمایشگاهی شایع در پانکراتیت است. هایپرلیپیدمی می‌تواند هم عاملی برای ایجاد پانکراتیت حاد باشد و هم به عنوان عارضه‌ای از این بیماری مطرح باشد. اخیرا مطالعه‌ای بر روی سگ‌های نژاد Miniature Schnauzer صورت گرفته که نشان می‌دهد آنهایی که سابقه پانکراتیت حاد داشته‌اند ۵ برابر بیشتر نسبت به سایر نژادها هیپرتری‌گلیسریدمی را نشان می‌دهند که پس از درمان پانکراتیت نیز همچنان پایدار می‌ماند. در افزایش غلظت کلسترول و یا تری‌گلیسرید سرم سگ‌های مبتلا به پانکراتیت حاد باید به اختلالات اندوکرین خصوص کم‌کاری تیروئید و پرکاری آدرنال نیز توجه کرد زیرا

این بیماری‌ها می‌توانند باعث افزایش لیپیدهای سرم شده و عامل خطری برای بروز پانکراتیت حاد کشنده باشند. بدون توجه به حضور یا عدم حضور پانکراتیت و اختلالات درون‌ریز، احتمال پارگی کیسه صفرا در سگ‌هایی که هیپرلیپیدمی دارند افزایش می‌یابد و این دلیل دیگری برای افزایش آنزیم‌های کبدی در سگ‌های مبتلا به پانکراتیت است. از اولترسونوگرافی برای رد کردن حضور این موارد پر خطر استفاده می‌شود.

آنالیز ادرار: در ۷۸ درصد سگ های مبتلا به پانکراتیت حاد پروتئینوری مشاهده می شود که می‌تواند ناشی از آسیب توبول‌های کلیوی باشد. همچنین آسیب گلومرولی همراه با افزایش فیلتراسیون آنزیم‌های پانکراس ممکن است منجر به پروتئینوری شود. گلوکوزوری پایدار نیز می‌تواند نشانگر حضور همزمان دیابت ملیتوس و مقاومت به انسولین باشد. از این‌رو توصیه می شود که غلظت گلوکز ادرار و خون در حین درمان پانکراتیت و یا حتی پس از آن به دقت پایش شود. حضور کتون‌بادی‌ها همراه با گلوکوزوری نشان دهنده کتواسیدوز دیابتی است و نیاز به درمان فوری دارد. البته باید توجه نمود که بالانس منفی انرژی نیز می تواند منجر به بروز کتونوری در سگ و گربه‌ها شود اما در این صورت، به ندرت گلوکوزوری رخ می دهد زیرا در اغلب موارد، دام‌های مبتلا درگیر هیپوگلایسمی هستند.

تست‌های انعقادی: اختلالات انعقادی به ویژه در پانکراتیت حاد شدید بسیار شایع است. مطالعات نشان داده است که آنزیم‌های پروتئولیتیک آزاد شده از پانکراس می‌تواند با کاتالیز فاکتور فون ویلبراند (VWF) و عوامل کمپلمان منجر به بروز اختلالات انعقادی در بیمار شود. همچنین در برخی مطالعات به کاهش فعالیت آنتی‌ترومبین در سگ‌های مبتلا به پانکراتیت حاد اشاره شده است که می‌تواند باعث بروز ترومبوز شود.

آنالیز مایع صفاقی: اندازه‌گیری فعالیت آمیلاز یا لیپاز در مایع صفاقی می‌تواند برای تشخیص آسیب پانکراس استفاده شود. در حالت سلامت، مقادیر کمی از این آنزیم ها از فضای بینابینی پانکراس و نهایت خون وارد حفره صفاقی می شود اما فعالیت این آنزیم‌ها در حفره صفاقی از فعالیت آن‌ها در خون بیشتر نیست. پانکراتیت حاد ممکن است منجر به تجمع افیوژن سروسنگوینوس (اگزودای غیر عفونی) در محوطه صفاقی شود که از قطرات چربی، گلبول‌های قرمز و نوتروفیل‌ها تشکیل شده است. هنگامی‌که سلول‌های آسینی پانکراس دچار آسیب شوند، مقادیر بالایی از آمیلاز و لیپاز از پانکراس به حفره صفاقی نشت می‌کند و در این حالت فعالیت آمیلاز یا لیپاز در مایع صفاقی از فعالیت این دو آنزیم در سرم بیشتر خواهد بود و این می‌تواند نشان دهنده آسیب پانکراس باشد (شکل ۴).



شکل ۳. مقایسه فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز در خون و مایع صفاقی در شرایط سلامت (قسمت بالای تصویر) و پانکراتیت حاد (قسمت پایین تصویر). سمت راست تصویر فعالیت آنزیم‌ها در خون و سمت چپ فعالیت آنزیم‌ها را در مایع صفاقی نشان می‌دهد.

مراحل تشخیص پانکراتیت حاد

سگ

۱) سگ مشکوک به پانکراتیت حاد علائم استفراغ، درد در قسمت قدامی شکم، تب یا تاریخچه‌ای از تغییر رژیم غذایی یا رژیم غذایی پرچرب را نشان می‌دهد.

۲) انجام آزمایش‌های استاندارد (خون شناسی، پروفایل بیوشیمیایی شامل آمیلاز، لیپاز و آنالیز ادرار).

۳) اندازه‌گیری PLI سگ: PLI بیشترین حساسیت و ویژگی را در بین تمام تست‌های غیر تهاجمی برای تشخیص پانکراتیت دارد.

۴) اندازه‌گیری TLI: TLI ویژگی نسبتا خوبی دارد اما دارای حساسیت کافی برای آزمایش اولیه در تشخیص پانکراتیت حاد نیست.

۵) انجام سونوگرافی که ممکن است به تشخیص کمک کند.

۶) مقایسه فعالیت آمیلاز در سرم و مایع صفاقی. در موارد پانکراتیت حاد فعالیت آمیلاز در مایع صفاقی بیشتر از سرم است.

۷) تشخیص قطعی بر اساس ارزیابی بافت پانکراس است، اگر چه خطر بی‌هوشی در مبتلایان به پانکراتیت وجود دارد.

گربه

۱) گربه‌هایی که علائم غیر اختصاصی مانند بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کم آبی بدن و کاهش وزن دارند.

۲) انجام تست تشخیص ویروس لوسمی گربه (FLV) و ویروس نقص ایمنی گربه (FIV) در صورتی که گربه واکسینه نشده و یا وضعیت شناخته شده‌ای نداشته باشد.

۳) انجام آزمایش‌های استاندارد آزمایشگاهی (شمارش کامل سلول‌های خونی، پروفایل بیوشیمیایی و آنالیز ادرار): اگرچه ممکن است در گربه‌های مبتلا به پانکراتیت حاد نتایج تمام آزمایش‌ها در دامنه مقادیر مرجع باشد اما این آزمایش‌ها حضور سایر بیماری‌ها را نشان داده و باعث درک بهتر وضعیت بیمار می‌شود.

۴) اندازه‌گیری PLI گربه: PLI گربه بیشترین حساسیت و ویژگی را در بین تست‌های موجود برای تشخیص پانکراتیت در گربه دارد.

۵) انجام تست‌های پرکاری تیروئید در گربه‌های بیشتر از ۶ سال.

۶) رادیوگرافی شکم و یا اولتراسونوگرافی می‌تواند کمک کننده باشد گرچه حساسیت این تست‌ها برای تشخیص قطعی مناسب نیست.

۷) در صورت تشکیل افیوژن پلورال ثانویه رادیوگرافی محوطه صدری نیز کمک کننده است.

۸) تست‌های غربالگر گوارشی و عملکردی کبد (اندازه‌گیری اسیدهای صفراوی سرم یا اسیدهای صفراوی سولفاته در ادرار و کوبالامین/فولات) برای اثبات وجود اختلالات در سایر بافت‌ها کمک کننده است.

۹) اندازه‌گیری کوبالامین در گربه‌های مشکوک به پانکراتیت حاد با توجه به شایع بودن بیماری روده‌ای همراه با پانکراتیت و بهبود پاسخ به درمان هنگامی که کمبود کوبالامین داریم، پیشنهاد می‌شود.

۱۰) تست قطعی برای تشخیص پانکراتیت بررسی هیستولوژیک بافت پانکراس است اما دستکاری‌های جراحی در گربه همانند سگ می‌نواند خطراتی به دنبال داشته باشد.

۱۱) اندازه‌گیری تیتر IgM و IgG در گربه‌هایی که در معرض توکسوپلاسما گوندی بوده‌اند.

۱۲) اندازه‌گیری آمیلاز و لیپاز سرم و روش‌های تصویربرداری در تشخیص پانکراتیت در گربه کاربردی ندارد.

۱۳) تحقیقات نشان داده است که همبستگی بین پانکراتیت، بیماری التهابی روده و درگیری مجاری صفراوی در گربه‌ها وجود دارد که تحت عنوان التهاب سه‌گانه نام‌گذاری شده است. گربه‌های مبتلا به یکی از این اختلالات خطر ابتلا به دو بیماری دیگر را نیز دارند.

پیش آگهی بیماری

شدت افزایش فعالیت آنزیم‌های پانکراس شاخص مناسبی برای تعیین پیش آگهی بیماری در سگ نیست. در برخی موارد از سیستم امتیاز دهی ارگان‌ها (Organ Score System) برای تعیین پروگنوز پانکراتیت حاد استفاده می گردد. این سیستم با استفاده از نتایج هماتولوژی و بیوشیمیایی مختلف، تعداد ارگان‌هایی که به غیر از پانکراس درگیر التهاب می‌باشند را مشخص می‌کند. این سیستم عملکرد کبد، کلیه، قسمت اندوکرین پانکراس و همچنین بالانس اسید و باز و لکوگرام را در بیمار مورد بررسی قرار می‌دهد و بر این اساس امتیازی بین ۰ تا ۴ به بیمار می‌دهد و امتیاز بالاتر نشان دهنده پروگنوز ضعیف‌تر بیمار خواهد بود. در برخی مطالعات نیز استفاده از سیستم امتیاز دهی بالینی بیمار را جهت تعیین پیش آگهی پیشنهاد نموده‌اند که در این صورت علاوه بر تست‌های فوق از یافته‌های بالینی مرتبط با

دستگاه قلب و عروق، تنفس و همچنین گوارش نیز استفاده شود. لازم به ذکر است که هنوز سیستم درجه‌بندی ایده‌آلی برای تعیین پیش آگهی پانکراتیت در سگ طراحی نشده است. از جمله تست‌های مورد استفاده در تعیین پیش آگهی پاکراتیت حاد می‌توان به افزایش نسبت TAP به کراتینین، لیپاز، کراتینین، فسفات، کاهش وزن مخصوص ادرار اشاره نمود. کاهش کلسیم یونیزه و لکوپنی از جمله شاخص‌های پیش آگهی دهنده پانکراتیت حاد در گربه است اما اندازه‌گیری TAP ادرار و پلاسما در گربه در تعیین پیش آگهی بیماری کمک کننده نخواهد بود. در برخی از منابع نیز به اندازه‌گیری آلفا ماکروگلوبولین و کمپلکس آلفا ۱ پروتئیناز-تریپسین جهت تعیین پیش آگهی این بیماری اشاره شده است اما به دلیل نیمه عمر بسیار کوتاه این فاکتورها ارزش بالینی ندارد.

منابع

1. Latimer KS. Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology, 5th ed. John Wiley & Sons; 2011.
2. Thrall MA, Allison R, Weiser G, Campbell T. Veterinary hematology and clinical chemistry, 2nd ed. 2012.
3. Mansfield C, Beths T. Management of acute pancreatitis in dogs: a critical appraisal with focus on feeding and analgesia. J Small Anim Pract 2015; 56(1):27-39.
4. Xenoulis PG. Diagnosis of pancreatitis in dogs and cats. J Small Anim Pract 2015; 56(1):13-26.
5. Villiers E, Ristic J. BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology. 3rd ed. British Small Animal Veterinary Association; 2016.
6. Watson P. Pancreatitis in dogs and cats: definitions and pathophysiology. J Small Anim Pract 2015; 56(1):3-12.

Abstract in English

Laboratory findings of acute pancreatitis in dogs and cats

Niloufar Abedi[1], Mahdieh Zaeemi[2*]

1. Resident of Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

2. Assist. Prof. Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

[*]zaeemi @um.ac.ir

Pancreatitis is the most common exocrine pancreatic disease in both dogs and cats. Acute pancreatitis is an inflammation with acute onset and characterized by necrosis and edema. Premature activation of trypsin in the acinar cells starts a cascade of reactions that result in autodigestion. Dogs are often presented with gastrointestinal signs, whereas lethargy and anorexia are the most commonly observed symptoms in cats. Acute pancreatitis may cause cardiovascular shock, disseminated intravascular coagulation or disability of multi organs and/or death. Diagnosing acute pancreatitis in dogs and cats is difficult. Several diagnostic methods have been proposed for the diagnosis of pancreatitis over the past few years, most of which are not applicable due to poor performance, inaccessibility or aggressiveness. Besides, many radiographic methods are used yet none of them are efficient except ultrasonography. Although several laboratory tests including measurement of hematology and biochemistry factors are available, none of them are specific for pancreatitis and they are merely beneficial in rejecting other diseases. The aim of this study was to investigate the more specific diagnostic tests for acute pancreatitis in small animals.

Key words: Pancreatitis, Small animal, PLI, TLI, TAP

التیام، دوره ۵، شماره ۱: ۵۰-۳۴، ۱۳۹۷ Eltiam, 5 (1): 34-50, 2018

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

دیابت ملیتوس: تشخیص و یافته‌های آزمایشگاهی در سگ و گربه

مهسا مهتدی[۱]، محمد حیدرپور*[۲]

۱. رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

۲. دانشیار کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

*heidarpour@um.ac.ir

چکیده

دیابت ملیتوس یک هیپرگلیسمی پایدار ناشی از کاهش تولید یا اختلال در فعالیت انسولین است. تقریبا تمام دام‌های اهلی و آزمایشگاهی به دیابت مبتلا می‌شوند. شیوع دیابت در سگ‌ها و گربه‌ها به ترتیب ۰/۶-۰/۳ و ۱/۲-۰/۴۳ درصد است. دیابت ملیتوس در سگ‌ها بیشتر در ماده‌های بالغ یا مسن رخ می‌دهد، در حالی‌که گربه‌های نر بیشتر از گربه‌های ماده به این بیماری مبتلا می‌شوند. چهار علامت بالینی مشخص دیابت ملیتوس پرادراری، پرنوشی، پرخوری و کاهش وزن هستند. در برخی سگ‌ها و گربه‌های مبتلا عوارض شدید دیابت از قبیل کتواسیدوز یا هیپراسمولالیتی رخ می‌دهد که در این موارد علائم بالینی همچون بی‌حالی، کاهش مصرف آب و استفراغ دیده می‌شود. تشخیص دیابت ملیتوس بر اساس علائم بالینی، هیپرگلیسمی پایدار و گلوکزاوری صورت می‌گیرد. به منظور مستند نمودن دیابت ملیتوس نیاز به اندازه‌گیری مکرر گلوکز خون وجود دارد. البته در صورتی‌که در یک نمونه خون و ادرار هیپرگلیسمی همراه با کتونمی، گلوکزاوری و کتون‌اوری وجود داشته باشد. احتمال وجود دیابت ملیتوس بسیار زیاد است. آزمایش‌های دیگری از قبیل اندازه‌گیری فروکتوز آمین (Fructosamine) و هموگلوبین گلیکوزیله خون (Glycated hemoglobin, GHb) و آزمایش‌های تحمل گلوکز (Glucose tolerance tests) نیز برای تائید یا رد بیماری کمک کننده خواهند بود. در صورتی‌که نیاز به تجویز انسولین جهت درمان بیماری وجود دارد، در شروع درمان می توان از منحنی سریالی گلوکز (Serial glucose curve) جهت تعیین نوع و دوز مناسب انسولین استفاده نمود. با گذشت مدت زمانی مشخصی از شروع درمان، برای بررسی روند پاسخ به درمان و کنترل بیماری در کنار توجه به علائم بالینی و وضعیت عمومی ادرار می‌توان از آزمایش‌های اندازه‌گیری گلوکز خون و ادرار، فروکتوز آمین و هموگلوبین گلیکوزیله خون استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: دیابت ملیتوس، هیپرگلیسمی، تشخیص آزمایشگاهی، سگ، گربه

مقدمه

دیابت ملیتوس (Diabetes mellitus) یک هایپرگلیسمی پایدار ناشی از کاهش تولید یا اختلال در فعالیت انسولین است. تقریبا تمام دام‌های اهلی و آزمایشگاهی به دیابت مبتلا می‌شوند. دیابت ملیتوس در سگ‌ها بیشتر در ماده‌های بالغ یا مسن‌تر این بیماری رخ می‌دهد در حالی‌که گربه‌های نر بیشتر از گربه‌های ماده به این بیماری مبتلا می‌شوند. از چاقی به عنوان فاکتور زمینه‌ساز اصلی دیابت ملیتوس در سگ و گربه یاد می‌شود. برای بررسی دقیق‌تر با توجه به تعریف دیابت ملیتوس پیش از هر چیز آشنایی با انسولین و عملکرد آن و همچنین سایر هورمون‌های موثر بر گلوکز خون الزامی است. دیابت ملیتوس موجب تغییرات متعددی در یافته‌های آزمایشگاهی روتین از قبیل آنزیم‌های کبدی، اوره، کراتینین و pH خون می‌شود که آگاهی از آن‌ها جهت تشخیص دیابت و همچنین برای تمایز آن از سایر بیماری‌های متابولیک مفید خواهد بود. آزمایش‌های اختصاصی متعددی وجود دارند که می‌توانند در تشخیص، شروع درمان و ارزیابی پاسخ به درمان و کنترل دیابت ملیتوس به کلینیسین‌ها کمک نمایند. برخی از این آزمایش‌ها جنبه بالینی و برخی دیگر جنبه تحقیقاتی دارند.

هورمون‌های موثر بر سطح گلوکز خون

انسولین هورمونی است که توسط سلول‌های بتا پانکراس تولید می‌شود. ابتدا انسولین به شکل غیر فعال پری‌پرو انسولین (Preproinsulin) تولید می‌گردد. جهت تکمیل ساخت انسولین این ماده در شبکه اندوپلاسمی خشن به پروانسولین تغییر شکل می‌دهد که به گرانول‌های ترشحی دستگاه گلژی انتقال و ذخیره می‌شود. پروانسولین دارای دو زیرواحد A و B است که توسط پپتید C به هم متصل شده‌اند. زنجیر A شامل ۲۱ اسید آمینه است در حالی‌که زنجیر B با ۳۰ اسیدآمینه طول بلندتری دارد. در نهایت با جداشدن پپتید C مولکول فعال انسولین تشکیل می‌شود. عوامل بسیاری هستند که آزادسازی انسولین را تحریک می‌کنند که از آن جمله می‌توان به گلوکز، اجسام کتونی، اسیدهای چرب، اسیدهای آمینه، هورمون‌ها بویژه گلوکاگون، بتا آدرنرژیک‌ها، گاسترین، سکرتین، پانکروزیمین و همچنین داروهایی از قبیل سولفونیل اوره و ایزوپروترنول اشاره کرد. برعکس، موادی دیگری از قبیل سوماتواستاتین، آگونیست‌های آلفا دو آدرنرژیک، آنتاگونیست‌های بتا آدرنرژیک و داروهایی مثل دی‌لانتین و فنوتیازین عملکردی مهاری بر آزادسازی انسولین دارند. انسولین سگ تنها یک اسید آمینه با انسولین انسان تفاوت دارد در حالی‌که چند تفاوت اندک بین انسولین گربه و انسان وجود دارد. معادل هر ملکول انسولین که از پانکراس آزاد می‌شود یک ملکول پپتید C نیز وارد گردش خون خواهد شد. بنابراین در گردش خون علاوه بر انسولین، پپتید C و مقدار اندکی پروانسولین وجود دارد که در انسان با اندازه‌گیری هر سه این‌ها می‌توان متابولیسم انسولین و گلوکز را بررسی نمود. اما در دام‌ها تمرکز بیشتر بر روی اندازه‌گیری انسولین است و اطلاعات کمی در مورد تغییرات دو تای دیگر در دام‌های سالم و بیمار وجود دارد. نیمه عمر انسولین در خون ۵ تا ۱۰ دقیقه و نیمه عمر پپتید C حدود ۲۰ دقیقه است. به دلیل نیمه عمر طولانی‌تر، غلظت پپتید C در خون بیشتر از انسولین است. انسولین در خون به یک بتا گلوبولین متصل می‌شود. گیرنده‌های انسولینی گلیکوپروتئین های بزرگی هستند که برروی تمامی سلول‌های بدن از قبیل کبد، کلیه، بافت چربی، عضلات، گلبول‌های قرمز و مونوسیت‌ها حضور دارند. این گیرنده تترامری است که از دو زنجیره آلفا و دو زنجیره بتا تشکیل شده است. بسیاری از سلول‌های بدن به ویژه کبد و کلیه قادر به غیر فعال کردن انسولین هستند. کبد به تنهایی ۵۰ درصد انسولین را غیرفعال می‌کند. پپتید C عمدتا توسط کلیه تخریب می‌شود و مقدار اندکی از آن وارد ادرار خواهد شد.

به دنبال خوردن غذا و آزادسازی هورمون‌های گوارشی سکرتین، کوله‌سیستوکینین، پانکروزیمین و گاسترین تحریک تولید و ترشح انسولین اتفاق می‌افتد. دقیقا به خاطر حضور همین هورمون‌های گوارشی است که میزان آزادسازی انسولین به دنبال مصرف خوراکی گلوکز بیش از تزریق وریدی آن است. به دنبال تجویز وریدی گلوکز دو پیک

انسولینی در بدن رخ می‌دهد. پیک اول حدود ۵ دقیقه ابتدایی است که حاکی از آزادشدن انسولین ذخیره در سلول‌های بتا پانکراس است. پیک دوم در دقایق ۱۰ تا ۳۰ بعد از تزریق است که ناشی از انسولین تولیدی در سلول‌های بتا پانکراس است.

یکی از مهم‌ترین تاثیرات انسولین ورود گلوکز به سلول‌های بافت عضلانی و چربی است. گر چه انسولین در ورود گلوکز به کبد اثر ندارد اما باعث تحریک متابولیسم و مصرف گلوکز در کبد می‌شود. در سلول‌های عصبی انسولین با اتصال به گیرنده‌های خود موجب تقویت انتقال گلوکز است. البته میزان ورود گلوکز به این بافت‌ها تحت اثر انسولین نیست بلکه توسط سیستم انتقال سلولی در دستگاه عصبی کنترل می‌شود. به همین دلیل است که در مبتلایان به دیابت با وجود کمبود انسولین همچنان سیستم عصبی گلوکز مورد نیاز خود را جذب می‌کند. انسولین بر روی سایر سلول‌های بدن همانند گلبول‌های قرمز خون چه در فرآیند متابولیسم این سلول‌ها و چه در میزان ورود گلوکز به آن‌ها تاثیری ندارد. مهمترین فعالیت فیزیولوژیک انسولین در بدن کاهش میزان گلوکز خون است، که این امر با تبدیل گلوکز به گلیکوژن، چربی و پروتئین و مهار گلوکونئوژنز صورت می‌گیرد. افزایش انسولین علاوه بر کاهش گلوکز موجب کاهش اجسام کتونی، اسیدهای چرب، فسفر، پتاسیم و اسیدهای آمینه خون خواهد شد. این عمل با افزایش ورود پتاسیم و فسفر به داخل سلول ها صورت می‌گیرد. در انسان و دام‌ها با افزایش انسولین، افزایش در آنابولیسم، مصرف غذا و ضریب تنفسی رخ می‌دهد. علاوه بر انسولین هورمون‌های دیگری نیز در تنظیم گلوکز خون اثر گذارند. گلوکاگون توسط سلول‌های آلفا پانکراس تولید و باعث تحریک گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز و مهار سنتز گلیکوژن در کبد و افزایش گلوکز خون می‌شود. مهم‌ترین محرک آزادسازی گلوکاگون هیپوگلیسمی یا افت قند خون است. افت گلوکز خون ناشی از گلوکاگون خود محرک آزادسازی انسولین است. گلوکوکورتیکوئیدها از قبیل کورتیزول با تحریک آزادسازی گلوکاگون و گلوکونئوژنز کبدی و مهار فعالیت انسولین در بافت چربی و عضلات موجب افزایش گلوکز خون می‌شود. کاتیکول آمین‌ها (اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین) سطوح گلوکز خون را از طریق تحریک گلیکوژنولیز کبدی، مهار آزادسازی انسولین و تحریک ترشح هورمون رشد افزایش می‌دهند. هورمون رشد با مهار فعالیت انسولین در هپاتوسیت‌ها، بافت چربی و عضلات با افزایش تولید گلوکز می‌تواند موجب افزایش گلوکز خون شود. سوماتواستاتین هورمون دیگری است که توسط سلول‌های متعددی در بدن بویژه سلول‌های دلتای پانکراس تولید می‌شود. سوماتواستاتین اثر مهاری بر آزادسازی بسیاری از هورمون‌ها از جمله هورمون رشد، گلوکاگون و انسولین دارد. این هورمون اگر به صورت اگزوژن تزریق شود عمده اثر آن با مهار گلوکاگون همراه است. در حقیقت مهار گلوکاگون قوی‌تر از مهار انسولین است. در مجموع برآیند فعالیت انسولین از یک طرف و هورمون‌های آنتاگونیسم انسولین از طرف دیگر به گونه‌ای است که سطح گلوکز خون در دام سالم حتی به دنبال فعالیت فیزیکی در محدوده نرمال باقی می‌ماند.

طبقه بندی دیابت ملیتوس

به طور سنتی دیابت ملیتوس در سگ‌ها و گربه‌ها شبیه به انسان طبقه بندی شده است، اما هنوز درستی این موضوع به طور کامل مشخص نیست. دیابت نوع یک حدود ۱۰ درصد موارد انسانی را شامل می‌شود. در این نوع دیابت به دلیل تخریب با واسطه ایمنی سلول‌های بتا پانکراس تولید انسولین مختل می‌شود و مقدار آن در بدن به شدت کاهش می‌یابد. یک مشخصه این نوع دیابت حضور اتوآنتی‌بادی‌های متعددی بر علیه آنتی‌ژن‌های جزایر لانگرهانس در خون افراد مبتلا است. بیماری زمینه ژنتیکی دارد و فاکتورهای محیطی نیز در تحریک آن دخالت دارند. دیابت نوع یک معمولا در کودکان و نوجوانان تشخیص داده می‌شود اما در بالغین نیز امکان بروز آن وجود دارد. دیابت نوع یک در برخی بیماران همراه با مکانیسم‌های خود ایمن نیست و حالت ایدیوپاتیک دارد. دیابت در بسیاری سگ‌ها شبیه دیابت نوع یک در انسان است.

دیابت نوع دو در بیش از ۹۰ درصد موارد انسانی رخ می‌دهد. در این نوع دیابت دو ضایعه در هنگام تشخیص بیماری وجود

دارد: مقاومت انسولینی و اختلال در فعالیت سلول‌های بتا. در مقاومت انسولینی فعالیت انسولین در بافت‌های مختلف به ویژه کبد، عضلات و بافت چربی مختل می‌شود. یک زمینه ژنتیکی برای مقاومت انسولینی در انسان وجود دارد، ضمن این‌که یکسری عوامل محیطی از قبیل بی‌تحرکی، برخی داروها و به ویژه چاقی در تقویت آن نقش دارند. چاقی در این نوع دیابت بسیار اهمیت دارد و می‌تواند از طریق کاهش تعداد گیرنده‌های انسولین در بافت های محیطی، اختلال در اتصال انسولین به گیرنده و یا نقص در انتقال سیگنال از گیرنده به داخل سلول موجب مقاومت انسولینی شود. به علاوه، مواد مترشحه از بافت چربی از قبیل اسیدهای چرب غیر استریفیه و برخی آدیپوکاین‌ها قادر به القا یا تشدید مقاومت انسولینی هستند. نقص دیگر موجود در دیابت نوع دو اختلال در فعالیت سلول‌های بتا است که در این اختلال سلول‌های بتا قادر به آزادسازی سریع انسولین در پاسخ به گلوکز (فاز اول پاسخ انسولینی) نیستند. فاز دوم پاسخ انسولینی به میزان بسیار کمتری مختل می‌شود. اگر چه دلیل اختلال در سلول های بتا مشخص نیست اما هیپرگلیسمی و هیپرلیپیدمی در بروز آن دخالت دارند. به علاوه، رسوب آمیلوئید در جزایر لانگرهانس به دلیل پلیمریزه شدن ملکول آمیلین است. دیابت در گربه‌ها شبیه دیابت نوع دو در انسان است.

نوع سوم دیابت تحت عنوان انواع اختصاصی دیابت به مواردی اطلاق می‌شود که در آن‌ها یک بیماری یا فاکتور زمینه‌ساز موجب کاهش تولید انسولین یا اختلال در فعالیت انسولین می‌شود. برخی از این موارد در سگ و گربه نیز رخ می‌دهند. از جمله عوامل زمینه ساز می توان به بیماری های پانکراس (پانکراتیت، کارسینوم پانکراس)، اختلالات اندوکرین همراه با افزایش طولانی مدت هورمون‌های آنتاگونیسم انسولین (پرکاری آدرنال، پرکاری هیپوفیز، پرکاری تیروئید، آکرومگالی، گلوکاگونوما (Glucagonoma)، فئوکروموسایتوما (Pheochromocytoma))، داروها (گلوکوکورتیکوئیدها، لووتیروکسین، مجسترول استات)، عوامل عفونی (سپتی‌سمی) و اختلالات ژنتیکی در برخی نژادها از قبیل سگ‌های کیشوند (Keeshond) و ساموید (Samoyed) اشاره نمود.

نوع چهارمی از دیابت انسان تحت عنوان دیابت آبستنی (Gestational diabetes) وجود دارد که در سگ و گربه از اهمیت اندکی برخوردار است، هر چند دیابت همراه با فاز دی‌استروس در سگ‌ها را می‌توان معادل آن در نظر گرفت.

دیابت ملیتوس در سگ‌ها

دیابت ملیتوس یکی از شایع‌ترین اختلال‌های اندوکرین در سگ‌ها است که از شیوع ۰/۶-۰/۳ درصدی برخوردار است. در بسیاری از سگ‌های مبتلا، بیماری شبیه به نوع یک انسان است که به دلیل تخریب با واسطه ایمنی سلول‌های بتا رخ می‌دهد. اتوآنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن‌های پانکراس در تعدادی از سگ‌های مبتلا به دیابت شناسایی شده‌اند که حاکی از خود ایمن بودن بیماری است. به علاوه بیماری در برخی نژادها بیشتر رخ می‌دهد که نشان دهنده زمینه ژنتیکی آن است.

دیابت ملیتوس ناشی از تخریب پانکراس به دلیل پانکراتیت حاد و مزمن و نئوپلازی‌های پانکراس در برخی سگ‌ها رخ می‌دهد. در مطالعات مختلف ۱۳ تا ۲۸ درصد سگ‌های مبتلا به دیابت شواهدی از پانکراتیت حاد و مزمن را نشان دادند. التهاب پانکراس موجب آزاد شدن و فعال شدن آنزیم‌های هضمی از قبیل تریپسین در خود بافت پانکراس شده و بدین ترتیب تخریب سلول‌های بتا رخ خواهد داد. ضمن این‌که آنتی‌ژن‌های رها شده در طی فرآیند التهاب ممکن است موجب تحریک سیستم ایمنی و تشدید تخریب سلول‌های بتا شوند. سگ‌های دیابتی که شواهد بالینی یا بیوشیمیایی پانکراتیت را نشان می‌دهند از پیش آگهی ضعیف‌تری در مقایسه با سگ‌های بدون پانکراتیت برخوردارند.

افزایش پروژسترون در طی فاز دی‌استروس در سگ‌های ماده عقیم نشده موجب افزایش تولید هورمون رشد در بافت‌های پستانی خواهد شد. این روند فیزیولوژیک در تمامی سگ‌های ماده رخ می‌دهد اما برخی سگ‌ها به دلیل اثرات دیابتوژنیک هورمون رشد در طی این فاز دچار دیابت خواهند شد. این نوع دیابت به راحتی با عقیم سازی دام قابل برطرف شدن است به شرط این‌که هنوز تعداد کافی سلول بتا فعال وجود داشته باشد. درصورت عدم فعالیت مناسب سلول‌های بتا نیاز به تجویز انسولین هم وجود دارد.

افزایش طولانی مدت هورمون‌های آنتاگونسیم انسولین نیز می‌توانند سگ را مستعد دیابت ملیتوس نمایند. یکی از هورمون‌های آنتاگونیسم انسولین کورتیوزل است. در حدود ۱۰ درصد سگ‌های مبتلا به پرکاری آدرنال به دلیل اثرات آنتاگونیستی کورتیزول و مقاومت انسولینی حاصل از آن دیابت ملیتوس رخ می‌دهد. در این موارد علاوه بر درمان پرکاری آدرنال باید تجویز انسولین را نیز مد نظر قرار داد. آکرومگالی با تولید مقادیر زیادی هورمون رشد موجب مقاومت انسولینی و دیابت ملیتوس در برخی مبتلایان خواهد شد. گلوکاگونوما تومور سلول‌های آلفای پانکراس است که به دلیل تولید مقدار زیادی هورمون گلوکاگون مقاومت انسولینی شدیدی در بیمار ایجاد می‌کند و دام را مستعد دیابت ملیتوس خواهد کرد. در تومور فئوکروموسایتوما مقدار زیادی کاتیکول آمین تولید می‌شود که مهار انسولین و گلیکوژنولیز را باعث می‌شود. تجویز طولانی مدت داروهایی از قبیل پروژستین‌ها و گلوکوکورتیکوئیدها نیز می‌تواند موجب دیابت در سگ‌ها شوند.

مواردی از دیابت ملیتوس مادرزادی یا دیابت ملیتوس جوانان در سگ‌های کمتر از ۱۲-۶ ماهه گزارش شده است که منشا خود ایمن نداشته و احتمالا به دلیل آپلازی و آتروفی سلول‌های بتا رخ می‌دهند. در پانکراس این سگ‌ها تعداد بسیار اندکی جزایر لانگرهانس وجود دارد و سلول‌های بتای موجود نیز دژنره و واکوئوله هستند. سگ‌های مبتلا به دیابت مادرزادی به خوبی با درمان انسولینی قابل مدیریت هستند.

دیابت معمولا در سگ‌های میانسال تا مسن (معمولا سنین پنج تا ۱۲ سال) رخ می‌دهد. به ندرت در سگ‌های کمتر از ۱۲ ماه نیز دیابت تشخیص داده می‌شود. در حال حاضر شیوع دیابت در سگ‌های ماده از بیشتر از ۷۰ درصد به حدود ۵۵ درصد رسیده است که دلیل این امر عقیم نمودن سگ‌ها در سنین پایین و در نتیجه کاهش دیابت همراه با دی‌استروس است. خطر دیابت در برخی نژادها از قبیل ساموید، برخی نژادهای تریر، اشنوزر مینیاتوری، بیگل و پودل مینیاتوری و عروسکی بیشتر از سایر نژادها است. نژادها باکسر، ژرمن شفرد و گلدن رتریور از خطر کمی برخوردار هستند.

چهار علامت بالینی مشخص بیماری دیابت پرادراری، پرنوشی، پرخوری و کاهش وزن هستند. حدود ۵۰ درصد سگ‌های دیابتی ظرف ۶ ماه و حدود ۸۰ درصد ظرف ۱۶ ماه بعد از تشخیص دیابت دچار کاتاراکت می‌شوند. بنابراین، معاینه چشم‌ها در یک سگ دیابتی باید به صورت مرتب انجام شود. مداخله جراحی زود هنگام از پیش آگهی خوبی برخوردار است و مانع از کوری دام خواهد شد. بسته به شدت و طول دوره دیابت یا وجود بیماری های همزمان (مانند پانکراتیت یا عفونت) ممکن است علائم بالینی دیگری نیز دیده شود. در برخی سگ‌های دیابتی عوارض شدید دیابت از قبیل کتواسیدوز یا هیپراسمولالیتی ایجاد می‌شود که در این موارد علائم بالینی همچون بی‌حالی، کاهش مصرف آب و استفراغ دیده می‌شود.

دیابت ملیتوس در گربه‌ها

دیابت ملیتوس یک اختلال اندوکرین شایع در گربه‌ها است که در نقاط مختلف دنیا شیوع آن بین ۰/۴۳ تا ۱/۲ درصد گزارش شده است. در حدود ۸۰ درصد گربه‌های مبتلا به دیابت، بیماری شبیه به دیابت نوع دو انسان است. در این نوع دیابت مقاومت انسولینی و اختلال در فعالیت سلول‌های بتا در زمان تشخیص بیماری وجود دارد. نژاد (به ویژه نژاد برمه)، افزایش سن، جنس نر، عقیم شدن، عدم فعالیت بدنی، تجویز گلوکوکورتیکوئیدها و پروژستین‌ها و چاقی از جمله فاکتورهای خطرساز دیابت نوع دو در گربه‌ها هستند. مهم‌ترین فاکتور خطر چاقی است و گربه‌های چاق ۳/۹ برابر گربه‌های با وزن طبیعی مبتلا به دیابت خواهند شد. چاقی موجب مقاومت انسولینی در بدن می‌شود. اگر چه اکثر گربه‌های چاق مقاومت انسولین را نشان می‌دهند اما همگی آن‌ها به دیابت مبتلا نخواهند شد. گربه‌هایی که از سلول‌های بتا سالم برخوردارند می‌توانند تولید انسولین را افزایش دهند و مقاومت انسولینی را جبران نمایند. اما در گربه‌هایی که علاوه بر مقاومت انسولینی اختلال در فعالیت سلول‌های بتا نیز وجود دارد، میزان تولید انسولین اگر چه در مراحل اولیه بیشتر از حد نرمال خواهد بود اما این افزایش تولید در حدی نیست که جوابگوی نیاز بدن باشد و دیابت رخ خواهد داد. در

ابتدا فاز اول ترشح انسولین به شدت کاهش می‌یابد در حالی‌که فاز دوم ترشح انسولین با تاخیر رخ می‌دهد و اغلب میزان تولید انسولین در این فاز بیش از حد نرمال خواهد بود. از علل ناتوانی سلول‌های بتا پانکراس می‌توان به آمیلوئیدوز جزایر لانگرهانس، مسمومیت گلوکز (Glucose toxicity) و لیپوتوکسیسیتی (Lipotoxicity) اشاره نمود. آمیلوئیدوز که در ۹۰ درصد گربه‌های دیابتی وجود دارد به دلیل رسوب آمیلین (یک هورمون که همراه با انسولین از سلول‌های بتا ترشح می‌شود) ایجاد می‌شود. افزایش طولانی مدت گلوکز ترشح انسولین از سلول‌های بتا را مختل خواهد کرد که تحت عنوان مسمومیت گلوکز نامیده می‌شود.

افزایش مداوم اسیدهای چرب نیز اثر مشابهی بر روی ترشح انسولین خواهد داشت (لیپوتوکسیستی). دیابت آشکار همراه با هیپرگلیسمی واضح و علائم بالینی زمانی رخ خواهد داد که ۹۰-۸۰ درصد ظرفیت ترشحی انسولین کاهش یابد. در صورت درمان زود هنگام دیابت اثرات نامطلوب مسمومیت گلوکز برطرف شده و احتمال بهبودی کامل دیابت وجود دارد.

۲۰ درصد گربه‌های دیابتی به انواع اختصاصی دیابت مبتلا هستند که در آن‌ها دیابت به دلیل وجود یک بیماری یا فاکتور زمینه‌ساز رخ می‌دهد. پانکراتیت، پرکاری آدرنال، پرکاری تیروئید، آکرومگالی و تجویز طولانی مدت پروژستین‌ها و گلوکوکورتیکوئیدها از جمله عوامل ایجاد کننده دیابت در گربه‌ها هستند. تقریبا ۸۰ درصد گربه‌های مبتلا به پرکاری آدرنال و ۱۰۰ درصد گربه‌های مبتلا به آکرومگالی هم‌زمان از دیابت نیز رنج می‌برند. دیابت اغلب در گربه‌های میانسال تا مسن رخ می‌دهد حدود ۹۵ درصد گربه‌های مبتلا بیش از ۵ سال سن دارند. تقریبا ۷۰ درصد گربه‌های مبتلا نر هستند. گربه‌های نژاد برمه بیش از سایر نژادها در خطر ابتلا به دیابت قرار دارند. ۶۰ درصد گربه‌های دیابتی افزایش وزن، ۳۵ درصد وزن طبیعی و ۵ درصد کاهش وزن دارند. بسیاری از گربه‌های مبتلا علائم پرادراری، پرنوشی، پرخوری و کاش وزن را نشان می‌دهند. حدود ۱۰ درصد علائم نوروپاتی از قبیل ضعف اندام حرکتی خلفی و کاهش توانایی پرش را نشان می‌دهند. بسیاری از گربه‌ها هپاتومگالی (بزرگی کبد) را نشان می‌دهند. حدود ۵۰ درصد گربه‌های دیابتی در معاینه چشم کاتاراکت را نشان می‌دهند اما شدت این ضایعه در گربه‌ها بسیار کمتر از سگ‌ها است.

در صورت وجود بیماری‌های هم‌زمان (مانند پانکراتیت، پرکاری آدرنال، آکرومگالی) ممکن است علائم بالینی دیگری نیز دیده شود. در گربه‌های با عوارض شدید دیابت از قبیل کتواسیدوز یا هیپراسمولالیتی علائم بالینی همچون بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کاهش مصرف آب و استفراغ دیده می‌شود.

تشخیص آزمایشگاهی دیابت ملیتوس

تشخیص دیابت ملیتوس بر اساس علائم بالینی، هیپرگلیسمی پایدار و گلوکزاوری صورت می‌گیرد. از آنجایی‌که پایدار بودن هیپرگلیسمی برای تشخیص دیابت ملیتوس ضروری است، به منظور مستند نمودن دیابت ملیتوس نیاز به اندازه‌گیری گلوکز خون در روزهای متعدد وجود دارد. البته در صورتی‌که در یک نمونه خون و ادرار هیپرگلیسمی همراه با کتونمی، گلوکزاوری و کتون‌اوری وجود داشته باشد احتمال وجود دیابت ملیتوس بسیار زیاد است.

آزمایش‌های دیگری از قبیل اندازه‌گیری فروکتوز آمین (Fructosamine) و هموگلوبین گلیکوزیله (Glycated hemoglobin, GHb) خون و آزمون‌های تحمل گلوکز (Glucose tolerance tests) نیز برای تائید یا رد بیماری کمک کننده خواهند بود. در هنگام شروع درمان در یک بیمار دیابتی می‌توان از منحنی سریالی گلوکز (Serial glucose curve) جهت تعیین نوع و دوز مناسب انسولین استفاده نمود. با گذشت مدت زمانی مشخصی از شروع درمان، برای بررسی روند پاسخ به درمان و کنترل بیماری بایستی به علائم بالینی و وضعیت عمومی ادرار و همچنین آزمایش‌های اندازه‌گیری گلوکز خون و ادرار، فروکتوز آمین و هموگلوبین گلیکوزیله خون توجه نمود.

۱. اندازه‌گیری گلوکز خون: اندازه‌گیری گلوکز خون اولین آزمایشی است که در دام‌های مشکوک به دیابت انجام می‌شود و بر اساس نتایج آن در صورت نیاز سایر آزمایش‌ها انجام خواهد شد.

جهت اندازه‌گیری گلوکز می‌توان از سرم یا پلاسمای خون استفاده نمود. برای اندازه‌گیری گلوکز خون باید یکسری شرایط را به درستی رعایت نمود. از آنجایی‌که ۴-۲ ساعت بعد از خوردن غذا مقدار گلوکز خون افزایش می‌یابد (هیپرگلیسمی پس از غذا (Postprandial hyperglycemia))، نمونه خون بایستی در حالت ناشتا گرفته شود. بدین منظور سگ و گربه نباید به مدت ۱۲ ساعت کالری دریافت کند. نکته دیگر این‌که پس از اخذ نمونه بایستی سرم خون را ظرف ۳۰ دقیقه از سلول‌های خونی جدا نمود. زیرا در صورت عدم جداسازی، گلوکز توسط سلول‌های خون به ویژه گلبول‌های قرمز مصرف شده و به ازای هر یک ساعت در دمای اتاق میزان گلوکز خون حدود ۱۰ درصد کاهش می‌یابد. اگر امکان جداسازی سریع سرم یا پلاسما وجود ندارد می‌توان از ضد انعقاد فلورید سدیم استفاده نمود. همچنین یخچال گذاری سرعت مصرف گلوکز را کاهش می‌دهد.

گلوکومترهای پرتابل که در انسان برای اندازه‌گیری سریع گلوکز در خون کامل به کار می‌روند در دام ها نیز قابل استفاده هستند. در دام‌ها گلوکز خون اندازه‌گیری شده با بسیاری از این گلوکومترها کمتر از مقدار اندازه‌گیری شده با روش‌های استاندارد است. بنابراین استفاده از گلوکومترها جهت تشخیص دیابت مناسب نیست. بهترین استفاده‌ای که از این وسایل می‌توان کرد این است که توسط صاحب دام برای مانتیورینگ کنترل دیابت به کار برده شوند. نکته بسیار مهمی که باید به آن دقت نمود این است که هیپرگلیسمی اختصاصی دیابت ملیتوس نیست و علل بسیار زیادی موجب افزایش گلوکز خون خواهند شد که در ذیل به آن‌ها اشاره خواهد شد (جدول ۱).

داروها یا سموم: کورتیکواستروئیدها، دکستروز، دتومیدین، زایلازین، پروپانولول، تیروکسین، پروژستین، مورفین، مژسترول استات، تجویز دوز بیش از حد انسولین در یک دام مبتلا به دیابت، اتیلن گلیکول و در انسان تیازیدها، دیازوکسید، فنی‌توئین، فنوتیازین و اسید نیکوتینیک
فیزیولوژیک: فاز دی‌استروس در سگ (پروژسترون)، هیجان، درد و یا فعالیت شدید بدنی (آزادسازی کاتیکول آمین‌ها)، استرس (کورتیکواستروئیدها) ۴-۲ ساعت بعد از مصرف غذا (در حیوانات تک معده‌ای)
پاتولوژیک: دیابت ملیتوس، پانکراتیت، آکرومگالی، گلوکاگونوما، پرکاری غده فوق کلیه (بیماری کوشینگ)، پرکاری تیروئید، پرکاری غده هیپوفیز

جدول ۱. عوامل ایجاد کننده هیپرگلیسمی در دام‌های کوچک

الف) داروها و یا توکسین‌ها: رنج وسیعی از داروها می‌توانند هیپرگلیسمی زودگذر ایجاد کنند. کورتیکواستروئیدها از طریق تحریک گلوکونئوژنز، آزادسازی گلوکاگون و مقاومت انسولینی موجب افزایش گلوکز خون خواهند شد. تجویز خوراکی یا وریدی دکستروز سطح گلوکز خون را افزایش خواهد داد. داروهایی مانند دتومیدین، زایلازین، پروپانولول و تیروکسین مانع آزادسازی انسولین می‌شوند. پروژستین و مورفین موجب ترشح هورمون رشد می‌شوند. کتامین آزادسازی اپی‌نفرین را تحریک می‌کند. مژسترول استات همانند یک استرویید عمل می‌کند و همچنین موجب آزادسازی هورمون رشد می‌شود. تجویز دوز بیش از حد انسولین در یک دام مبتلا به دیابت می‌تواند از طریق اثر سوموگئی (Somogyi effect) موجب هیپرگلیسمی شود که در ادامه توضیح داده خواهد شد. اتیلن گلیکول موجب مهار گلیکولیز و سیکل کربس شده و بنابراین به صورت غیر مستقیم گلوکونئوژنز را تحریک و گلوکز خون را افزایش می‌دهد. در انسان تیازیدها، دیازوکسید، فنی توئین، فنوتیازین و اسید نیکوتینیک با مهار ترشح انسولین سبب افزایش گلوکز خون خواهند شد.

ب) فیزیولوژیک: چندین پدیده فیزیولوژیک می‌توانند موجب هایپرگلیسمی شوند. پروژسترون در طی فاز دی‌استروس موجب آزادسازی هورمون رشد از غدد پستانی سگ می‌شود و بدین ترتیب میزان برداشت گلوکز توسط بافت‌ها کاهش

می‌یابد. آزادسازی کاتیکول آمین‌ها (اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین) در پاسخ به هیجان، درد و یا فعالیت شدید بدنی موجب آزادسازی هورمون رشد، مهار ترشح انسولین و تحریک گلیکوژنولیز می‌شود. این حالت در گربه شدیدتر است. گربه‌ها به کرات هیپرگلیسمی ملایمی را در اثر تقلای زیاد در زمان خون‌گیری نشان می‌دهند. سطح این هایپرگلیسمی اغلب به ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و حتی بیشتر می‌رسد و مدت زمان آن ۱/۵ تا ۲ ساعت به طول می‌انجامد. استرس که در اثر آزادسازی کورتیکواستروئیدها (کورتیزول) ایجاد می‌شود از طریق تحریک گلوکونئوژنز، آزادسازی گلوکاگون و مقاومت انسولینی موجب افزایش گلوکز خون خواهد شد. آزادسازی کورتیکواستروئیدها و کاتیکول آمین‌ها در طی بسیاری از بیماری‌ها موجب هیپرگلیسمی ثانویه می‌شود. به علاوه، همان‌گونه که قبلا بیان گردید در حیوانات تک معده‌ای ۴-۲ ساعت بعد از مصرف غذا افزایش ملایم گلوکز خون دیده می‌شود. سطح گلوکز خون ۴ ساعت پس از خوردن غذا باید به حالت ناشتا برگردد.

ج) بیماری‌های غدد درون ریز: شمار زیادی از بیماری های غدد درون ریز می توانند موجب افزایش گلوکز خون شوند، حتی در برخی موارد ممکن است به دلیل اختلال در تولید یا فعالیت انسولین، هم‌زمان دیابت ملیتوس نیز رخ دهد. آکرومگالی اغلب به دلیل آدنوم هیپوفیز در گربه‌ها اتفاق می‌افتد. فزونی هورمون رشد در این تومور مقاومت انسولینی ایجاد می‌کند. گلوکاگونوما تومور سلول‌های آلفای پانکراس است که میزان زیادی هورمون گلوکاگون تولید می‌کند و مقاومت انسولینی شدیدی در بیمار وجود دارد. پرکاری غده فوق کلیه ناشی از تومور هیپوفیز یا آدرنال یکی از بیماری‌های رایج در سگ‌هاست که ممکن است در برخی بیماران هم‌زمان با دیابت باشد. در تومور فئوکروموسایتوم مقدار زیادی کاتیکول آمین تولید می‌شود که مهار انسولین و گلیکوژنولیز را باعث می‌شود. درصد کمی از گربه‌های درگیر با پرکاری تیروئید هایپرگلیسمی پایدار را نشان می‌دهند که علت آن به ایجاد مقاومت انسولینی باز می‌گردد و مکانیسم دقیق آن مشخص نیست. در پرکاری غده هیپوفیز (ناشی از هیپرپلازی و یا نئوپلازی هیپوفیز) مقدار زیادی هورمون رشد و یا ACTH تولید می‌شود که موجب مقاومت انسولینی و افزایش غلظت کورتیزول خواهند شد.

د) پانکراتیت: هیپرگلیسمی در دام‌های مبتلا به پانکراتیت شایع است که به دلیل افزایش هورمون‌هایی از قبیل کاتیکول آمین‌ها و کورتیزول رخ می‌دهد. در دام‌های مبتلا به ویژه مبتلایان به پانکراتیت مزمن یا راجعه، تخریب سلول‌های بتای پانکراس می‌تواند موجب اختلال در تولید انسولین و دیابت ملیتوس شود.

۲. گلوکز ادرار: در ادرار دام‌های سالم گلوکز وجود ندارد. اکثر دام‌های مبتلا به دیابت در مرحله‌ای به دامپزشک ارجاع داده می‌شوند که سطح گلوکز خون از آستانه دفع کلیوی فراتر رفته (۱۸۰ تا ۲۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در سگ و ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در گربه) و گلوکزاوری، پراردراری و پرنوشی وجود دارد. بنابراین در بسیاری از دام‌های دیابتی هم‌زمان هیپرگلیسمی و گلوکزاوری وجود دارد. آنالیز ادرار از نظر وضعیت گلوکز آزمایش مناسبی برای غربالگری دیابت ملیتوس است. همچنین می‌تواند برای بررسی وضعیت درمان دیابت هم مورد استفاده قرار بگیرد. البته بایستی دقت نمود که گلوکوزاوری اختصاصی دیابت نیست و اختلال‌ها و بیماری‌های دیگری نیز می‌توانند موجب گلوکزاوری شوند که در ادامه ذکر می‌شوند (جدول ۲).

گلوکزاوری همراه با هیپرگلیسمی: گلوکزاوری همراه با هیپرگلیسمی، دیابت ملیتوس، پرکاری غدد فوق کلیه (بیماری کوشینگ)، فئوکروموسایتوم، پانکراتیت، آکرومگالی، درمان با پروژسترون، سپتی سمی، ترس، هیجان و اضطراب در گربه‌ها (افزایش کاتیکول‌آمین‌ها)، خوردن غذا و مایع درمانی با مایعات غنی از گلوکز
گلوکزاوری همراه با مقدار طبیعی گلوکز خون: نفروز (آسیب توکسیک توبول‌ها)، ایسکمی توبولی، آمیلوئیدوز، گلوکزاوری اولیه، سندرم فانکونی

جدول ۲. عوامل ایجاد کننده گلوکزاوری در دام‌های کوچک

هیپرگلیسمی پایدار به همراه گلوکزاوری علاوه بر دیابت ملیتوس در موارد دیگری از قبیل پرکاری غدد فوق کلیه

(بیماری کوشینگ) و به میزان کمتر در تومور فئوکروموسایتوم (Pheochromocytoma)، پانکراتیت، آکرومگالی، درمان با پروژسترون و سپتی‌سمی دیده می‌شود. به علاوه، افزایش کاتیکول آمین‌ها ناشی از ترس، هیجان و اضطراب می‌تواند موجب افزایش موقت گلوکز خون شود. در گربه‌ها ممکن است سطح گلوکز خون از آستانه دفع کلیوی فراتر رود و موجب گلوکزاوری شود.

در برخی بیماری‌های کلیوی ممکن است گلوکزاوری همراه با مقدار طبیعی گلوکز خون (بدون هیپرگلیسمی) وجود داشته باشد. در این موارد به دلیل اختلال در توبول‌های کلیه، بازجذب گلوکز مختل شده و گلوکز وارد ادرار خواهد شد. نفروز (آسیب توکسیک توبول‌ها)، ایسکمی توبولی، آمیلوئیدوز، گلوکزاوری اولیه (Primary renal glucosuria) و سندرم فانکونی (Fanconi syndrome) از جمله مواردی هستند که بدون افزایش گلوکز خون موجب گلوکزاوری می‌شوند. سندرم فانکونی یک آسیب ارثی یا اکتسابی است که اثرات مخرب بر بازجذب مواد در توبول پروکسیمال دارد. در این سندرم ممکن است بازجذب گلوکز، سدیم، کلسیم، بیوکربنات، اسیدهای آمینه و فسفر به صورت تکی یا چندتایی مختل شود. گلوکزاوری اولیه در سگ های تریر اسکاتلندی و الکهوند نروژی (Norwegian elkhounds) موجب گلوکزاوری بدون هایپرگلیسمی می‌شود.

میزان گلوکز ادرار با نوارهای ادراری به صورت نیمه کمی سنجیده می‌شود. این نوارها بسیار هستند و بر اساس واکنش‌های اکسیداسیون- احیا تغییر رنگ پیدا می‌کنند. در صورت وجود ویتامین C و نوارهای ادراری تاریخ گذشته نتایج منفی کاذب بروز می‌کند. همچنین اگر هر کدام از موارد زیر در ادرار وجود داشته باشند و سطح گلوکز در ادرار پایین باشد باز هم ممکن است نتایج منفی کاذب بروز کند: فرمالدهید، اجسام کتونی، بیلی‌روبین به مقدار بالا، سالیسیلات و یا تتراسایکین‌ها. نتایج مثبت کاذب وقتی دیده می‌شوند که نمونه‌ها با مواد اکسیدان یا پراکسید هیدروژن آلوده شود. موارد مثبت کاذب در برخی گربه‌های درگیر با انسداد مجرای ادراری (Urethra obstruction) گزارش شده است، با وجودی که هیچ‌گونه ماده‌ای که موجب تغییر رنگ و ایجاد مثبت کاذب باشد وجود نداشته است.

نکته دیگری که باید دقت نمود این است که نمونه‌های ادرار و خون در یک زمان از دام گرفته شوند. در غیر این صورت اگر ادرار در زمان دیگری گرفته شود ممکن است گلوکزاوری بدون هیپرگلیسمی دیده شود. دلیل این حالت این است که ادرار موجود در مثانه به تدریج و در طی چند ساعت تجمع می‌یابد و هیپرگلیسمی موقت ممکن است موجب حضور گلوکز در ادرار شده باشد اما گلوکز خون در زمان خون‌گیری طبیعی باشد. هیجان و اضطراب، خوردن غذا و مایع درمانی با محلول‌های غنی از گلوکز ممکن است چنین حالتی را ایجاد کنند. گلوکزاوری بعد از مصرف غذا حدود ۱/۵ ساعت به طول می‌انجامد. اما اگر این مدت از ۲ ساعت فراتر رود غیر طبیعی است و باید سطح سرمی گلوکز هم اندازه‌گیری شود. گلکوکزاوری ۲ ساعت بعد از خوردن غذا یکی از شواهد قوی وجود دیابت در دام است.

یک گرم گلوکز در هر دسی‌لیتر ادرار می‌تواند وزن مخصوص ادرار را ۰/۰۰۴ واحد افزایش دهد. گلوکز +۴ در نوار ادرار حدود ۰/۰۱۰ واحد وزن مخصوص ادرار را افزایش می‌دهد. گلوکز اوری می‌تواند رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها را نیز افزایش دهد.

۳. انسولین سرم: سطح انسولین در سرم یا پلاسمای هپارینه قابل اندازه‌گیری است. پلاسمای EDTA ممکن است موجب افزایش کاذب انسولین در برخی روش‌های اندازه‌گیری شود. در روش‌های ایمنواسی موجود از آنتی‌بادی‌های ضد انسولین انسان و خوک برای اندازه گیری استفاده می‌شود. گفته می‌شود واکنش متقاطع خوبی بین انسولین انسان و سگ وجود دارد اما به طور کلی بایستی اعتبارسنجی برای هر گونه دامی انجام شود. انسولین خون کامل تا ۵ ساعت در دمای اتاق پایدار است. انسولین سرم در صورت یخچال گذاری تا یک هفته و در صورت فریز کردن سرم تا چندین ماه پایدار خواهد بود. از آنجایی که هورمون‌های گوارشی، گلوکز و اسیدهای آمینه بر ترشح انسولین اثرگذار هستند، بنابراین بسیار ضروری است که نمونه خون ناشتا از دام گرفته شود.

از لحاظ تئوری، اندازه‌گیری سطح انسولین در مبتلایان به دیابت می‌تواند در تفکیک دیابت وابسته به انسولین از دیابت غیر وابسته به انسولین کمک کننده باشد، اما به صورت عملی چندان مفید نخواهد بود. شمار بسیاری از سگ‌های مبتلا به دیابت سطح انسولین سرم خون پایینی دارند. اغلب گربه‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ (مقاومت انسولینی) از غلظت انسولین سرمی پایینی برخوردارند و نیاز به درمان با انسولین دارند. هیپرگلیسمی‌های طولانی مدت و مسمومیت با گلوکز که عملکرد سلول‌های بتای پانکراس را متاثر می‌کند مسئول این یافته است.

۴. فروکتوزآمین: اندازه‌گیری فروکتوزآمین خون هم در تشخیص دیابت ملیتوس و هم در بررسی صحت روند درمان با انسولین به ویژه در گربه‌ها بسیار مهم است. فروکتوزآمین یک اصطلاح کلی است که به پروتئین متصل به کربوهیدرات اطلاق می‌شود. فروکتوز آمین زمانی که گلوکز با یک اتصال غیرقابل بازگشت به گروه آمین آلبومین یا سایر پروتئین‌ها (به ویژه IgG) در خون متصل می‌شود بوجود می آید. غلظت فروکتوزآمین خون نشان دهنده سطح گلوکز در ۲ تا ۳ هفته گذشته است (بسته به طول عمر پروتئین). اندازه‌گیری فرکتوزآمین بسیار با ارزش است زیرا برعکس غلظت گلوکز خون که سطح گلوکز را در لحظه نمونه‌گیری نشان می‌دهد، فرکتوزآمین شاخصی از متابولیسم گلوکز در طی ۳-۲ هفته گذشته است. بنابراین فرکتوزآمین قابلیت تشخیص دیابت ملیتوس و همچنین بررسی وضعیت درمان آن را دارد. آماده‌سازی سرم جهت اندازه‌گیری فروکتوز آمین شبیه سایر موارد گفته شده است. فروکتوز آمین سرم در صورت یخچال گذاری تا حدود ۱۰ روز و در فریزر تا حدود ۳۰ روز قابلیت اندازه‌گیری را دارد. همولیز می‌تواند منجر به پاسخ اشتباه در اندازه‌گیری این شاخص شود. هیپرپروتئینمی و هیپربیلیروبینمی چندان تاثیری در میزان آن ندارند.

بالا بودن غلظت فروکتوزآمین نشان دهنده افزایش پایدار گلوکز خون است. در مبتلایان به دیابت ملیتوس که تحت درمان هستند بالا بودن غلظت آن شاخصی از عدم کنترل مناسب سطح گلوکز خون در طی ۲ تا ۳ هفته گذشته خواهد بود. از آنجایی که حتی در دیابتی های به خوبی کنترل شده نیز هیپرگلیسمی یک یافته رایج است، آستانه مورد استفاده برای تعیین کنترل نامناسب دیابت (۵۰۰ میکرومول در لیتر) بیشتر از آستانه در افراد غیر دیابتی است (۳۶۵ میکرومول در لیتر). به عبارت دیگر در یک دام دیابتی تحت درمان، غلظت فروکتوزآمین بالاتر از ۵۰۰ میکرومول در لیتر نشان دهنده عدم کنترل مناسب بیماری و نیاز به اصلاح برنامه درمان است.

فروکتوزآمین برای تشخیص دیابت ملیتوس به ویژه در گربه‌ها بسیار مفید است. در گربه‌ها هیجان و افزایش کاتیکول آمین‌ها می‌تواند میزان گلوکز خون را تا حد ۴۰۰ میلی گرم در دسی‌لیتر افزایش دهد و حتی منجر به گلوکزاوری شود. اندازه‌گیری فروکتوزآمین سرم خون برای تمایز هیپرگلیسمی دیابتی از هیپرگلیسمی ناشی از هیجان کمک کننده خواهد بود. در گربه‌های هیجانی سطح فروکتوز آمین خون در محدوده طبیعی است زیرا هیپرگلیسمی در این دام‌ها موقت و گذرا است، در حالی‌که برای افزایش فروکتوزآمین نیاز است که حداقل چهار روز به صورت مداوم غلظت گلوکز خون بالا باشد. حساسیت و ویژگی اندازه‌گیری فروکتوزآمین برای تشخیص دیابت در گربه‌ها به ترتیب ۹۳٪ و ۸۶٪ و در سگ ها به ترتیب ۸۸٪ و ۹۹٪ است.

افزایش ملایم فروکتوزآمین در برخی سگ‌های مبتلا به کم کاری تیروئید بدون اینکه هیپرگلیسمی داشته باشند گزارش شده است. در کم‌کاری تیروئید سرعت تخریب پروتئین‌ها کاهش و طول عمر پروتئین‌های خون افزایش خواهد یافت. از همین رو پروتئین‌ها فرصت بیشتری برای اتصال به گلوکز در اختیار دارند.

ذکر این نکته بسیار ضروری است که یکسری عوامل و بیماری ها موجب کاهش فروکتوزآمین می شوند که بایستی در هنگام تفسیر مورد نظر قرار داد. انسولینما از طریق ایجاد هیپوگلیسمی پایدار موجب کاهش فروکتوز آمین خون می گردد. به علاوه، کاهش پروتئین خون (هیپوپروتئینمی) موجب کاهش فروکتوزآمین خواهد شد. به همین دلیل در

سگ و گربه باید مقدار فروکتوزآمین را با توجه به مقدار پروتئین و آلبومین خون تصحیح کرد.

در سگ‌های دچار اختلال های پروتئینی (کاهش یا افزایش پروتئین‌های خون) از فرمول زیر برای اصلاح غلظت فروکتوزآمین استفاده می شود:

(آلبومین بیمار÷آلبومین نرمال) × فروکتوزآمین اندازه‌گیری شده=فروکتوزآمین اصلاح شده

منظور از آلبومین نرمال در فرمول بالا میانه محدوده طبیعی آلبومین در سگ است.

در گربه‌های دچار اختلال‌های پروتئینی (کاهش یا افزایش پروتئین‌های خون) از فرمول زیر برای اصلاح غلظت فروکتوزآمین استفاده می‌شود:

(پروتئین تام بیمار÷پروتئین تام نرمال)× فروکتوزآمین اندازه‌گیری شده=فروکتوزآمین اصلاح شده

منظور از پروتئین تام نرمال در فرمول بالا میانه محدوده طبیعی پروتئین تام در گربه است.

از دیگر عوامل کاهش فروکتوزآمین می‌توان به پرکاری تیروئید در گربه‌ها اشاره کرد. در این گربه‌ها حتی با وجود میزان گلوکز طبیعی خون کاهش فروکتوزآمین دیده می‌شود. همچنین در برخی درگیری‌های انگلی بدون حضور هیپوگلیسمی یا هیپوپروتئینمی کاهش فروکتوزآمین رخ می‌دهد. به عنوان مثال در سگ‌های آلوده به انگل آنژیواسترونجیلوس (Angiostrongylus) و یا گوسفندان مبتلا به تلادرساژیا (Teladorsagia) این حالت دیده می‌شود. به علاوه در سگ‌های درگیر با ازوتمی یا هایپرلیپیدمی کاهش فروکتوزآمین به چشم می‌خورد.

۵. هموگلوبین گلیکوزیله: هموگلوبین گلیکوزیله حاصل اتصال غیر قابل برگشت گلوکز و هموگلوبین است که در طی عمر گلبول قرمز شکل می‌گیرد. گلبول‌های قرمز قدیمی‌تر میزان هموگلوبین گلیکوزیله بیشتری در مقایسه با گلبول‌های قرمز جوان‌تر دارند. غلظت هموگلوبین گلیکوزیله در مقایسه با فروکتوزآمین میزان گلوکز خون را در مدت زمان طولانی‌تری بررسی می‌کند. دلیل این امر طولانی‌تر بودن طول عمر گلبول‌های قرمز (۱۱۰ روز در سگ و ۷۰ روز در گربه) در مقایسه با پروتئین‌های خون است. هموگلوبین گلیکوزیله بسته به گونه دام سطح گلوکز خون را در طی ۳-۲ ماه گذشته نشان می‌دهد. مشابه فروکتوزآمین، هموگلوبین گلیکوزیله برای تشخیص دیابت ملیتوس و بررسی پاسخ به درمان و کنترل دیابت به ویژه در انسان به کار می‌رود اما در دامپزشکی اندازه‌گیری آن چندان معمول نیست. غلظت هموگلوبین گلیکوزیله بعد از رسیدن گلوکز خون به میزان طبیعی به سرعت پایین نمی‌آید چرا که این اتفاق نیازمند جایگزینی گلبول‌های قرمز جدید است. کاهش غلظت هموگلوبین گلیکوزیله با تاخیر چند هفته‌ای بروز می‌کند. در مقایسه با هموگلوبین گلیکوزیله، غلظت فروکتوزآمین با کاهش میزان گلوکز سریع‌تر کاهش می‌یابد.

هموگلوبین گلیکوزه در خون کامل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA قابل اندازه‌گیری است و در صورت نگهداری خون در یخچال به مدت ۷ روز پایدار است. این شاخص می‌تواند در حیوانات کم خون با کاهش مواجه شود چرا که غلظت هموگلوبین کم می‌شود و برعکس در پلی‌سیتمی با افزایش آن روبرو هستیم.

۶. منحنی سریالی گلوکز: در اغلب سگ‌ها و بیش از ۷۰ درصد گربه‌های مبتلا به دیابت ملیتوس نیاز به تجویز انسولین برای کنترل بیماری وجود دارد. در این دام‌ها نیاز است که منحنی سریالی گلوکز رسم شود. بدین منظور پس از تجویز انسولین در فواصل ۲-۱ ساعته غلظت گلوکز خون اندازه‌گیری می‌شود تا بتوان از کارآیی درمان و مناسب بودن دوز انسولین اطمینان حاصل کرد. در هنگام تفسیر منحنی سریالی گلوکز فاکتورهای متعددی باید مورد توجه قرار گیرند که شامل نوع و مدت زمان تجویز انسولین (هر ۱۲ یا ۲۴ ساعت)، زمان مصرف غذا و استرس یا هیجانی که در طی این آزمایش به دام وارد می‌شود.

گاهی برای جلوگیری از استرس و هیجان، صاحب حیوان در منزل با استفاده از دستگاه‌های پرتابل غلظت گلوکز را در زمان‌های معین اندازه‌گیری می‌نماید و بعد دامپزشک به رسم منحنی می‌پردازد. منحنی سریالی گلوکز برای اطمینان از موارد زیر رسم می‌گردد: غلظت گلوکز خون به دنبال تجویز انسولین کاهش می‌یابد، کاهش گلوکز خون در حدی شدید نیست که موجب هیپوگلیسمی شود و طول مدت اثر انسولین

مناسب است. برای رسم منحنی ابتدا میزان گلوکز خون ساعت هشت صبح اندازه‌گیری شده و پس از تجویز انسولین هر یک یا دو ساعت میزان گلوکز خون اندازه‌گیری می‌شود. اگر تزریق انسولین هر ۱۲ ساعت یک‌بار باشد این کار را تا ساعت دوازدهم و اگر هر ۲۴ ساعت یک‌بار باشد تا ساعت بیست و چهارم میزان گلوکز خون اندازه‌گیری می‌شود. انتظار می‌رود که به دنبال تجویز انسولین سطح گلوکز خون در سگ در محدوده ۱۰۰ تا ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و در گربه در محدوده ۱۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد. بایستی حداقل ۸ تا ۱۰ ساعت در ۲ بار تجویز انسولین در روز و حداقل ۲۰ ساعت در یکبار تجویز، سطح گلوکز در این محدوده باشد.

در سگ با توجه به نکات زیر می توان نسبت به تعیین دوز انسولین تصمیم گیری نمود:

- در صورتی‌که حداقل غلظت گلوکز خون بیشتر از ۱۴۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و غلظت گلوکز در ساعات ۸ صبح و ۸ شب بیشتر از ۱۸۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد لازم است که دوز انسولین افزایش یابد.

- اگر حداقل گلوکز خون بین ۱۴۵-۹۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و گلوکز خون در ساعات ۸ صبح و ۸ شب بیشتر از ۱۸۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد نیازی به تغییر دوز انسولین نیست.

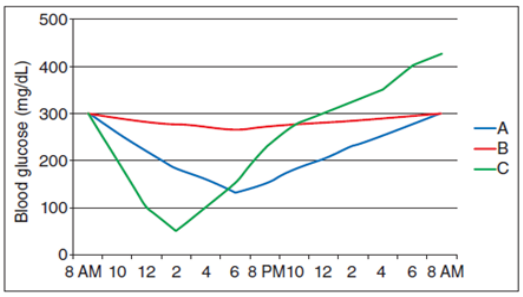
- اگر حداقل گلوکز خون کمتر از ۹۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و گلوکز خون در ساعات ۸ صبح و ۸ شب کمتر از ۱۸۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد بایستی دوز انسولین را کاهش داد.

- در صورتی‌که طول دوره اثر انسولین کوتاه است (برای مدت کوتاهی سطح گلوکز خون پایین نگه داشته می‌شود) می‌توان هر دوازده ساعت انسولین را تجویز نمود و یا از انسولین طولانی اثر استفاده کرد.

- در صورت مشاهده اثر سوموگئی بایستی دوز انسولین را کاهش داد و یک هفته بعد منحنی سریالی گلوکز را تکرار نمود. اثر سوموگئی یک هیپرگلیسمی پس از هیپوگلیسمی است که به دنبال تجویز بیش از حد انسولین رخ می‌دهد. به دنبال تجویز دوز بالایی انسولین سطح گلوکز خون افت می‌کند (هیپوگلیسمی) که خود محرک ترشح هورمون‌های گلوکاگون، اپی‌نفرین، کورتیوزل و هورمون رشد خواهد شد. این هورمون‌ها موجب افزایش سریع گلوکز خون خواهند شد. در این شرایط یک دام سالم سعی می‌کند با ترشح انسولین توسط پانکراس مانع از ایجاد هیپرگلیسمی شود. اما در یک دام دیابتی که اختلال در تولید انسولین وجود دارد، هیپرگلیسمی ایجاد خواهد شد. این نوع هیپرگلیسمی را نباید به اشتباه به عنوان شاهدی از کم بودن دوز انسولین تفسیر نمود. بلکه برعکس دلیل رخداد آن دوز بیش از حد انسولین است و باید نسبت به کاهش دوز اقدام نمود.

- در صورتی‌که به دنبال تجویز انسولین تغییر محسوسی در سطح گلوکز خون مشاهده نشود به چند نکته باید دقت نمود: ممکن است دوز انسولین پایین باشد، انسولین استفاده شده تاریخ گذشته یا خراب باشد، صاحب دام در تزریق انسولین مشکل داشته باشد و یا میزان کالری دریافتی از غذا افزایش یافته باشد. در صورتی‌که حتی به دنبال افزایش دوز انسولین گلوکز خون کاهش محسوسی نشان ندهد، احتمالا مقاومت انسولینی وجود دارد. این حالت در گربه‌ها بیشتر از سایر دام‌ها اتفاق می‌افتد. مقاومت انسولینی در برخی بیماران به دلیل وجود همزمان استرس، بیماری کوشینگ، عفونت‌ها، کم‌کاری تیروئید، پانکراتیت یا آکرومگالی رخ می‌دهد. در صورت مشاهده مقاومت انسولینی بایستی عامل زمینه‌ساز را در صورت وجود برطرف نمود و از سایر روش‌های درمانی مانند داروهای خوراکی کاهنده گلوکز در کنار انسولین استفاده نمود.

اصول کلی در گربه شبیه به سگ است با این تفاوت که مقادیر اندکی بالاتر است، به عنوان مثال حداقل مقدار گلوکز خون باید بین ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد (شکل ۱).



شکل ۱. منحنی سریالی گلوکز در سه گربه دیابتی. هر سه گربه در ساعت ۸ صبح انسولین دریافت کرده‌اند. در گربه A کنترل مناسبی رخ داده است زیرا حداقل غلظت گلوکز خون ۱۲۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر است و در طی ۲۴ ساعت بین ۱۲۵ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باقی‌مانده است. گربه B پاسخ ضعیفی به انسولین داده است که می‌تواند به دلیل دوز پایین انسولین باشد. گربه C به سرعت هیپوگلیسمی را نشان داده است که با هیپرگلیسمی دنبال شده است. این حالت اثر سوموگئی نام دارد که به دلیل تغییرات هورمونی ناشی از تجویز دوز بیش از حد انسولین رخ می‌دهد.

۷.سیستم ارزیابی مداوم گلوکز (Continuous Glucose Monitoring System; CGMS): سیستم ارزیابی مداوم گلوکز روش پیشرفته و جدیدی جهت بررسی متابولیسم گلوکز در حیوانات دیابتی است. در این سیستم از حس‌گرهایی در زیر پوست استفاده می‌شود که در طی شبانه روز ۲۸۸ بار غلظت گلوکز را در مایع بینابینی اندازه‌گیری می‌کنند. گلوکز مایع بینابینی همبستگی خوبی با گلوکز خون دارد. یک نوع تجاری از این سیستم در سگ و گربه امتحان شده است. این روش محدودیت‌های منحنی سریالی گلوکز از قبیل خون‌گیری‌های مکرر و مشکلات مقید کردن دام را ندارد و اطلاعات و جزییات بیشتری درباره متابولیسم گلوکز در اختیار ما قرار می‌دهد زیرا که گلوکز را هر ۵ دقیقه یک‌بار اندازه می‌گیرد.

۸. آزمایش‌های تحمل گلوکز: آزمایش‌های تحمل خوراکی و وریدی گلوکز برای تشخیص هیپرانسولینیسم ناشی از انسولینوما به کار می‌رود. این آزمایش‌ها همچنین برای تائید یا رد دیابت ملیتوس در دام‌هایی که هیپرگلیسمی پایدار بدون گلوکزاوری (سطح گلوکز خون کمتر از آستانه دفع کلیوی است) دارند به کار می‌رود. در بیمارانی که دیابت ملیتوس در آن‌ها تائید شده است، از آزمایش تحمل گلوکز وریدی همراه با اندازه‌گیری انسولین پس از تزریق گلوکز می‌توان جهت تعیین نوع دیابت استفاده نمود.

آزمایش تحمل گلوکز خوراکی (Oral glucose tolerance test, OGTT): در این آزمایش در ابتدا یک نمونه خون ناشتا (۱۲ ساعت عدم دریافت کالری) از سگ گرفته شده و سپس ۱/۷۵ گرم گلوکز به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تجویز می‌گردد. به مدت ۳ ساعت هر ۳۰ دقیقه نمونه‌های خون بعدی اخذ خواهد شد. در یک سگ سالم حداکثر میزان گلوکز خون در دقایق ۳۰ تا ۶۰ و در حدود ۱۶۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر خواهد بود و در دقایق ۱۲۰ تا ۱۸۰ به مقدار ناشتا برخواهد گشت. ناتوانی در رسیدن به مقادیر ذکر شده نشان دهنده اختلال در بازجذب روده‌ای، تاخیر در تخلیه معده یا استفراغ خواهد بود. در صورتی‌که حداکثر غلظت گلوکز خون مشاهده شده کمتر از مقدار مورد انتظار باشد (افزایش تحمل گلوکز) اختلال‌هایی از قبیل کم‌کاری تیروئید، نارسایی آدرنال، کم‌کاری هیپوفیز و هیپرانسولینسیم مورد شک خواهند بود. عدم بازگشت گلوکز خون به مقادیر ناشتا در زمان مورد انتظار نشان دهنده عدم تحمل گلوکز (Glucose intolerance) است که می‌تواند به دلیل دیابت ملیتوس، پرکاری آدرنال، پرکاری تیروئید و نارسایی کبد باشد. به علاوه جیره غذایی غنی از چربی نیز می‌تواند موجب عدم تحمل گلوکز شود. بعد از بازگشت گلوکز به مقادیر ناشتا، یک فاز هیپوگلیسمی موقت رخ می‌دهد که با آزادسازی گلوکاگون این فاز برطرف شده و غلظت گلوکز به سطح پایه برخواهد گشت. در صورت اختلال در ترشح گلوکاگون، هیپوگلیسمی شدیدی در این مرحله ممکن است رخ دهد.

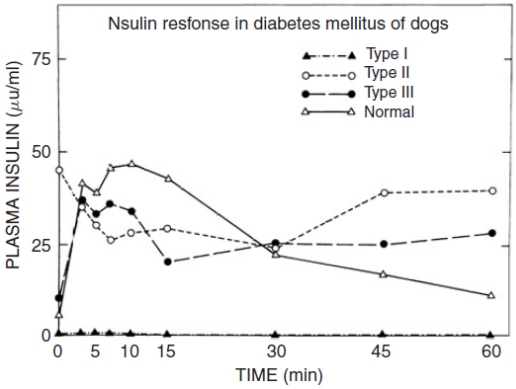
آزمایش تحمل گلوکز وریدی (Intravenous glucose tolerance test; IVGTT): روش انجام این آزمایش به این صورت است که ابتدا یک نمونه خون ناشتا از دام اخذ شده و یک گرم گلوکز به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت وریدی و در قالب محلول دکستران ۵۰٪ استریل به دام تزریق می‌شود. سپس در دقایق، ۵ ، ۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۵ و ۶۰ خون‌گیری انجام می‌شود. در گربه یک نمونه دیگر در دقیقه ۱۲۰ گرفته خواهد شد. مقادیر گلوکز در زمان‌های مختلف بر روی کاغذهای لگاریتمی گراف رسم می‌شود. زمان لازم برای نصف شدن (T1/2، کاهش ۵۰ درصدی) گلوکز از روی نمودار

محاسبه می‌گردد که این زمان در سگ‌های سالم معمولا ۴۵ دقیقه یا کمتر است. با توجه به فرمول زیر ضریب پاک‌سازی گلوکز یا ضریب k محاسبه می‌گردد:

$$k = \frac{0.693}{T_{1/2}} \times 100$$

ضریب k سرعت پاک شدن گلوکز از خون است که برحسب درصد در دقیقه (%/m). میزان طبیعی T1/2 و ضریب k در سگ‌های سالم به ترتیب ۸ ± ۲۵ و ۰/۹۱ ± ۲/۷۶ است. در یک دام مبتلا به دیابت T1/2 افزایش و ضریب k کاهش خواهد یافت. به علاوه، پیک دقیقه ۵ در دیابتی‌ها به شدت بالا خواهد بود و سطح گلوکز خون در دقیقه ۶۰ به مقدار ناشتا برنخواهد گشت. علاوه بر دیابت ملیتوس، اختلال‌های دیگری از قبیل پرکاری آدرنال، پرکاری تیروئید و نارسایی کبد نیز می‌توانند همراه با عدم تحمل گلوکز باشند. بر عکس، اختلال‌هایی مانند کم‌کاری آدرنال، کم‌کاری هیپوفیز، کم‌کاری تیروئید و هیپرانسولینیسم همراه با افزایش تحمل گلوکز خواهند بود.

در آزمایش تحمل وریدی گلوکز می‌توان انسولین را نیز در نمونه‌های خون اخذ شده اندازه‌گیری نمود و با توجه به پاسخ انسولینی به دنبال تزریق گلوکز نوع دیابت را تعیین نمود. در بسیاری از گونه‌های دامی سالم ظرف ۱۵ دقیقه از تزریق گلوکز غلظت انسولین خون به حداکثر رسیده و در دقیقه ۶۰ به مقدار اولیه برخواهد گشت. در گربه‌های سالم ۱۲۰ دقیقه زمان لازم است تا انسولین خون به مقدار اولیه بازگردد. دیابت ملیتوس در سگ بر اساس پاسخ انسولینی به سه نوع قابل تقسیم است. در نوع یک میزان انسولین پایه (انسولین ناشتا قبل از تزریق گلوکز) کاهش یافته یا غیر قابل اندازه‌گیری است و هیچ پاسخ انسولینی به دنبال تزریق گلوکز دیده نخواهد شد. در نوع دو میزان انسولین پایه طبیعی تا افزایش یافته است اما به دنبال تزریق گلوکز غلظت انسولین خون افزایش نخواهد یافت. در دیابت نوع سه میزان انسولین پایه طبیعی تا افزایش یافته است و به دنبال تزریق گلوکز پاسخ انسولینی ناکافی است و با تاخیر به مقدار پایه برخواهد گشت (شکل ۲). دیابت‌های نوع دو و سه خود به انواع چاق و غیر چاق تقسیم‌بندی می‌شوند. تعیین نوع دیابت با این روش می‌تواند در انتخاب درمان مناسب کمک کننده باشد. دیابت‌های نوع یک و نوع دو غیر چاق حتما به تجویز انسولین جهت درمان نیاز دارند. سگ‌های مبتلا به دیابت نوع دو چاق و نوع سه به درمان با داروهای خوراکی کاهنده گلوکز خون پاسخ مناسبی نشان می‌دهند. اگر چه انواع مختلفی از دیابت بر اساس پاسخ انسولینی قابل توصیف است اما در حال حاضر این طبقه‌بندی‌ها در دامپزشکی چندان مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. در حقیقت تمامی سگ‌ها و بیش از ۷۰ درصد گربه‌های مبتلا به دیابت از کمبود واقعی انسولین رنج می‌برند و نیاز به درمان با انسولین دارند.



شکل ۲. پاسخ انسولینی به دنبال تزریق وریدی گلوکز در سگ‌های سالم و سگ‌های مبتلا به انواع مختلف دیابت.

۹. آزمایش تحریک گلوکاگون (Glucagon Stimulation Test): به دنبال تزریق گلوکاگون سطح گلوکز خون افزایش می‌یابد که به نوبه خود موجب تحریک تولید انسولین توسط پانکراس می‌شود. آزمایش تحریک گلوکاگون جهت ارزیابی پاسخ انسولینی بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آزمایش در انسان و در گربه جهت تفکیک دیابت نوع ۱ از دیابت نوع ۲ به کار می‌رود. در دیابت نوع ۱ پس از تجویز گلوکاگون پاسخ انسولینی یا بسیار اندک است و یا دیده نمی‌شود. در گربه‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ به دنبال تجویز گلوکاگون پاسخ انسولینی قابل توجهی را نشان می‌دهند. این آزمایش به صورت روتین در دامپزشکی استفاده نمی‌شود و بیشتر جنبه تحقیقاتی دارد.

روش انجام آزمایش به این صورت است که ۳۰ ماکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دام گلوکاگون به صورت داخل وریدی تجویز می‌شود. اخذ نمونه خون در دقایق صفر (پیش از تزریق) و دقایق ۵، ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ پس از تزریق انجام می‌گیرد و سطح گلوکز و انسولین خون مورد سنجش واقع می‌شود. در گربه‌های سالم در دقیقه ۱۵ حداکثر میزان پاسخ انسولینی مشاهده می‌شود و تا دقیقه ۶۰ سطح انسولین به مقدار اولیه باز می‌گردد. در گربه‌های مبتلا به دیابت نوع یک هیچ‌گونه پاسخ انسولینی بدنبال تزریق گلوکاگون مشاهده نمی‌شود. اما در مبتلایان به دیابت نوع دو افزایش انسولین شبیه به گربه‌های سالم دیده خواهد شد.

۱۰. آزمایش تحمل انسولین (Insulin Tolerance Test): این آزمایش به ندرت جهت بررسی مقاومت انسولینی در دیابت نوع دو به کار می‌رود. در این تست انسولین به میزان ۰/۱ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل عضلانی و یا زیر پوستی تجویز می‌شود. اخذ نمونه خون هر نیم ساعت یک‌بار تا سه ساعت ادامه می‌یابد و سپس میزان گلوکز نمونه‌های خون اندازه‌گیری می‌شود. در یک دام سالم سطح گلوکز خون ظرف ۳۰-۲۰ دقیقه به حدود ۵۰ درصد میزان ناشتا می‌رسد و در حدود ساعت ۱/۵ تا ۲ به سطح ناشتا برمی‌گردد. در این آزمایش ممکن است با دو حالت غیر طبیعی برخورد شود. حالت اول زمانی است که مقاومت انسولینی وجود دارد. در این حالت سطح گلوکز خون به ۵۰ درصد میزان پایه بازنمی‌گردد و یا ممکن است به زمان بیشتر از ۳۰ دقیقه برای نصف شدن نیاز داشته باشد. این وضعیت در بیماری‌های نظیر پرکاری هیپوفیز، پرکاری آدرنال و دیابت نوع دو اتفاق می‌افتد. در حالت دوم هیپوگلیسمی طولانی مدت رخ می‌دهد و گلوکز خون ظرف دو ساعت به حالت پایه بازنمی‌گردد. این حالت در تومور سلول‌های بتا، کم‌کاری تیروئید و کم‌کاری آدرنال مشاهده می‌شود.

سایر یافته‌های آزمایشگاهی دیابت ملیتوس

خون شناسی: در آزمایش‌های خون شناسی دام‌های مبتلا به دیابت ممکن است افزایش هماتوکریت و پروتئین تام پلاسما مشاهده شود. دلیل افزایش این پارامترها دهیدراسیون ناشی از پرادراری است. لوکوگرام التهاب یا استرس ممکن است در تابلوی گلبول‌های سفید خون دیده شود.

ازتمی و کاهش وزن مخصوص ادرار: ازتمی پیش کلیوی ممکن است در برخی مبتلایان به دیابت به دلیل دهیدراسیون رخ دهد. اگر چه ضایعات گلومرولی در سگ‌ها و گربه‌های دیابتی گزارش شده است، اما فرم بالینی بیماری کلیوی در این دام‌ها ثابت نشده است. کاهش وزن مخصوص ادرار در دیابتی‌هایی که گلوکز اوری دارند مشاهده می‌شود که دلیل آن اثرات اسموتیک گلوکز است. ازتمی همراه با کاهش وزن مخصوص ادرار ممکن است به اشتباه نارسایی کلیوی را به ذهن متبادر سازد.

افزایش یا کاهش فسفر خون: افزایش فسفر خون ممکن است در برخی مبتلایان به دیابت به دلیل دهیدراسیون رخ دهد. برعکس، در برخی دیابتی‌ها ممکن است کاهش فسفر خون مشاهده شود که دلیل آن در ادامه ذکر خواهد شد.

پیوری، هماچوری و پروتئین اوری: عفونت مجاری ادراری در دام‌های دیابتی شایع است. چنین عفونتی منجر به افزایش تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، باکتری و پروتئین در ادرار خواهد شد. مشاهده پروتئین اوری به تنهایی می‌تواند حاکی از آسیب گلومرول‌های کلیه‌ها باشد که در انسان‌های مبتلا به دیابت شایع است ولی در دام‌ها ثابت نشده است.

کتون اوری: کمبود انسولین در مبتلایان به دیابت موجب افزایش تبدیل اسیدهای چرب به اجسام کتونی خواهد شد و کتونمی (افزایش اجسام کتونی خون) و کتون اوری (افزایش اجسام کتونی ادرار) رخ خواهد داد. آستانه کلیوی اجسام کتونی بسیار پایین است، بنابراین کتون اوری ممکن است قبل از کتونمی رخ دهد. بایستی توجه نمود که گرسنگی طولانی مدت به هر دلیلی رخ دهد می‌تواند موجب کتونمی و کتون اوری در سگ و گربه شود.

اسیدوز متابولیک (کتواسیدوز): اجسام کتونی خاصیت اسیدی داشته و افزایش غلظت آن‌ها موجب اسیدوز متابولیک همراه با افزایش شکاف آنیونی (Anion gap) در دام دیابتی خواهد شد که در مواردی بسیار کشنده خواهد بود.

تغییرات الکترولیت‌ها: دیورز اسموزی و کتون اوری موجب خروج سدیم، کلر، پتاسیم و فسفر از طریق ادرار خواهند شد. بنابراین در دام‌های مبتلا به دیابت هیپوناترمی، هیپوکلرمی و به میزان کمتری هیپوکالمی و هیپوفسفاتمی رخ می‌دهد. غلظت پتاسیم خون در برخی دیابتی‌ها به ویژه آن‌هایی که اسیدوز دارند، نه تنها کاهش یافته نیست بلکه ممکن است طبیعی یا حتی افزایش یافته باشد. دلیل این امر انتقال پتاسیم داخل سلولی به مایع خارج سلولی و خون است. اما در همین بیماران نیز سطح پتاسیم تام بدن کمتر از حد طبیعی است. از آنجایی که انسولین موجب بازگشت پتاسیم به داخل سلول ها می‌شود، درمان دیابت با انسولین می‌تواند موجب هیپوکالمی شدیدی در دام شود. بنابراین بسیار ضروری است که دامپزشک در هنگام درمان دیابت به ویژه در مراحل حاد بیماری به سطح پتاسیم خون توجه نماید. علاوه بر پتاسیم، انسولین می‌تواند موجب انتقال فسفر از خون به داخل سلول‌ها شود. بنابراین ممکن است به دنبال تجویز انسولین وضعیت هیپوفسفاتمی تشدید شود و سطح فسفر خون به کمتر از ۱/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر برسد. هیپوفسفاتمی شدید می‌تواند منجر به همولیز، اختلال در فعالیت گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها و مشکلات عضلانی شود.

افزایش اسمولاریته خون: هیپراسمولاریتی معمولا در دیابتی‌هایی که سطح گلوکز خون آن‌ها بیشتر از ۶۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر است رخ می‌دهد. اسمولاریته بالاتر از ۳۵۰ میلی‌اسمول در لیتر موجب عوارض عصبی و گوارشی خواهد شد.

افزایش آنزیم‌های کبدی و پانکراسی و بیلی‌روبین: تغییرات متابولیکی در بیماران دیابتی موجب تجمع چربی در کبد خواهد شد. تجمع چربی در کبد منجر به افزایش آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین در خون خواهد شد. به علاوه برخی دام‌های دیابتی از پانکراتیت نیز رنج می‌برند که در این بیماران افزایش آنزیم های آمیلاز و لیپاز وجود دارد.

افزایش چربی‌های خون: افزایش تری‌گلیسرید، کلسترول و اسیدهای چرب آزاد به دلیل افزایش تجزیه چربی‌ها در بافت چربی، کاهش تخریب کلسترول در کبد و افزایش تولید لیپوپروتئین VLDL در کبد رخ می‌دهد. افزایش غلظت VLDL ممکن است موجب لیپمی واضح (شیری رنگ شدن سرم و پلاسمای خون) در برخی دیابتی‌ها شود.

منابع

1. Kaneko H. Thyroid function. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, editors. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th ed. San Diego, USA:Academic Press; 2008. p. 623-634.
2. Latimer KS. Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology, 5th ed. John Wiley & Sons; 2011.
3. Stockham SL, Scoth MA. Fundamentals of veterinary clinical pathology, 2nd ed. Iowa, USA: Blackwell Publlshing; 2008.
4. Thrall MA, Allison R, Weiser G, Campbell T. Veterinary hematology and clinical chemistry, 2nd ed. 2012.
5. Mooney CT, Peterson M. BSAVA manual of canine and feline endocrinology, 4th ed. Quedgeley, Gloucester:British Small Animal Veterinary Association; 2012.
6. Ad Rijnberk, Hans S. Kooistra Clinical endocrinology of dogs and cats. An illustrated tex, 2nd ed. Schlutersche, Hannover; 2012.

Abstracts in English

Diabetes Mellitus: laboratory findings and diagnosis in dogs and cats

Mahsa Mohtadi[1], Mohammad Heidarpour[2*]

1. Resident of Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

2. Assoc. Prof. Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

*heidarpour@um.ac.ir

Diabetes mellitus is a persistent hyperglycemia caused by a deficiency of insulin production or an interference with the action of insulin in target tissues. Although diabetes mellitus has been reported in virtually all animals it is most frequently found in dogs and cats. Estimate of the incidence of diabetes is 0.3%-0.6% for dogs and 0.43%-1.2% for cats. The disease in dogs occurs most frequently in the mature or older female, while male cats appear to be more commonly affected than females. Polyuria, polydipsia, polyphagia and weight loss are the main clinical signs observed in diabetic patients. Sever complications such as ketoacidosis and hyperosmolality might be occurred in some cases resulting in lethargy, reduced water intake and vomiting. Diagnosis of diabetes mellitus should be considered based on related clinical signs, persistent hyperglycemia and glycosuria. Repeating measurements of blood glucose level is necessary for diabetes mellitus diagnosis. However, hyperglycemia along with glycosuria and ketonemia in one sampling could also be diagnostic for the disease. Other laboratory tests including blood fructosamine and glycated hemoglobin and glucose tolerance tests can also be helpful in rule in or rule out of the disease. At the beginning of diabetes mellitus treatment, stablishing a serial glucose curve might be beneficial for finding the best dosage of insulin therapy. Blood and urine glucose, blood fructosamine and glycated hemoglobin are effective indices for evaluating successful insulin therapy.

Key words: Diabetes Mellitus, Hyperglycemia, Laboratory diagnosis, Dog, Cat

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

غده تیروئید: بیماری‌ها و روش‌های تشخیص آزمایشگاهی در دام کوچک

مائده قاری[۱]، نیلوفر عابدی[۱]، محمد حیدرپور[۲*]

۱. رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد
۲. دانشیار کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

*heidarpour@um.ac.ir

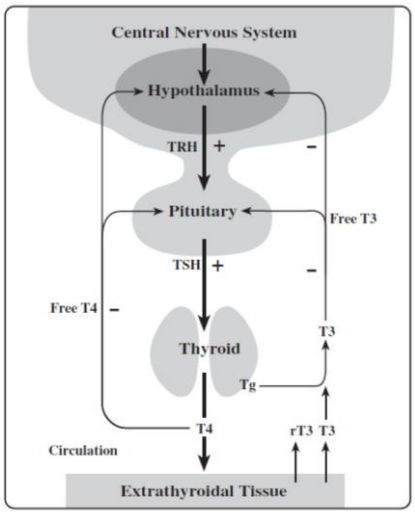
چکیده

بیماری‌های غده تیروئید جز شایع‌ترین اختلال‌های غدد درون ریز هستند. کم‌کاری تیروئید در سگ‌ها شایع است در گربهـه ندرت رخ می‌دهد. پرکاری یکی از بیماری‌های رایج در گربه‌ها و غیر رایج در سگ‌ها است. کم‌کاری تیروئید اغلب در سگ‌های میانسال تا پیر با علائم بالینی از قبیل افزایش وزن و چاقی، بی‌حالی، پوشش مویی نامناسب، عدم تحمـل سـرما و جسـتجوی مکان‌های گرم، ناباروری، موریختگی غیـر شـوره‌ای و هیپرپیگمنتاسـیون در محـل مـوریختگی‌هـا رخ مـی‌دهـد. یافتـه‌هـای آزمایشگاهی این بیماری می‌تواند شامل کم‌خونی ملایم، افـزایش آنـزیم‌هـای کبـدی و آنـزیم کـراتین کینـاز باشـد. افـزایش تری‌گلیسریدها و لیپیدهای خون در بیشتر بیماران رخ می‌دهد. افزایش کلسترول خون در بیش از ۸۰ درصد سگ‌های مبتلا دیده می‌شود و اگر بیشتر از ۵۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد احتمال وجود کم‌کاری تیروئید را تقویت می‌کند. انـدازه‌گیـری غلظت پایه T4 تام خون (Total T4, TT4) باید به عنوان اولین آزمایش تشخیصی در هنگامی‌که کم‌کاری تیروئید تشخیص داده می‌شود، انجام شود. است اما در ۲۰ درصد سگ‌ها بدون کم‌کاری تیروئید نیز ممکن است TT4 کاهش یابد. همچنین در ۱۰ درصد سگ‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید ممکن است TT4 در محدوده نرمال باشد. بنابراین اندازه‌گیری غلظت fT4 و یا TSH مهم است. در موارد چالش برانگیز ممکن است نیاز به روش‌های تشخیصی دقیق‌تر مانند تکرار آزمایش‌ها در ۴ هفتـه و یا انجام آزمایش‌های تحریک TSH یا TRH باشد. پرکـاری تیروئیـد شـایع‌تـرین اخـتلال غـدد درون‌ریـز در گربـه‌هـا اسـت. بیش‌فعالی، کاهش وزن و پلی‌فاژی فراوان‌ترین علایم بالینی در گربه‌های مبتلا میانسال تا مسن هستند. افـزایش در یـک یـا چند آنزیم کبدی، ازتمی، افزایش فسفر خون و اریتروسیتوز پایدارترین یافته‌های آزمایشگاهی در گربه‌هایی با پرکاری تیروئید هستند. اگر گربه‌ای برخی علائم بالینی و آزمایشگاهی غیر طبیعی پرکـاری تیروئیـد و افـزایش TT4 داشـت بـرای تشـخیص بیماری کافی است و نیازی به اندازه‌گیری fT4 و سایر آزمایش‌ها نیست. هرگاه گربه‌ای علائم بالینی و آزمایشگاهی متناقض داشت، جهت تشخیص پرکاری تیروئید، سایر آزمایش‌های اندوکرین مانند تکرار TT4 یک تا دو هفته بعد، اندازه‌گیـری fT4، آزمایش سرکوب T3 و آزمایش تحریک TSH یا TRH باید انجام شود.

واژه‌های کلیدی: کم‌کاری تیروئید، پرکاری تیروئید، یافته‌های آزمایشگاهی، تشخیص

مقدمه

غده تیروئید در حیوانات یک ساختار دو لوبه است که در زیر حنجره قرار دارد. البته تغییرات آناتومیکی غده در بین گونه‌های مختلف وجود دارد. هورمون‌های تیروئید متابولیسم سلول‌ها را افزایش و رشد را در جوانان تحریک می‌کنند. این هورمون‌ها باعث القای ترجمه DNA می‌شوند که منجر به تولید پروتئین‌های مرتبط با رشد سلول، فسفوریلاسیون اکسیداتیو و انتقال الکترولیت‌ها در غشا می‌شود. هورمون آزاد کننده تیروتروپین (Thyrotropin-releasing hormone, TRH) از هیپوتالاموس ترشح شده و باعث آزاد شدن هورمون تحریک کننده تیروئید (Thyroid stimulating hormone, TSH) از سلول‌های تیروتروف در هیپوفیز می‌شود که به نوبه خود، هیپرتروفی سلول‌های فولیکولار غده تیروئید را تحریک و یک آبشار حوادث داخل سلولی را ایجاد می‌کند که منجر به تولید تیروکسین/تترایودوتیرونین (Tetraiodothyronine, T4)، مقادیر کم‌تر تریدوتیرینین (Triiodothyronine, T3) و مقدار بسیار اندکی T3 معکوس (Reverse triiodothyronine, rT3) می‌شود. محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید

۵۰ درصد از T3 در سگ‌ها و ۸۰ درصد در گربه‌ها از دیودینه شدن T4 در خارج از غده تیروئید تولید می‌شود. به دلیل تولید بخش عمده هورمون T3 در بافت‌های خارج از غده تیروئید، اندازه‌گیری T3 خون جهت بررسی بیماری های تیروئید مناسب نیست. تقریبا ۹۹ درصد T4 ترشح شده به پروتئین‌های پلاسما باند می‌شود و کمتر از یک درصد آن آزاد (Free T_4, fT_4) است. fT4 از لحاظ بیولوژیکی فعال است که می‌تواند وارد سلول شود و فیدبک منفی برای ترشح TSH ایجاد نماید. fT4 براساس نیاز متابولیکی بدن در سلول‌ها به T3 یا rT3 تبدیل خواهد شد. در حالت سلامت اغلب T4 وارد شده به سلول‌ها به T3 تبدیل می‌شود که هورمون فعال بیولوژیکی است و رویدادهای سلولی را تحریک می‌کند. در شرایطی که فرد یا دام بیمار است بخش عمده‌ای از T4 در سلول‌ها به rT3 تبدیل خواهد شد که از لحاظ بیولوژیکی غیر فعال است و سطح متابولیسم بدن کاهش می‌یابد. سنتز T4 و T3 به یکسری فاکتورها مانند میزان در دسترس بودن ید، حساسیت به TSH و همچنین میزان T4 و T3 خون بستگی دارد.

بیماری‌های تیروئید

اختلالات غده تیروئید شایع‌ترین اختلالات غدد درون‌ریز در انسان هستند. عملکرد تیروئید و بیماری‌های آن در حیوانات خانگی شناخته شده است اما در حیوانات دیگر کمتر بررسی صورت گرفته است. در غده تیروئید سه اختلال مهم شامل نئوپلازی، پرکاری (Hyperthyroidism) و کم‌کاری (Hypothyroidism) تیروئید وجود دارد. اغلب تومورهای تیروئید در گربه خوش خیم‌اند. در سگ تومورهایی که با معاینه بالینی قابل لمس باشند معمولا بدخیم هستند و در غیر این صورت خوش‌خیم‌اند. عمده تومورهای تیروئید در سگ تغییری در فعالیت تیروئید ایجاد نمی‌کنند. پرکاری تیروئید در گربه‌ها خیلی شایع است ولی در سگ‌ها و سایر گونه‌ها نادر است. کم‌کاری تیروئید در سگ‌ها شایع است و به صورت خود به خودی و طبیعی در گربه رخ نمی‌دهد.

نمونه مناسب، شرایط نمونه گیری و آزمایش‌های تیروئیدی در دام‌های کوچک

T4 تام (Total T4, TT4) (مجموع T4 آزاد و T4 متصل به پروتئین)، fT4 و TSH از مهم‌ترین آزمایش‌های تیروئیدی

هستند که در دام‌های کوچک اندازه‌گیری می‌شوند. با توجه به این‌که عمده T3 در غده تیروئید سنتز نمی‌شود بلکه در بافت‌های خارج از تیروئید در اثر تبدیل T4 به T3 تولید می‌شود، اندازه‌گیری آن جهت بررسی فعالیت تیروئید به ویژه در موارد کم‌کاری تیروئید چندان ارزش تشخیصی ندارد. هر چند در در برخی منابع توصیه شده است که جهت تشخیص پرکاری تیروئید می‌توان T3 تام (Total T3, TT3) را همراه با TT4 اندازه‌گیری نمود.

اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی در سرم و پلاسمای EDTA قابل انجام است. در صورت نگهداری سرم یا پلاسما در لوله‌های پلاستیکی، TT4 و fT4 تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، تا ۸ روز در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و ماه‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد پایدار است. نگهداری سرم یا پلاسما در لوله‌های شیشه‌ای به ویژه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد می‌تواند موجب افزایش کاذب TT4 و fT4 شود. TSH و اتوآنتی‌بادی‌های ضد تیروئید در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت چند روز و در فریزر مدت طولانی‌تری پایدار هستند.

اندازه‌گیری TT4 با روش‌های ایمنولوژیک از قبیل رادیوایمنواسی، الایزا و کمی‌لومینسنس صورت می‌گیرد. بسیاری از کیت‌های تجاری موجود برای اندازه‌گیری TT4 در انسان طراحی شده‌اند. در انسان مقدار TT4 خون در حالت سلامت بیشتر از سگ است. بنابراین ممکن است اندازه‌گیری TT4 سگ با کیت‌های انسانی چندان صحیح نباشد. در صورت استفاده از کیت‌های انسانی بایستی استانداردهایی با غلظت‌های پایین TT4 تهیه نمود و صحت نتایج حاصل از کیت‌های انسانی را با استفاده از این استانداردها بررسی نمود. این استانداردها با اضافه نمودن مقادیر مشخصی از T4 به سرم عاری از هورمون تیروئید مربوط به گونه دامی خاص تهیه می‌شوند. حضور آنتی‌بادی‌های ضد T4 در خون برخی بیماران مبتلا به کم‌کاری تیروئید (۱۰ درصد) می‌تواند موجب افزایش کاذب و در موارد اندکی کاهش کاذب غلظت TT4 اندازه‌گیری شده گردد. بهترین روش اندازه‌گیری fT4 در دام‌ها روش‌های دو مرحله‌ای است که در آن‌ها از دیالیز تعادلی (Equilibrium dialysis) استفاده می‌شود. در این روش‌ها ابتدا سرم یا پلاسما از یک فیلتر خاص عبور داده می‌شوند. T4 آزاد از این فیلتر عبور می‌کند اما T4 متصل به پروتئین قادر به عبور از این فیلتر نیست. در مرحله بعد میزان T4 در نمونه فیلتر شده اندازه‌گیری می‌شود که معادل با fT4 است. حضور آنتی‌بادی‌های ضد تیروئید تاثیری بر fT4 اندازه‌گیری شده با این روش نخواهد داشت. روش‌های ایمنولوژیک غیر دیالیزی که در انسان رایج هستند چندان برای اندازه‌گیری fT4 سگ قابل اعتماد نیستند و مقدار fT4 را کمتر از میزان واقعی گزارش خواهند کرد.

کیت‌های طراحی شده برای اندازه‌گیری TT3 انسان در سگ و گربه نیز قابل استفاده‌اند هر چند در دام‌ها ارزش تشخیصی TT3 کمتر از TT4 است. با توجه به تفاوت آنتی‌ژنیکی که بین TSH انسان و دام ها وجود دارد نمی‌توان از کیت‌های انسانی برای اندازه‌گیری TSH دام‌ها استفاده نمود. برای اندازه‌گیری TSH نیاز به کیت اختصاصی گونه وجود دارد. کیت‌های تجاری برای اندازه‌گیری TSH سگ وجود دارد اما در گربه هنوز کیت تجاری عرضه نشده است. گزارشات محدودی وجود دارد که می‌توان از کیت‌های انسان و سگ برای اندازه‌گیری TSH گربه استفاده نمود.

اندازه‌گیری اتوآنتی‌بادی‌های ضد تیروئید از قبیل آنتی‌بادی ضد تیروگلوبولین (TgAA)، آنتی‌بادی ضد T4 (T4AA) و آنتی‌بادی ضد T3 (T3AA) برای تشخیص مراحل ابتدایی کم‌کاری تیروئید در سگ که التهاب لنفوسیتی فعال در غده تیروئید وجود دارد به کار می‌رود. در این مرحله ممکن است نتایج سایر آزمایشات تیروئیدی در محدوده طبیعی باشد. به علاوه، در مواردی که نتایج هورمون‌های تیروئیدی متناقض و گیج کننده است (به عنوان مثال افزایش TT4 در سگی که علائم کم‌کاری تیروئید را نشان می‌دهد) می‌توان جهت تفسیر نتایج اقدام به اندازه‌گیری این اتوآنتی‌بادی‌ها نمود، زیرا حضور اتوآنتی‌بادی‌ها موجب اختلال در اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی شده و افزایش یا کاهش کاذب TT4 و TT3 رخ خواهد داد.

کم‌کاری تیروئید

کم‌کاری تیروئید یک سندرم بالینی ناشی از اختلال عملکرد

هورمون‌های تیروئیدی است. اگر چه کم‌کاری تیروئید یک اختلال شایع در سگ‌ها است اما شیوع دقیق آن مشخص نیست. شیوع گزارش شده از ۰/۸-۰/۲ متغیر است. با این حال به دلیل مشکلات در تشخیص قطعی کم‌کاری تیروئید و شیوع متغیر آن اطلاعات دقیقی در دسترس نیست. کم‌کاری تیروئید به دو شکل اولیه و ثانویه رخ می‌دهد. حدود ۹۵ درصد موارد کم‌کاری تیروئید به علت ضایعه اولیه در غده تیروئید است. ضایعات تیروئید به شکل التهاب لنفوسیتی و یا آتروفی ایدیوپاتیک (Idiopathic Atrophy) رخ می‌دهند. این ضایعات تظاهرات یک بیماری هستند که با التهاب لنفوسیتی شروع شده و با آتروفی ایدیوپاتیک ادامه می‌یابد. التهاب لنفوسیتی تیروئید یک اختلال خود ایمن است که در آن تخریب با واسطه ایمنی سلول‌های فولیکولی تیروئید رخ می‌دهد. این ضایعه غیر قابل برگشت است و سگ‌های مبتلا برای تمام عمر خود نیازمند درمان جایگزین تیروئید هستند. لنفوسیت‌ها و پلاسماسل‌های موجود در غده بر علیه فولیکول‌های تیروئید آنتی‌بادی تولید می‌کنند. یک زمینه ژنتیکی برای این اختلال خودایمن وجود دارد که موجب افزایش حساسیت برخی نژادهای سگ به کم‌کاری تیروئید می‌گردد. التهاب و آنتی‌بادی‌های موجود به تدریج موجب تخریب سلول‌های فولیکولی و در نهایت آتروفی فولیکول‌های تیروئید خواهند شد. به ندرت عوامل دیگر از قبیل نئوپلازی‌های غده تیروئید، کمبود ید یا برداشت غده تیروئید در طی جراحی ناحیه گردن می‌توانند موجب کم‌کاری اولیه تیروئید شوند. به علاوه کاری اولیه تیروئید ممکن است به دلیل کمبود ارثی آنزیم تیروئید پراکسیداز در سگ‌های فوکس تریر رخ دهد. سگ مبتلا به کم‌کاری اولیه تیروئید در اواخر بیماری کاهش غلظت T4 تام و fT4 و افزایش غلظت TSH خون را نشان خواهد داد. افزایش TSH در پاسخ به کاهش هورمون‌های تیروئیدی و عدم وجود فیدبک منفی بر روی قسمت پارس دیستالیس (Pars Distalis) هیپوتالاموس می‌باشد.

کم‌کاری ثانویه تیروئید به علت یک ضایعه ساختاری یا بیوشیمیایی در غده هیپوفیز است که منجر به کاهش تولید TSH می‌شود و کمتر از ۵ درصد موارد را شامل می‌شود. کاهش TSH به علت ضایعه در هیپوفیز مانند تومورهای هیپوفیز، کیست هیپوفیز، هیپوپلازی تیروتروف‌ها و کمبود ارثی TSH در سگ‌های نژاد اشنوز بزرگ (Giant Schnauzer) است. کمبود TSH منجر به آتروفی غده تیروئید می‌شود که از نظر تئوری اگر ضایعه در هیپوفیز اصلاح شود، قابل برگشت است. سگ مبتلا به کم‌کاری ثانویه کاهش TT4 و fT4 و TSH را نشان می‌دهد

کم‌کاری تیروئید می‌تواند در هر سن، جنس یا نژادی در سگ‌ها ایجاد شود، اما معمولا در نژادهای دوبرمن، اشنوزر، رتریور، اسپانیل، شتلند، آیریش ستر و داشهوند رخ می‌دهد. بیماری اغلب در سگ‌های میانسال تا پیر دیده می‌شود. میانگین سن ابتلا حدود ۷ سالگی گزارش شده است. در نژادهای پرخطر ممکن است بیماری در سنین پایین حدود ۲ سالگی نیز رخ دهد اما در نژادهای کم خطر اغلب بعد از ۵ سالگی رخ می‌دهد. هر دو جنس نر و ماده می‌توانند درگیر کم‌کاری تیروئید شوند. کم‌کاری مادرزادی تیروئید در سگ‌های اشنوزر بزرگ گزارش شده است. کم‌کاری خود به خودی تیروئید در گربه‌های بالغ بسیار نادر است. کم‌کاری ایاتروژنیک تیروئید بدنبال درمان پرکاری تیروئید از طریق جراحی، شیمی درمانی و یا رادیوتراپی که موجب برداشت یا تخریب وسیع غده تیروئید می‌شوند رخ خواهد داد. دوارفیسم (Dwarfism) در بچه گربه‌ها همراه با چندین اختلال اندوکرین از جمله کاهش هورمون رشد و کم‌کاری تیروئید خواهد بود. کم‌کاری مادرزادی تیروئید با الگوی اتوزومال مغلوب در گربه‌های آبیسینیان گزارش شده است. کمبود ید می‌تواند موجب کم‌کاری تیروئید و گواتر در بچه گربه‌هایی شود که تنها با گوشت و غذای خانگی تغذیه می‌شوند.

علائم بالینی: علائم بالینی کم‌کاری تیروئید به تدریج در طی چند سال تکامل می‌یابند و زمانی‌که حدود ۷۵ درصد غده تیروئید از بین رفت بروز می‌یابند. اغلب سگ‌ها ترکیبی از نشانه‌های پوستی و متابولیکی را نشان می‌دهند. علائم متابولیکی معمولا نامحسوس است اما تغییرات پوستی اغلب به سرعت به دنبال تغییر عملکرد تیروئید دیده می‌شود.

افزایش وزن و چاقی، بی‌حالی، پوشش مویی نامناسب، عدم تحمل سرما و جستجوی مکان‌های گرم، ناباروری، موریختگی غیر شوره‌ای و هیپرپیگمنتاسیون در محل موریختگی‌ها از جمله علائم بالینی کم‌کاری تیروئید در سگ‌ها هستند. اسهال، فحلی نامنظم، کاهش میل جنسی، فلج عصب صورت، مگاازوفاگوس، فلجی حلق، کراتوکونژکتیویت سیکا (Keratoconjuctivitis Sicca)، دیستروفی چربی قرنیه، برادی‌کاردی و ضخیم شدن پوست از علائم دیگر این بیماری هستند. ضایعات جلدی ثانویه از قبیل پیودرم، مالاسزیا، دمودیکوز و عفونت گوش خارجی ممکن است در مبتلایان رخ دهند. علائم بالینی در گربه مشابه سگ است. علائم بالینی در بچه گربه‌ها شامل رشد نامناسب، بزرگ شدگی سر، کوتاهی گردن، بی‌حالی، باقی ماندن دندان‌های شیری و موهای نوزادی است. در جدول ۱ علائم بالینی مهم کم‌کاری تیروئید و درصد بروز آن‌ها ذکر شده است.

علائم بالینی	درصد
بی‌حالی	۷۶-۲۰
افزایش وزن یا چاقی	۴۷-۴۴
عدم تحمل فعالیت بدنی	۲۴
عدم تحمل سرما	۱۰
نازک شدن تارهای مو یا موریختگی	۵۶-۲۱
پوشش مویی خشک یا بی کیفیت	۳۰
افزایش رنگدانه‌های پوست	۲۰
پیودرم	۱۶-۱۱
سبوره	۴۰-۱۰

جدول ۱. علائم بالینی مهم کم‌کاری تیروئید و درصد بروز آن‌ها

یافته‌های آزمایشگاهی: انواع اختلالات بیوشیمیایی و خون شناسی در سگ‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید رخ می‌دهد (جدول ۲). در ۴۴-۳۲ درصد موارد کم خونی نورموسیتیک نورموکرومیک ملایم ایجاد می‌شود که احتمالا به دلیل کاهش تولید اریتروپویتین و کاهش اثر هورمون‌های تیروئیدی در مغز استخوان است. در کم‌کاری تیروئید متابولیسم پایه و متعاقب آن نیاز سلول‌ها به اکسیژن کاهش می‌یابد. با کاهش نیاز به اکسیژن، بدن میزان کمتری اریتروپوئتین ترشح خواهد کرد که موجب کاهش تولید گلبول‌های قرمز در مغز استخوان و در نتیجه کم‌خونی خواهد شد.

یافته آزمایشگاهی	درصد
کم خونی ملایم	۴۴-۳۲
افزایش آنزیم های کبدی	اغلب
افزایش ملایم آنزیم کراتین‌کیناز	۳۵-۲۰
افزایش فروکتوزآمین خون	در برخی
افزایش کلسترول خون	۸۰
افزایش تری‌گلیسیرید خون	بسیاری موارد

جدول ۲. یافته‌های آزمایشگاهی مهم کم‌کاری تیروئید و درصد بروز آن‌ها

بسیاری از سگ‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید دچار لیپیدوز کبدی هستند که می‌تواند موجب افزایش آنزیم‌های کبدی در سرم خون شود. حدود ۳۵-۲۰ درصد موارد افزایش خفیف فعالیت کراتین‌کیناز را نشان می‌دهند که می‌تواند ناشی از میوپاتی ایجاد شده در این بیماری باشد. غلظت فروکتوزآمین خون به علت کاهش تجزیه و بازسازی پروتئین به طور مشخص افزایش می‌یابد. افزایش چربی‌های خون در بسیاری از سگ‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید مشاهده می‌شود. افزایش کلسترول خون در ۸۰ درصد موارد دیده می‌شود که ممکن است با افزایش تری‌گلیسیرید همراه باشد. غلظت کلسترول خون بیش از ۶۰۰-۵۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به شدت نشان دهنده کم‌کاری تیروئید خواهد بود. در سگ‌های میانسالی که علائم بالینی کم‌کاری تیروئید را نشان می‌دهند، کلسترول خون بیشتر از ۵۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و T4 تام خون کمتر از ۲ میکروگرم در دسی‌لیتر است، کم‌کاری تیروئید قابل تشخیص است و می‌توان درمان را آغاز نمود.

آزمایش‌های تیروئیدی جهت تشخیص بیماری: اولین آزمایش مورد استفاده برای تشخیص کم‌کاری تیروئید اندازه‌گیری غلظت T4 تام خون است. حدود ۹۵ درصد سگ‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید کاهش غلظت T4 تام را نشان می‌دهند اما مشکل اینجاست که تقریبا ۲۰ درصد سگ‌هایی که به کم‌کاری تیروئید مبتلا نیستند نیز کاهش T4 تام را نشان می‌دهند که اغلب یا تمام این مثبت‌های کاذب مربوط به بیماری‌های غیر تیروئیدی (Euthyroid sick syndrome) است. TT4 یک تست غربالگر بسیار خوب برای رد کردن

کم‌کاری تیروئید است، بدین صورت که اگر غلظت آن در محدوده طبیعی باشد کم‌کاری تیروئید به احتمال زیاد رد می‌شود. تنها در ۱۰ درصد دام‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید ممکن است به دلیل حضور اتوآنتی‌بادی‌های ضد T4 افزایش کاذب آن رخ دهد و باعث شود که غلظت T4 خون در محدوده طبیعی (۹ درصد) یا حتی بیشتر از محدوده طبیعی (یک درصد) قرار گیرد. با توجه به معایب فوق (کاهش T4 تام در ۲۰ درصد سگ‌های مبتلا به بیماری‌های غیر تیروئیدی و عدم کاهش آن در ۱۰ درصد سگ‌های مبتلا به کم کاری تیروئیدی) بهتر است در کنار T4 تام، غلظت fT4 و یا TSH را نیز اندازه‌گیری نمود. در صورتی‌که غلظت fT4 خون کمتر از ۰/۵ نانوگرم در دسی‌لیتر (یا ۷ پیکومول در لیتر) باشد کم‌کاری تیروئید تائید و اگر بیشتر از ۱/۵ نانوگرم در دسی‌لیتر (یا ۲۰ پیکومول در لیتر) باشد کم‌کاری تیروئید رد خواهد شد. اندازه گیری غلظت TSH در کنار T4 و fT4 دقت تشخیص کم‌کاری تیروئید را بالا می‌برد. غلظت TSH خون در کم‌کاری اولیه تیروئید (شایع‌ترین فرم بیماری در سگ‌ها) افزایش و در کم کاری ثانویه تیروئید کاهش خواهد یافت.

بسیار ضروری است که تشخیص کم‌کاری تیروئید تنها بر پایه نتایج آزمایش‌های تیروئیدی صورت نگیرد و نتایج این آزمایش‌ها در کنار تاریخچه و یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی مورد تفسیر قرار گیرند. مشاهده افزایش شدید کلسترول خون همراه با کاهش T4 تام و fT4 در یک سگ با علائم بالینی مرتبط جهت تشخیص کم‌کاری تیروئید کافی است. هر چه غلظت T4 تام و fT4 کمتر باشد احتمال وجود کم‌کاری تیروئید بیشتر است. به عنوان مثال، در صورتی‌که غلظت T4 تام و fT4 به ترتیب کمتر از ۰/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر (۱۰ نانومول در لیتر) و ۰/۵ نانوگرم در دسی‌لیتر (۷ پیکومول در لیتر) باشد بهترین تشخیص کم‌کاری تیروئید است.

چالش‌های تشخیص کم‌کاری تیروئید: اصول گفته شده در بالا برای تشخیص بیماری در دام‌هایی که کم‌کاری تیروئید در آن‌ها به خوبی تکامل یافته است صدق می‌کند اما در برخی دام‌ها بیماری در مراحل اولیه تکامل خود قرار دارد و در این شرایط ممکن است نتایج آزمایش‌های تیروئیدی متناقض یا گیج کننده باشد. به علاوه، نژاد، بیماری‌های دیگر، داروها و سن بر روی نتایج آزمایش‌های تیروئید اثرگذار هستند. در مجموع در بیش از ۸۰ درصد بیماران نتایج آزمایش‌های تیروئید به گونه‌ای است که می‌توان کم‌کاری تیروئید را رد یا تائید نمود. تنها در تعداد کمی از موارد نیاز به اقدامات دیگر از قبیل اندازه‌گیری اتوآنتی‌بادی‌های ضد تیروئید، تکرار آزمایش‌های تیروئید بعد از گذشت ۴ هفته، قطع داروهای تجویز شده به دام و تکرار آزمایش‌ها بعد از ۴ هفته، تصویربرداری گردن سونوگرافی،MRI و پاسخ به درمان لووتیروئید (Levothyroid) وجود دارد.

یکی از چالش‌های نسبتا شایع برای تشخیص کم‌کاری تیروئید، بیماری‌های غیر تیروئیدی هستند که موجب کاهش غلظت T4 تام خون می‌شوند. دلیل این امر کاهش متابولیسم سلول‌ها در اثر بیماری و در نتیجه کاهش نیاز به هورمون‌های تیروئیدی است. حدود ۲۰ درصد سگ‌هایی که از بیماری غیر از کم‌کاری تیروئید رنج می‌برند کاهش غلظت T4 تام را نشان داده و مثبت کاذب تلقی می‌شوند. fT4 تنها در ۱۰-۵ درصد این سگ‌ها کاهش می‌یابد. هرچه بیماری شدیدتر باشد شدت کاهش T4 تام و fT4 بیشتر خواهد بود. بنابراین وقتی در یک سگ با کاهش T4 تام و حتی fT4 خون مواجه هستیم به سرعت نمی‌توان کم‌کاری تیروئید را تشخیص داد و بایستی احتمال وجود بیماری‌های کاهنده هورمون‌های تیروئیدی را هم مد نظر قرار داد. در این شرایط توجه به چند نکته می‌تواند در تشخیص کم‌کاری تیروئید از بیماری‌های غیر تیروئیدی کمک کننده باشد. در صورتی‌که کاهش TT4 به تنهایی و بدون کاهش fT4 باشد یا شدت کاهش TT4 بیشتر از شدت کاهش fT4 باشد، حیوان به احتمال زیاد به بیماری غیر تیروئیدی مبتلا است. نکته دیگر این است که در مبتلایان به بیماری‌های غیر تیروئیدی یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی شاخص مانند افزایش کلسترول خون، موریختگی و افزایش وزن مورد انتظار نیستند. به دنبال درمان بیماری‌های غیر تیروئیدی غلظت هورمون‌های تیروئیدی به محدوده نرمال برخواهد گشت. چالش تشخیصی دیگر زمانی رخ می‌دهد که علائم بالینی و آزمایشگاهی مرتبط با کم‌کاری

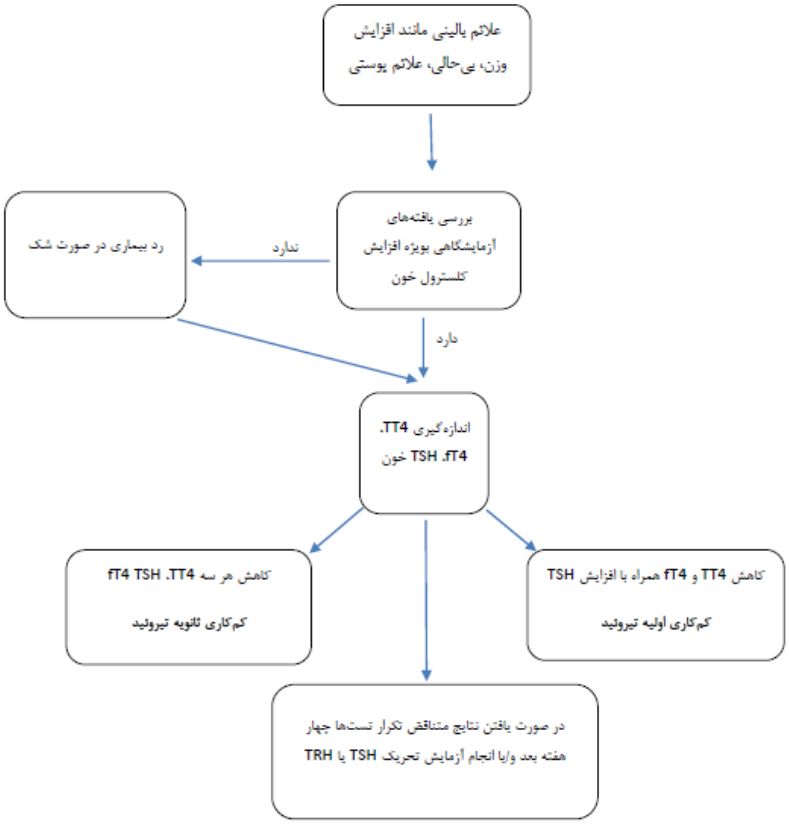
تیروئید است اما TT4 افزایش یافته یا در حداکثر محدوده طبیعی می‌باشد. به نظر می‌رسد این سگ‌ها در مراحل ابتدایی یا میانی کم‌کاری اولیه تیروئید قرار دارند و به دلیل التهاب لنفوسیتی فعال در غده تیروئید تیتر بالایی از آنتی‌بادی‌ها علیه آنتی‌ژن‌های تیروئیدی وجود دارد. حضور این اتوآنتی‌بادی‌های ممکن است در روش اندازه‌گیری هورمون‌های T3 و T4 تداخل ایجاد کند و موجب افزایش کاذب آن‌ها گردد. راه حل این مشکل اندازه‌گیری اتوآنتی‌بادی‌های ضد تیروئیدی یا تکرار آزمایش‌های تیروئیدی چند هفته یا چند ماه بعد است. با گذشت زمان التهاب لنفوسیتی فروکش نموده و تیتر اتوآنتی‌بادی ها افت خواهد کرد. در این زمان کاهش TT4 و fT4 نمایان خواهد شد. چالش دیگر می‌تواند در اثر مصرف برخی داروها ایجاد شود. داروهایی نظیر کورتون‌ها، سولفونامیدها، پروپیل‌تیو اوراسیل، آسپرین، فنوباربیتال، کارپروفن و متیمازول باعث کاهش TT4 و fT4 می‌شوند. فروزماید، فنیل‌بوتازون و پروژستاژن فقط TT4 را کاهش می‌دهند و اثری روی fT4 ندارند یا اثر بسیار کمی دارند. عمده این داروها از طریق اختلال در روش اندازه‌گیری باعث کاهش کاذب این هورمون‌ها می‌شوند اما سولفونامیدها، کورتون‌ها و فنوباربیتال باعث کاهش واقعی هورمون‌های تیروئیدی در بدن می‌شوند. در این موارد توصیه می‌شود که حداقل ۴ هفته قبل از اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی مصرف این داروها قطع شود. در برخی نژادها از قبیل سالوکی، گری‌هوند، ویپت (Whippets)، اسلوقی (Sloughis)، سگ گرگ شکاری ایرلندی (Irish wolfhounds)، اسکاتیش دیرهوند (Scottish deerhounds) و بسنجی غلظت‌های هورمون TT4 خون به صورت فیزیولوژیک کمتر از سایر نژادها است. در نژادهای سالوکی و گری‌هوند غلظت fT4 نیز کمتر از سایر نژادها است و ممکن است در محدوده تشخیص کم‌کاری تیروئید قرار گیرد. در ۹۰ درصد سگ‌های گری‌هوند غلظت TT4 خون کمتر از محدوده طبیعی و در ۳۳ درصد آن‌ها غیر قابل اندازه‌گیری است. جهت تشخیص کم‌کاری تیروئید در این‌گونه نژادها بایستی علاوه بر TT4 غلظت TSH و fT4 را نیز اندازه‌گیری نمود.

آزمایش‌های تکمیلی جهت تشخیص کم‌کاری تیروئید: در بیمارانی که نتایج اولیه آزمایش‌های تیروئیدی متناقض است و امکان تائید تشخیص کم‌کاری تیروئید وجود ندارد و یا امکان صبر کردن به مدت حداقل یک ماه برای تکرار آزمایش‌ها وجود ندارد می‌توان از آزمایش‌های تکمیلی شامل تحریک TSH یا TRH استفاده نمود. در این آزمایش‌ها قبل و بعد از تزریق TSH یا TRH نمونه خون از دام اخذ شده و مقدار TT4 در این دو نمونه خون اندازه‌گیری خواهد شد.

آزمایش تحریک TSH: پروتکل‌های مختلفی برای این آزمایش بیان شده است. در یک پروتوکل پس از اخذ نمونه خون، ۰/۱ واحد TSH گاوی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (حداکثر دوز نهایی ۵ واحد) به صورت وریدی تجویز و ۶ ساعت بعد نمونه خون دوم اخذ می‌گردد. در صورت استفاده از TSH نوترکیب انسانی ۰/۱ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (حداکثر دوز نهایی یک واحد، حدود ۷۵ میکروگرم) به صورت وریدی یا عضلانی تجویز و چهار ساعت بعد نمونه خون دوم اخذ خواهد شد. در سگ‌های سالم و سگ های مبتلا به بیماری‌های غیر تیروئیدی غلظت TT4 پس از تزریق TSH حداقل دو برابر شده و یا بیشتر از ۳ میکروگرم در دسی‌لیتر خواهد بود اما در سگ‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید غلظت TT4 خون قبل و بعد از تزریق کمتر از ۱/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر خواهد بود. در صورتی‌که مقدار TT4 خون پس از تزریق بین ۱/۵ تا ۳ میکروگرم در دسی‌لیتر باشد امکان رد یا تائید کم‌کاری تیروئید وجود ندارد (ناحیه خاکستری).

آزمایش تحریک TRH: تجویز TRH موجب تحریک آزادسازی TSH از غده هیپوفیز خواهد شد. TSH نیز سبب تحریک غده تیروئید و آزادسازی هورمون T4 خواهد شد. برای انجام آزمایش ابتدا یک نمونه خون از بیمار اخذ شده و TRH با دوز ۲۰۰ یا ۲۵۰ میکروگرم در سگ یا ۱۰۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم در گربه تزریق می‌شود و ۴ ساعت بعد نمونه خون دوم اخذ می‌گردد. غلظت TT4 خون پس از تزریق TRH به سگ‌های سالم یا سگ‌های مبتلا به بیماری‌های غیر

تیروئیدی حداقل دو برابر شده و یا بیشتر از ۲ میکروگرم در دسی‌لیتر خواهد بود اما در سگ‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید غلظت TT4 قبل و بعد از تزریق کمتر از ۱/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر خواهد بود. در این آزمایش می‌توان علاوه بر TT4 غلظت TSH خون را نیز اندازه‌گیری نمود که انتظار می‌رود غلظت TSH خون پس از تزریق به سگ‌های سالم یا سگ‌های مبتلا به بیماری‌های غیر تیروئیدی حداقل دو برابر شود. برخی سگ‌های مبتلا به بیماری‌های غیر تیروئیدی به TRH پاسخ نمی‌دهند و این آزمایش برای تشخیص کم‌کاری تیروئید در سگ‌ها به خوبی آزمایش تحریک TSH نیست. علاوه بر این، تزریق TRH ممکن است ظرف چند دقیقه عوارض جانبی از قبیل استفراغ، دفع مدفوع، ریزش بزاق و تاکی‌پنه ایجاد کند که تا چند ساعت برطرف خواهند شد. روند تشخیص بیماری کم‌کاری تیروئید در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲. روند تشخیص بیماری کم‌کاری تیروئید

کم‌کاری تیروئید در گربه‌ها: کم‌کاری تیروئید به صورت طبیعی در گربه‌ها نادر است. کم‌کاری مادرزادی، التهاب لنفوسیتی و کم‌کاری ثانویه از جمله عوامل کم‌کاری تیروئید در گربه‌ها هستند. اما کم‌کاری ایاتروژنیک ممکن است به دنبال درمان پرکاری تیروئید از طریق تجویز متیمازول، رادیوتراپی و جراحی برداشت تیروئید رخ دهد. افزایش کلسترول خون و کم‌خونی غیر جبرانی در گربه‌های مبتلا به کم‌کاری تیروئید مورد انتظار است. قدم اول در تشخیص کم‌کاری تیروئید اندازه‌گیری TT4 خون است. در صورتی‌که در یک گربه که سابقه جراحی تیروئید، تابش اشعه یا تجویز متیمازول دارد، کاهش TT4 مشاهده شود کم‌کاری تیروئید قابل تشخیص است اما در صورتی‌که کاهش TT4 بدون هیچ سایقه‌ای از موارد ذکر شده باشد، به احتمال فراوان بیماری‌های غیر تیروئیدی موجب کاهش TT4 شده‌اند. در این شرایط برای اطمینان بیشتر می‌توان غلظت fT4 و TSH را با استفاده از کیت اختصاصی سگ اندازه‌گیری نمود. در صورت

کاهش fT4 و افزایش TSH در گربه‌ای که علائم بالینی و آزمایشگاهی مرتبط را نشان می‌دهد، کم‌کاری تیروئید قابل تشخیص است. در صورتی‌که هنوز شک وجود دارد می‌توان از آزمایش تحریک TSH، آزمایش تحریک TRH یا پاسخ به درمان لووتیروئید استفاده نمود.

ارزیابی پاسخ به درمان: داروی T4 استفاده شده برای درمان کم‌کاری از نظر ایمونولوژیکی مشابه با T4 تولید شده در بدن است، در نتیجه از روش‌های یکسانی برای اندازه‌گیری آن‌ها می‌توان استفاده نمود. همچنین فیدبک منفی T4 خارجی میزان تولید TSH را کاهش می‌دهد. بنابراین اندازه‌گیری غلظت هر دو (TT4 و TSH خون) می‌تواند نشان دهنده کافی بودن مقدار مکمل هورمون تیروئید باشد. اندازه‌گیری غلظت fT4 برای ارزیابی پاسخ به درمان ضروری نیست مگر آن‌که حضور اتوآنتی‌بادی‌ها قطعی یا مشکوک باشد. بیشترین غلظت TT4 حدود ۳ ساعت پس از تجویز دارو ایجاد می‌شود. توصیه بر این است که برای ارزیابی پاسخ به درمان اندازه‌گیری غلظت TT4 ۶-۴ ساعت پس از تجویز دارو صورت گیرد.

پرکاری تیروئید

پرکاری تیروئید شایع‌ترین اختلال غدد درون‌ریز در گربه‌ها است. دلیل اصلی پرکاری نئوپلازی‌های غده تیروئید است که ۹۹ درصد آن‌ها خوش خیم و از نوع آدنوما هستند. پرکاری در سگ‌ها شایع نیست و اغلب مربوط به نئوپلازی‌های تیروئید است اما همان‌طور که اشاره شد این نئوپلازی‌ها در فعالیت غده تغییری ایجاد نمی‌کنند و منجر به پرکاری یا کم‌کاری نمی‌شوند. علت این است که سرعت متابولیسم هورمون‌های تیروئیدی در سگ ۲۰ برابر انسان و گربه است و این باعث می‌شود هورمون‌های تیروئیدی سریع تجزیه شده و علایم بالینی پرکاری در سگ دیده نشود. دو نژاد سیامی و هیمالیا بیشتر در معرض خطر ابتلا به پرکاری تیروئید هستند. از نظر جنسیت هیچ تفاوتی بین دو جنس نر و ماده دیده نشده است.

علایم بالینی: علایم بالینی در گربه‌های مبتلا شامل بیش فعالی، کاهش وزن و پرخوری است. کاهش وزن معمول‌ترین علامت بالینی قابل مشاهده است که می‌تواند در موارد شدید منجر به کاشکسی شود. میانگین سن گربه‌های مبتلا ۱۳ سال است ولی در کمتر از ۵ درصد موارد می‌تواند در گربه‌های کمتر از ۱۰ سال رخ دهد. ضایعات و علایم قلبی در بیش از ۵۰ درصد گربه‌ها دیده می‌شود و بیشترین عارضه در این زمینه هایپرتروفی بطن چپ است. سایر علام بالینی شامل موارد زیر است: پرادراری و پرنوشی، استفراغ، تاکی‌کاردی، موریختگی کانونی، پوشش مویی ژولیده، مدفوع توده‌ای و پر حجم، اسهال، بی‌حالی، بی‌اشتهایی و ضعف.

یافته‌های آزمایشگاهی: یافته‌های آزمایشگاهی پرکاری تیروئید در جدول ۳ ذکر شده اند. شایع‌ترین یافته آزمایشگاهی افزایش ملایم تا متوسط آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) است که در حدود ۷۰ درصد گربه‌ها رخ می‌دهد. دو سوم از این افزایش مربوط به ایزو آنزیم کبدی و یک سوم آن ایزوآنزیم استخوانی است. افزایش ملایم ALT و AST نیز در پرکاری تیروئید رخ می‌دهد. در مجموع در بیش از ۹۰ درصد گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید حداقل یکی از آنزیم‌های کبدی افزایش خواهد یافت که شایع‌ترین آن‌ها ALP است. ۲۰ تا ۵۰ درصد گربه‌های مبتلا ازوتمی (افزایش اوره و کراتینین خون) را نشان می‌دهند که عمدتا پیش کلیوی و در مواردی به دلیل وجود هم‌زمان بیماری کلیوی است. پرکاری تیروئید در سنین پیری رخ می‌دهد و در این سنین نفریت بینابینی مزمن شایع است که می‌تواند موجب ازتمی شود. علاوه بر این، پرکاری تیروئید منجر به کاتابولیسم عضلات و تولید کراتینین بیشتر می‌شود. درمان پرکاری تیروئید در بعضی از بیماران ممکن است منجر به افزایش خفیف تا شدید ازوتمی شود، که به دلیل کاهش برون‌ده قلب و فیلتراسیون گلومرولی ناشی از بهبود عملکرد تیروئید می‌باشد. تغییرات کلیوی ناشی از درمان پرکاری تیروئید ظرف چهار هفته از شروع درمان برطرف خواهند شد و در صورت تداوم ازتمی احتمال نارسایی مزمن کلیوی در گربه وجود دارد که بایستی مد نظر قرار گیرد. اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئید، اوره و کراتینین خون و آنالیز ادرار به ویژه وزن مخصوص پیش از و پس از درمان در تصمیم گیری در مورد وضعیت کلیوی دام کمک کننده خواهد بود.

وجود ازوتمی در گربه‌های مبتلا اثر معنی‌داری بر پیش آگهی بیماری دارد. در گربه‌هایی که تشخیص قبلی بیماری کلیوی داشتند و یا در زمان تشخیص پرکاری ازوتمیک بودند، زمان بقا فقط حدود ۶ ماه بود، در مقایسه با حدود ۲۰ ماه برای آن‌هایی که مبتلا به پرکاری بدون شواهدی از اختلال عملکرد کلیه در زمان تشخیص بودند. عفونت مجاری ادراری در ۱۰ تا ۲۰ درصد گربه‌های مبتلا وجود دارد، بسیاری گربه‌ها علایم بالینی عفونت ادرار را نشان نمی‌دهند و فقط پیوری (افزایش گلبول های سفید در ادرار) و باکتریوری در آن‌ها دیده می‌شود و در اغلب موارد در کشت باکتریایی اشرشیاکلی جدا می‌شود. افزایش نسبت پروتئین به کراتینین ادرار (بیش از ۰/۵) در برخی گربه‌های مبتلا دیده می‌شود. ممکن است در ۲۵ تا ۴۰ درصد گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید افزایش فسفر خون دیده شود که مکانیسم آن ناشناخته است. میزان کلسیم تام سرم در این‌ها طبیعی است اما کاهش ملایم کلسیم یونیزه در ۵۰ درصد گربه‌های مبتلا بدون علایم بالینی دیده می‌شود و به تغییرات هورمون پاراتیروئید مربوط است. گاهی اوقات هیپوکالمی (کاهش پتاسیم خون) با پرکاری تیروئید همراه است، هر چند پاتوژنز آن هنوز مشخص نیست. برخی از گربه‌های مبتلا به پرکاری، عدم تحمل گلوکز یا دیابت ملیتوس را نشان می‌دهند و درمان پرکاری تیروئید به طور کلی این اختلالات را برطرف نمی‌کند و ممکن است آن را تشدید هم کند. غلظت سرمی فرکتوزآمین در گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید به طور قابل توجهی پایین‌تر از مقادیر گربه‌های سالم است که به دلیل سرعت بالای تجزیه و بازسازی پروتئین‌های پلاسما (آلبومین) می‌باشد. غلظت فروکتوزآمین در گربه‌های دیابتی که از پرکاری تیروئید نیز رنج می‌برند ممکن است به محدوده طبیعی برگردد. بنابراین غلظت سرمی فروکتوزآمین نباید برای تشخیص یا ارزیابی درمان دیابت در گربه‌هایی که به طور همزمان درگیر پرکاری تیروئید هستند، استفاده شود.

در مورد یافته‌های هماتولوژی گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید می‌توان گفت که در حدود نیمی از گربه‌ها تغییرات هماتولوژی دیده می‌شود که این تغییرات شامل افزایش ملایم هماتوکریت (پلی‌سیتمی ملایم)، ماکروسیتوز، لوکوگرام استرس و به ندرت لنفوسیتوز و ائوزینوفیلی می‌باشند. اجسام هینز در گسترش خون اغلب گربه‌ها دیده می‌شوند.

یافته آزمایشگاهی	درصد
افزایش ملایم تا متوسط حداقل یکی از آنزیم‌های کبدی به ویژه ALP	۹۰
ازوتمی (افزایش اوره و کراتینین خون)	۲۰-۵۰
عفونت مجاری ادراری	۱۰-۲۰
افزایش فسفر خون	۲۵-۴۰
کاهش ملایم کلسیم یونیزه	۵۰
هیپوکالمی	در برخی گربه‌ها
تغییرات خون شناسی شامل افزایش ملایم هماتوکریت، ماکروسیتوز، لوکوگرام استرس	۵۰
اجسام هینز	اغلب گربه‌های مبتلا

جدول ۳. یافته‌های آزمایشگاهی پرکاری تیروئید و درصد بروز آن‌ها

آزمایش‌های تشخیصی پرکاری تیروئید: اولین آزمایش جهت تشخیص پرکاری تیروئید اندازه‌گیری TT4 و TT3 خون است. Hays و همکاران پیشنهاد دادند که مقادیر تام هورمون‌ها برای تشخیص پرکاری کافی هستند و نیازی به اندازه‌گیری هورمون‌های آزاد نیست. در مطالعه‌ای روی ۱۳۱ گربه مبتلا به پرکاری تیروئید، مقدار T4 خون در تمام موارد افزایش یافته و بین ۴ تا ۵۴/۱ میکروگرم در دسی‌لیتر و مقدار T3 در ۹۷ درصد موارد افزایش داشته و بین ۵۴ تا ۱۰۰۰ نانوگرم در دسی‌لیتر بود اما در مطالعه دیگر ذکر شده است که حدود ۹۰ تا ۹۵ درصد گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید افزایش TT4 یا تیروکسین را نشان می‌دهند (حساسیت ۹۰ تا ۹۵ درصد) و در ۵ درصد گربه‌های مبتلا ممکن است TT4 در محدوده طبیعی باشد.

در مجموع می‌توان این‌گونه نتیجه گیری کرد، در صورتی‌که در گربه‌ای میزان TT4 کاهش یافته و یا در محدوده طبیعی باشد می‌توان با احتمال بالا پرکاری تیروئید را رد کرد و اگر گربه‌ای علایم بالینی و آزمایشگاهی مرتبط با پرکاری را داشت و افزایش TT4 هم دیده شد پرکاری تیروئید قابل تشخیص است و نیازی به اندازه‌گیری سایر پارامترها نیست.

وجود بیماری همزمان در گربه‌ای که پرکاری تیروئید دارد می‌تواند باعث کاهش ملایم تا متوسط TT4 شود و مقدار آن را به محدوده طبیعی برگرداند. بیماری غیر تیروئیدی نه تنها TT4 بلکه fT4 را نیز دستخوش تغییر قرار می‌دهد. در تعداد

بسیار اندکی از گربه‌های مبتلا به بیماری‌های غیر تیروئیدی ممکن است fT4 هم مانند TT4 کم شود، اما در ۱۲-۶ درصد گربه‌های مبتلا به بیماری غیر تیروئید مقدار fT4 زیاد می‌شود که این موضوع می‌تواند در تشخیص پرکاری مشکل‌زا باشد. چالش دیگر این‌که در گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید ممکن است تولید هورمون T4 حالت پالسی داشته باشد که این نوسانات معمولا چند روزه است به همین خاطر در موارد مشکوک یک تا دو هفته بعد باید آزمایش TT4 تکرار شود. در جدول ۴ نحوه تشخیص بیماری پرکاری تیروئید با توجه به مقدار TT4 و سایر یافته‌ها ذکر شده است.

غلظت TTF خون	سایر علائم و یافته‌ها	تفسیر
TT4> ۴ µg/dL	در صورت وجود علایم بالینی و آزمایشگاهی مرتبط با پرکاری تیروئید	تشخیص پرکاری تیروئید داده می‌شود
TT4> ۳-۴ µg/dL	در صورت وجود علایم بالینی و آزمایشگاهی	احتمال پرکاری تیروئید زیاد است
TT4> ۲/۵-۳ µg/dL	در صورت وجود علایم بالینی و آزمایشگاهی	انجام سایر آزمایش‌ها برای تشخیص احتمالا پرکاری تیروئید نیست. در صورت شک انجام سایر آزمایش‌های تیروئید
TT4> ۲-۲/۵ µg/dL	در صورت عدم وجود علایم بالینی و آزمایشگاهی	
TT4<۲ µg/dL		پرکاری تیروئید رد می‌شود

جدول ۴. مقادیر TT4 و چگونگی تشخیص پرکاری تیروئید

زمانی‌که در گربه‌ای مشکوک به پرکاری تیروئید، علایم و یافته‌های آزمایشگاهی متناقض و گیج کننده است طبق پروتکل زیر عمل می‌کنیم:

۱. اندازه‌گیری (fT4) با استفاده از روش دیالیز

۲. تکرار TT4 حداقل یک تا دو هفته بعد

۳. تکنیک‌های تصویربرداری غده تیروئید

۴. جستجوی بیماری‌های غیر تیروئیدی که ممکن است هم‌زمان وجود داشته باشد.

۵. انجام آزمایش سرکوب T3

۶. انجام آزمایش تحریک TSH یا TRH

آزمایش‌های تکمیلی: زمانی‌که در گربه‌ای مشکوک به پرکاری تیروئید علایم، یافته‌های آزمایشگاهی و نتیجه TT4 خون متناقض و گیج کننده هستند می‌توان از آزمایش‌های تکمیلی جهت تشخیص پرکاری تیروئید استفاده نمود.

۱. اندازه‌گیری fT4 خون: در گربه‌هایی که مقادیر TT4 کمک کننده نیست از fT4 استفاده می‌کنیم که به همراه TT4 و علایم بالینی بیمار تفسیر می‌شود. اندازه‌گیری غلظت fT4 گران‌تر از TT4 است و بیش‌تر در معرض خطاهای نمونه گیری قرار می‌گیرد. مهم‌تر از همه، این آزمایش ویژگی کمتری برای پرکاری تیروئید دارد زیرا مقادیر افزایش یافته آن در برخی گربه‌های مبتلا به بیماری‌های غیر تیروئیدی گزارش شده است. این تست ۱۲-۶ درصد نتایج مثبت کاذب دارد یعنی ۱۲-۶ درصد گربه‌هایی که بیماری غیر تیروئیدی دارند افزایش fT4 را نشان می‌دهند. به علاوه در گربه‌های خیلی چاق ممکن است افزایش fT4 وجود داشته باشد. در مجموع حساسیت این آزمایش ۹۸ درصد و ویژگی آن ۸۸ تا ۹۴ درصد است. به علت افزایش fT4 در بیماری‌های غیر تیروئیدی مهم است که تفسیر نتایج آن را در کنار TT4 بررسی کنیم و شدت آن را مد نظر قرار دهیم. به‌طوری‌که هر چه میزان افزایش TT4 و fT4 بیشتر باشد، احتمال پرکاری تیروئید بیشتر است و هر چه TT4 به حداقل میزان طبیعی نزدیک‌تر و یا کاهش یافته باشد شانس بیماری غیر تیروئیدی بیشتر است.

۲. آزمایش سرکوب T3: انجام این آزمایش زمانی توصیه می‌شود که TT4 و fT4 و تکرار آن هم در تشخیص کمکی نکند. اساس روش به این صورت است که T3 تجویز شده باعث فیدبک منفی و کاهش حداقل ۵۰ درصدی هورمون‌های TT4 و fT4 در خون گربه‌های سالم یا گربه‌های مبتلا به

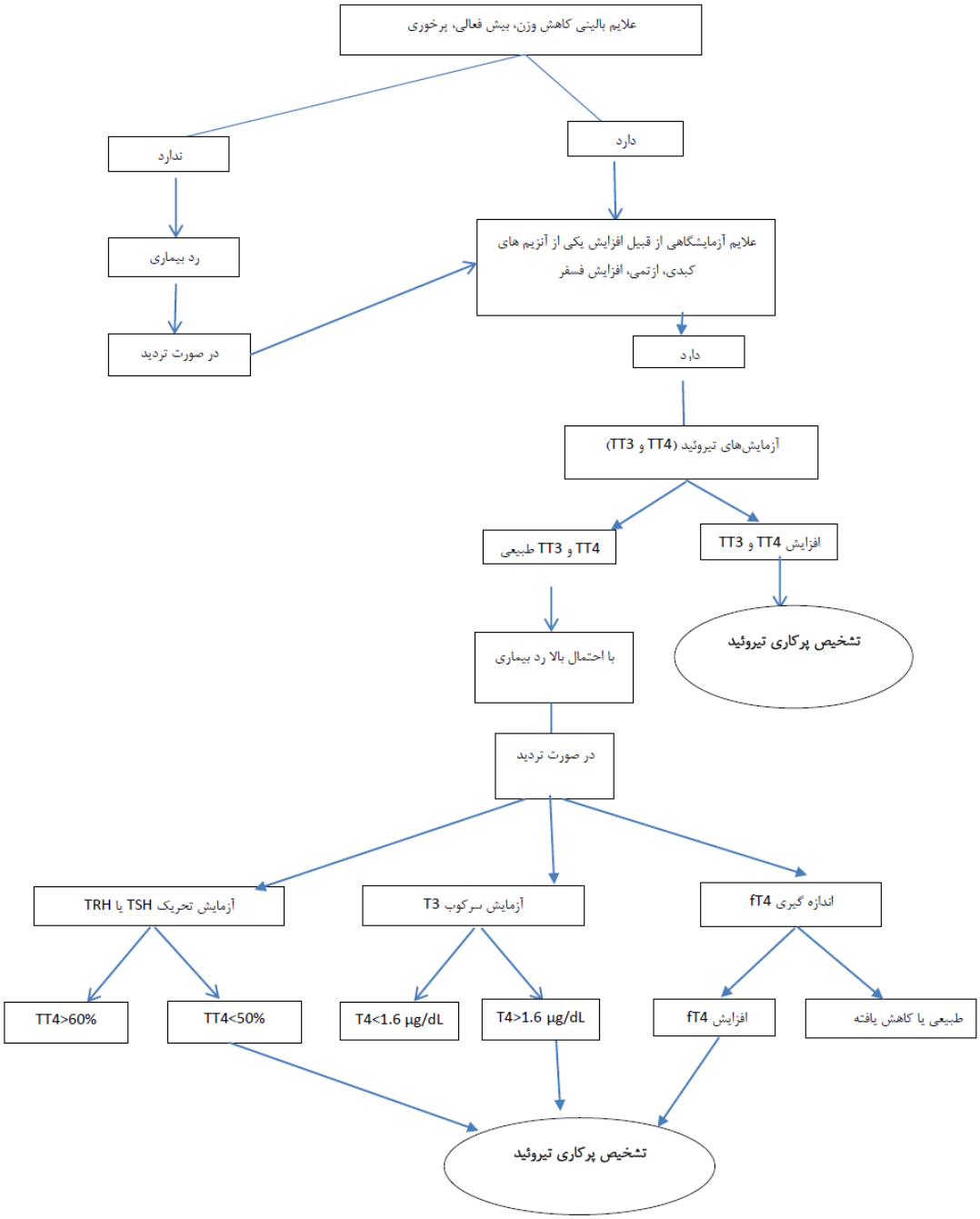
بیماری‌های غیر تیروئیدی می‌شود اما در گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید تغییر اندک یا هیچ تغییری در مقدار TT4 و fT4 به دنبال تجویز T3 مشاهده نمی‌شود. در ابتدا یک نمونه خون از گربه گرفته شده و پس از جداسازی سرم در فریز نگهداری خواهد شد. در صبح روز بعد ۲۵ میکروگرم T3 لیوتیرونین (Liothyronine) به صورت عضلانی یا خوراکی هر هشت ساعت تجویز می‌شود. در مجموع هفت مرتبه تجویز T3 انجام شده و ۴-۲ ساعت بعد از آخرین تجویز نمونه خون دوم گرفته می‌شود. در این دو نمونه خون مقادیر TT3, TT4 و fT4 اندازه‌گیری می‌شود. اندازه‌گیری غلظت TT3 صرفا جهت اطمینان از دریافت دوز مورد نظر توسط بیمار است که بایستی مقدار آن در نمونه خون دوم بیشتر از نمونه اول باشد. در گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید کاهش در مقادیر هورمون‌های TT4 و fT4 برعکس بیماری‌های غیر تیروئیدی، مشاهده نخواهد شد. در صورتی‌که مقدار TT4 بعد از تجویز بیشتر از ۱/۶ میکروگرم در دسی‌لیتر (۲۰ نانومول در لیتر) باشد پرکاری تیروئید قابل تشخیص است. در گربه مبتلا به بیماری غیر تیروئیدی این مقدار کمتر از ۱/۶ میکروگرم در دسی‌لیتر است. اگر چه آزمایش سرکوب T3 قادر به تشخیص پرکاری تیروئید است ولی برخی از نویسندگان پیشنهاد می‌کنند که در تایید بیماری غیر تیروئیدی و رد کردن پرکاری تیروئید بسیار مفیدتر است و بر خلاف تست پاسخ TRH با هیچ واکنش نامطلوبی همراه نیست.

۳. آزمایش تحریک TRH: پروتکل انجام آزمایش در بخش کم‌کاری تیروئید توضیح داده شده است. تجویز TRH به گربه سالم یا گربه‌ای که بیماری غیر تیروئیدی دارد باعث تحریک تولید TSH از هیپوفیز و متعاقب آن تحریک تولید TT4 از تیروئید خواهد شد. در گربه‌ای که مبتلا به پرکاری است این افزایش مورد انتظار در TT4 دیده نخواهد شد زیرا سلول‌های بدخیم تیروئید هیچ پاسخی به TSH نمی‌دهند. اگر به دنبال تجویز TRH افزایش حداقل ۶۰ درصدی در مقدار TT4 خون در مقایسه با نمونه قبل از تجویز دیده شد، بیماری غیر تیروئیدی وجود دارد، اما اگر افزایش کمتر از ۵۰ درصد باشد پرکاری تیروئید تشخیص داده می‌شود و مقادیر ۶۰-۵۰ درصد ناحیه خاکستری است. گربه‌های به شدت بیمار که از بیماری‌های غیر تیروئیدی رنج می‌برند ممکن است به دنبال تزریق TRH افزایش مورد انتظار مقدار TT4 را نشان ندهند و به اشتباه پرکاری تیروئید در آن‌ها تشخیص داده شود. تزریق TRH ممکن است ظرف چند دقیقه عوارض جانبی از قبیل استفراغ، دفع مدفوع، ریزش بزاق و تاکی‌پنه ایجاد کند که تا چند ساعت بهبود خواهند یافت.

۴. آزمایش تحریک TSH: پروتکل‌های مختلف این آزمایش در بخش کم‌کاری تیروئید ذکر شده‌اند. اگر به دنبال تجویز TSH افزایش حداقل ۶۰ درصدی در مقدار TT4 خون در مقایسه با نمونه قبل از تجویز دیده شد، بیماری غیر تیروئیدی وجود دارد اما اگر افزایش کمتر از ۵۰ درصد باشد پرکاری تیروئید تشخیص داده می‌شود و مقادیر ۶۰-۵۰ درصد ناحیه خاکستری است. گزارش شده است که در برخی گربه‌های مبتلا به پرکاری تیروئید ممکن است غلظت TT4 خون پس از تزریق TSH شبیه گربه‌های سالم باشد. به همین دلیل این آزمایش چندان انجام نمی‌شود و به جای آن از آزمایش تحریک TRH و اندازه‌گیری TSH اندوژن خون برای تشخیص پرکاری تیروئید استفاده می‌شود.

۵. TSH اندوژن خون: اندازه‌گیری TSH خون فقط زمانی انجام می‌شود که مقادیر TT4 و fT4 کمک کننده نباشند. در صورتی‌که در یک گربه افزایش TT4 وجود دارد پرکاری تیروئید قابل تشخیص است و نیازی به اندازه‌گیری TSH نیست اما در گربه‌ای که مقدار TT4 در محدوده طبیعی قرار دارد جهت تشخیص پرکاری تیروئید می‌توان اقدام به اندازه‌گیری TSH نمود که در این حالت کاهش TSH نشان دهنده پرکاری تیروئید است. اندازه‌گیری مقادیر TSH به کیت اختصاصی گونه نیاز دارد.

روند تشخیص بیماری پرکاری تیروئید در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل۳. روند تشخیص پرکاری تیروئید

ارزیابی پاسخ به درمان: بدون در نظر گرفتن روش درمانی، اندازه‌گیری غلظت TT4 خون بیشترین نقش را در ارزیابی درمان دارد. همچنین از اندازه‌گیری TSH خون نیز برای ارزیابی پاسخ به درمان استفاده می‌شود. در گربه‌های تحت درمان با داروهای ضد تیروئید مانند متامیزول و کاربامازول، ارزیابی غلظت TT4 ۳-۲ هفته پس از شروع درمان توصیه می‌شود. هنگامی‌که وضعیت بیمار پایدار شد، غلظت TT4 سرم باید هر ۳ تا ۶ ماه بررسی شود. لازم است ارزیابی منظم صورت بگیرد زیرا داروهای ضد تیروئید بر ضایعات زمینه‌ساز تاثیر نمی‌گذارند و نودول‌های تیروئید همچنان به رشد و بزرگ شدن ادامه می‌دهند و در این موارد افزایش دوز در طولانی مدت نیاز است. به طور کلی هدف از درمان، کاهش

غلظت TT4 سرم به نیمه پایین محدوده طبیعی است.

پرکاری تیروئید در سگ

پرکاری تیروئید در سگ غیر معمول است و معمولا با نئوپلازی تیروئید همراه است اما اغلب نئوپلازی‌های تیروئید در سگ غیر عملکردی هستند. یافته‌های آزمایشگاهی سگ‌های مبتلا به پرکاری تیروئید شبیه گربه‌ها است. به این صورت که TT4 و fT4 افزایش یافته و TSH کاهش می‌یابد. در سگی که توده گردنی قابل لمس دارد و علایم بالینی مرتبط با پرکاری را دارد، اگر مقادیر TT4 افزایش یافته باشد پرکاری تیروئید تشخیص داده می‌شود.

منابع

1. Kaneko H. Thyroid function. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, editors. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th ed. San Diego, USA:Academic Press; 2008. p. 623-634.
2. Latimer KS. *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology*, 5th ed. John Wiley & Sons; 2011.
3. Mooney CT, Peterson M. *BSAVA manual of canine and feline endocrinology*, 4th ed. Quedgeley, Gloucester:British Small Animal Veterinary Association; 2012.
4. Peterson ME, Ward CR. Etiopathologic findings of hyperthyroidism in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; 37(4):633-645.
5. Stockham SL, Scoth MA. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*, 2nd ed. Iowa, USA: Blackwell Publlshing; 2008.
6. Thrall MA, Allison R, Weiser G, Campbell T. *Veterinary hematology and clinical chemistry*, 2nd ed. 2012.
7. Villiers E, Ristic J. *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. 3rd ed. British Small Animal Veterinary Association; 2016.

Abstracts in English

Thyroid glands: diseases and laboratory diagnosis in small animals

Maedeh Ghari[1], Niloufar Abedi[1], Mohammad Heidarpour[2*]

1. Resident of Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

2. Assoc. Prof. Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

*heidarpour@um.ac.ir

Thyroid diseases are among the most common endocrine disorders in small animals. Hypothyroidism is a common disease in dogs, but spontaneous hypothyroidism is very rare in adult cats. Hyperthyroidism is one of the most common diseases of cats and is uncommon in dogs. Hypothyroidism is primarily a disease of middle aged to old dogs with clinical signs including weight gain to obesity, lethargy, dull haircoat, cold intolerance detected as heat-seeking behavior, decreased libido, reproductive failure, alopecia with no pruritus, and hyperpigmentation in areas of alopecia. Laboratory abnormalities may include mild anemia, increased liver enzymes and increases in muscle enzymes (CPK). Hypertriglyceridemia and hyperlipidemia occurs in a majority of cases. Hypercholesterolemia is seen in approximately 80% of hypothyroid dogs and a serum cholesterol concentration greater than 500 mg/dL is very suggestive of hypothyroidism. Basal concentration of total T4 should be the initial endocrine diagnostic test utilized when hypothyroidism is suspected. However, approximately 20% of dogs without hypothyroidism may also have decreased TT4. In addition, total T4 may be in the normal range in about 10% of dogs with hypothyroidism. Therefore, it is important to measure other endocrine tests (free T4 and TSH concentrations). The challenging cases may require more intensive diagnostic procedures such as repeat testing in 4 weeks and/or stimulation tests (TSH or TRH). Hyperthyroidism is the most common endocrine disease of cats. Hyperactivity, weight loss, and polyphagia in a middle aged to old cat are the most frequent clinical problems. Increase in one or more liver enzymes, azotemia, hyperphosphatemia and erythrocytosis are the most consistent lab abnormalities of the hyperthyroid cats. If a cat has some of the physical and clinical laboratory abnormalities characteristic of hyperthyroidism, and an increased TT4 concentration, it is diagnostic of hyperthyroidism and fT4 or any additional tests are not needed. When faced with conflicting clinical signs and lab data while trying to confirm a diagnosis of hyperthyroidism, other endocrine tests such as repeating total T4 in 1-2 weeks, free T4 concentration, T3 suppression test and/or stimulation tests (TSH or TRH) should be considered.

Key words: Hypothyroidism, Hyperthyroidism, Laboratory findings, Diagnosis

التیام، دوره ۵، شماره ۱: ۸۵-۶۶، ۱۳۹۷ Eltiam, 5 (1): 66-85, 2018

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

غدد آدرنال، بیماری‌های و روش‌های تشخیص آزمایشگاهی در دام کوچک

ثمین مدرسه قهفرخی[۱]، محمد حیدرپور[۲*]

۱. رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد
۲. دانشیار کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

*heidarpour@um.ac.ir

چکیده

غدد فوق کلیه از اندام‌های درون ریز مهم در بدن دام‌های کوچک هستند که اختلالات مرتبط با عملکرد آن‌ها به دلیل عدم تشخیص به موقع در بیشتر موارد خسارات جبران ناپذیر و یا مرگ حیوان را به دنبال دارد. ساختار بافتی این غدد منحصر به فرد است و بخش‌های قشری و داخلی این غدد هر کدام مسئول ترشح هورمون‌های مهمی در بدن دام‌ها می‌باشد. بیماری‌های عملکردی مهم در میان بیماری‌های غدد فوق کلیه در دام‌های کوچک را می‌توان در دو دسته تقسیم بندی کرد. دسته اول بیماری‌های ناشی از پرکاری و افزایش بیش از حد معمول هورمون‌های غدد فوق کلیه هستند که به نام‌های هایپرآدرنوکورتیسیسم یا سندرم/بیماری کوشینگ شناخته می‌شوند و دسته دیگر بیماری‌های ناشی از کم‌کاری غدد فوق کلیه هستند که به نام‌های هایپوآدرنوکورتیسیسم یا سندرم/بیماری آدیسون شناخته می‌شوند. بیماری کوشینگ در سگ‌های مسن و موش خرما شایع است اما به ندرت در گربه‌ها رخ می‌دهد. پر اداری، پرنوشی، بی‌حالی، شکم متسع و آویزان و مو ریختگی از جمله شایع‌ترین علائم بالینی کوشینگ هستند. لوکوگرام استرس (شامل نوتروفیلی، لنفوپنی، ائوزنوپنی و مونوسیتوز) همراه با افزایش آلکالین فسفاتاز و کاهش وزن مخصوص ادرار (کمتر از ۱/۰۲۰) مهم‌ترین یافته‌های آزمایشگاهی کوشینگ هستند که در تشخیص آن کمک کننده خواهند بود. افزایش نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار در سگی که علائم بالینی و آزمایشگاهی مرتبط با کوشینگ را نشان می‌دهد، احتمال وجود بیماری را تقویت می‌نماید. در چنین مواردی جهت تشخیص قطعی بیماری می‌توان از آزمایش سرکوب دگزامتازون با دوز پایین و یا آزمایش تحریک ACTH استفاده کرد. در صورت تشخیص قطعی کوشینگ، در مرحله بعد با اندازه‌گیری ACTH خون یا آزمایش سرکوب دگزامتازون با دوز بالا می‌توان نوع کوشینگ (وابسته به هیپوفیز یا وابسته به آدرنال) را نیز تعیین نمود. آدیسون معمولا در سگ‌های جوان تا میانسال (۶-۳ ساله) و با علائم بالینی از قبیل بی‌حالی، ضعف، استفراغ، اسهال، درد شکمی و بی‌اشتهایی به دلیل کمبود گلوکوکورتیکوئیدها و برادی‌کاردی، میکروکاردی، کاهش فشار خون، پرادراری و پرنوشی به دلیل کمبود مینرالوکورتیکوئیدها رخ می‌دهد. مشاهده یافته‌های آزمایشگاهی از قبیل ازتمی، کاهش وزن مخصوص ادرار، عدم وجود لوکوگرام استرس و به ویژه تغییرات الکترولیت‌های خون (کاهش سدیم، افزایش پتاسم و نسبت سدیم به پتاسم خون کمتر از ۲۳ احتمال وجود آدیسون را تقویت می‌کند. در چنین مواردی با اندازه‌گیری غلظت کورتیزول خون و یا آزمایش تحریک ACTH می‌توان وجود بیماری را تائید نمود و در مرحله بعد با اندازه‌گیری غلظت ACTH خون نوع آن (وابسته به هیپوفیز یا وابسته به آدرنال) را تعیین نمود.

واژه‌های کلیدی: غدد فوق کلیه، بیماری آدیسون، بیماری کوشینگ، تشخیص آزمایشگاهی

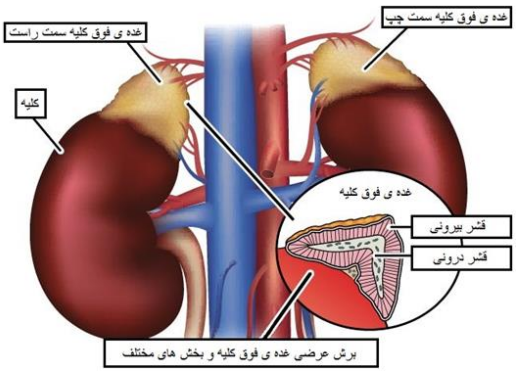
مقدمه

غدد فوق کلیه یا غدد آدرنال (Adrenal Glands) که در کنار کلیه‌ها حضور دارند غدد بسیار کوچکی هستند که آناتومیست‌ها تا قرن‌ها آن‌ها را نادیده می‌گرفتند. با ادامه مطالعات نقش مهم آن‌ها در تعادل هورمونی و حفظ حالت پایداری (همئوستاز) بدن پستانداران مشخص شد. همکاری بین غدد هیپوتالاموس، هیپوفیز و آدرنال منجر به تشکیل محوری هورمونی در بدن شده که به نام محور HPA (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis) هم شناخته می‌شود. فعالیت مشترک این غدد به کنترل واکنش‌های بدن در برابر تنش‌های جسمی و عصبی و تنظیم فرآیندهای بدن مانند هضم و جذب غذا، عملکرد سیستم ایمنی بدن و سوخت و ساز انرژی کمک می‌کند.

مهم‌ترین هورمونی که از هیپوفیز ترشح شده و بر فعالیت غدد فوق کلیه تاثیر می‌گذارد هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH:Adrenocorticotropic hormone) است که به صورت کلی با افزایش ترشح این هورمون، ترشح هورمون‌های استروئیدی از غدد فوق کلیه افزایش می‌یابد و بر عکس. غدد فوق کلیه در دام‌های کوچک اهمیت زیادی داشته و اختلالات مربوط به عملکرد این غدد بیماری‌های مهمی را در دام‌های کوچک ایجاد می‌کنند که در ادامه ذکر می‌شود.

ساختار بافتی

از نظر بافت شناسی غدد آدرنال شامل دو بخش بافتی جداگانه شامل قشر بیرونی و بخش درونی هستند که هر کدام از ویژگی‌های منحصر به فرد بافتی برخوردارند. نکته قابل توجه این است که علاوه بر تفاوت‌های بافتی، این دو ناحیه از لحاظ عملکرد و منشا جنین شناسی نیز به طور کامل متفاوت و متمایز هستند و بسیاری از جزئیات مربوط به همکاری این دو بخش در کنار یکدیگر در قالب غده‌ای مشترک هنوز ناشناخته است. شکل شماره ۱ موقعیت قرارگیری و برش عرضی غده آدرنال را در دام‌های کوچک نشان می‌دهد.



شکل ۱. غدد فوق کلیه، موقعیت قرارگیری و برش عرضی آن در دام‌های کوچک

بخش درونی آدرنال که به نام مدولا (Medulla) هم شناخته می‌شود دو هورمون مهم را ترشح می‌کند که با عنوان کاتیکول‌آمین‌ها یا هورمون‌های ستیز و گریز هم شناخته می‌شوند. هورمون اول اپی‌نفرین (Epinephrine) است که تحت عنوان آدرنالین (Adrenaline) هم شناخته می‌شود و نقش مهمی در واکنش های استرس کوتاه مدت ایفا می‌کند. این هورمون سبب افزایش ضربان قلب و نیروی انقباضات قلب شده و جریان خون ورودی به عضلات و مغز را تسهیل می‌کند و حرکات معده و روده‌ها را کاهش می‌دهد. به علاوه، فرین سبب افزایش تبدیل گلیکوژن به گلوکز در کبد شده و بدن را برای ستیز و گریز آماده می‌کند. هورمون دوم تولید شده توسط قشر درونی آدرنال، نوراپی‌نفرین (Norepinephrine) است که به عنوان نورآدرنالین (Noradrenaline) نیز شناخته می‌شود. عملکرد نوراپی‌نفرین افزایش فشار خون در بدن است. قشر بیرونی غده فوق کلیه که به نام کورتکس (Cortex) نیز شناخته می‌شود در ادامه حیات پستانداران نقش ضروری دارد. قشر بیرونی خود به سه لایه مختلف تقسیم می‌شود. ناحیه بیرونی که به آن زونا گلومروزا (Zona glomerulosa) هم می‌گویند و نقش آن ترشح هورمون‌های مینرالوکورتیکوئیدی (Mineralocorticoid hormones) از جمله آلدسترون است. ناحیه میانی که از نظر حجم بزرگ‌ترین لایه است و در حدود ۷۰ درصد از قشر بیرونی غده فوق کلیه را تشکیل

می‌دهد به نام زونا فسیکولاتا (Zona fasciculata) شناخته می‌شود و از سلول‌هایی تشکیل شده است که هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی (Glucocorticoid hormones) از قبیل کورتیزول را ترشح می‌کنند. در نهایت لایه داخلی که مسئول ترشح هورمون‌های جنسی (Sexual hormones) و مقدار کمتری گلوکوکورتیکوئیدها است زونا رتیکولاریس (Zona reticularis) نام می‌گیرد.

نمونه مناسب، شرایط نمونه گیری و انجام آزمایش‌های مربوط به غدد آدرنال

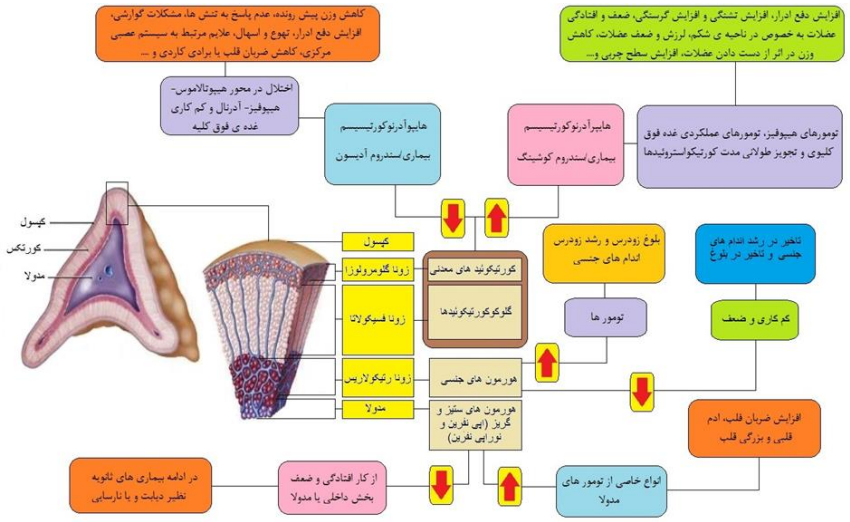
اندازه‌گیری کورتیزول، ACTH و آلدسترون در نمونه خون یا ادرار شایع‌ترین آزمایش‌هایی هستند که برای بررسی فعالیت غده فوق کلیه اندازه‌گیری می‌شوند. کورتیزول در سرم یا پلاسمای EDTA قابل اندازه‌گیری است. پایداری کورتیزول در پلاسمای EDTA بیشتر از سرم و در دمای ۲۰- و ۴ درجه سانتی گراد بهتر از دمای اتاق است. بنابراین بهتر است که نمونه به ویژه سرم در مجاور یخ به آزمایشگاه انتقال داده شود. بسیاری از کیت‌های ایمنولوژیک موجود برای اندازه‌گیری کورتیزول انسان در دام‌ها نیز قابل اعتماد هستند. نکته بسیار مهمی که باید دقت نمود این است که آنتی‌بادی‌های موجود در کیت‌های اندازه‌گیری کورتیزول با سایر گلوکوکورتیکوئیدها نیز واکنش متقاطع نشان می‌دهند. بنابراین در صورتی‌که در تاریخچه دام سابقه مصرف کورتون وجود دارد، تفسیر نتایج کورتیزول باید با احتیاط صورت گیرد. میزان واکنش متقاطع کورتیکواستروئیدهای مختلف با کورتیزول در روش رادیوایمنواسی به شرح زیر است: پردنیزولون ۶۹ درصد، پردنیزون ۶/۴ درصد، کورتیزون ۴/۲ درصد، کورتیکواسترون ۳/۵ درصد، اسپیرونولاکتون ۰/۲ درصد و دگزامتازون کمتر از ۰/۱ درصد. در صورت دریافت کورتیکواستروئید توسط دام، بایستی حداقل ۴۸-۲۴ ساعت بعد اقدام به اندازه‌گیری کورتیزول نمود. کورتیزول علاوه بر خون در ادرار نیز همراه با کراتینین اندازه‌گیری و نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار محاسبه می‌شود. از همان کیت‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری کورتیزول خون می‌توان برای اندازه‌گیری کورتیزول ادرار نیز استفاده نمود. جهت اندازه‌گیری کورتیزول ادرار بهتر است که نمونه ادرار صبح هنگام توسط صاحب دام گرفته شود تا کمترین استرس به دام وارد شود. نمونه ادرار را بایستی در مجاورت یخ هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری کورتیزول و کراتینین ارسال شود. آلدسترون در سرم یا پلاسمای هپارینه اندازه‌گیری می‌شود. آلدسترون در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد حداقل دو ماه پایدار خواهد بود.

اگر چه اندازه‌گیری ACTH خون دام‌ها با کیت‌های رادیوایمنواسی انسانی قابل انجام است، اما ACTH هورمون بسیار ناپایداری است و برای اندازه‌گیری آن بایستی پروتکل زیر را به دقت رعایت نمود. بهتر است که نمونه خون بین ساعات ۸ تا ۹ صبح گرفته شود. بهترین نمونه پلاسمای هپارینه یا EDTA است و حتما باید از سرنگ و لوله‌های پلاستیکی جهت جمع‌آوری خون و جداسازی پلاسما استفاده نمود. به شدت بایستی از لوله‌های شیشه‌ای رایج اجتناب نمود زیرا ACTH به شیشه می‌چسبد و مقدار آن در پلاسما کاهش خواهد یافت. توصیه می‌شود که لوله‌های پلاستیکی حاوی EDTA یا هپارین از قبل در یخچال قرار داده شده باشند و بعد خون را به آن‌ها اضافه نمود. بلافاصله بعد از جمع‌آوری خون به داخل لوله بایستی پلاسما را با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد) جدا نمود و پلاسمای جمع‌آوری شده را در لوله پلاستیکی و در مجاور یخ خشک به آزمایشگاه منتقل نمود. در صورت عدم انجام آزمایش در همان روز باید پلاسما را در فریزر ۲۰- تا ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری نمود. ACTH در دمای اتاق بسیار ناپایدار است و از انجماد و فریز مجدد نمونه بایستی پرهیز نمود. جهت افزایش پایداری ACTH می‌توان بلافاصله بعد از جمع‌آوری خون به لوله حاوی خون آپروتینین (Aprotinin) (به میزان ۵۰۰ واحد در هر میلی‌لیتر خون) اضافه نمود که یک مهارکننده پروتئیناز است و با مهار تریپسین، پلاسمین و کالیکرین موجب افزایش طول عمر ACTH خواهد شد. با اضافه نمودن این ماده ACTH به مدت ۴ روز در دمای ۴ یا ۲۰- درجه سانتی گراد قابل نگهداری است.

بیماری های غدد فوق کلیه در دام کوچک

در میان بیماری‌های غدد فوق کلیه دو بیماری مهم در دام‌های کوچک وجود دارد که مربوط به بخش کورتکس هستند. بیماری اول پرکاری و افزایش بیش از حد هورمون‌های غدد فوق کلیه است که به نام‌های هایپرآدرنوکورتیزیسم (Hyperadrenocorticism) یا بیماری کوشینگ (Cushing's disease) شناخته می‌شود و بیماری دیگر کم‌کاری و کاهش تولید هورمون‌های غدد فوق کلیه است که به نام‌های هایپوآدرنوکورتیزیسم (Hypoadrenocorticism) یا بیماری آدیسون (Addison's disease) شناخته می‌شود. به ندرت کاهش یا افزایش تولید هورمون‌های جنسی در لایه داخلی کورتکس (زونا رتیکولاریس) رخ می‌دهد. افزایش تولید هورمون‌های جنسی با تومورهای این بخش همراه است و بسته به این که کدام نوع استروئید بیشتر از حد تولید می‌شود، صفات جنسی مختلف بروز می‌کند. سن و جنس دام نیز در روند بیماری و علائم دخیل است. برای مثال گاهی توسعه صفات مردانه در جنس ماده و گاهی بلوغ زودرس و رشد زودرس اندام های جنسی دیده می‌شود. کم‌کاری زونا رتیکولاریس همراه با کاهش تولید هورمون‌های جنسی و تاخیر در رشد اندام‌های جنسی و تاخیر در بلوغ خواهد بود.

بیماری‌های مرتبط با مدولای غده فوق کلیه بسیار نادر هستند. مهم‌ترین بیماری بخش مدولا تومور فئوکروموسایتوم (Pheochromocytoma) است که همراه با افزایش ترشح کاتیکول‌آمین‌ها و متعاقب آن افزایش ضربان قلب، ادم قلبی و بزرگی قلب می‌باشد. بیماری دیگر، از کار افتادگی و ضعف بخش مدولای غده فوق کلیه و کاهش ترشح کاتیکول‌آمین‌ها است که در ادامه به بیماری‌های ثانویه نظیر نارسایی قلبی منجر می‌شود. شکل ۲ روند بروز بیماری کوشینگ، آدیسون و بیماری‌های مرتبط با بخش‌های دیگر غده فوق کلیه را به طور مقایسه‌ای نشان می‌دهد.



شکل ۲. بیماری‌های مرتبط با اختلالات غدد فوق کلیه در دام‌های کوچک

سندرم/بیماری کوشینگ

انواع بیماری کوشینگ: احتمالا بیماری کوشینگ شایع‌ترین بیماری غدد درون‌ریز در سگ‌های با سنین بالا می‌باشد. شیوع این بیماری در سگ‌ها و موش خرما (Ferret) بسیار بیشتر از گربه‌ها است. این بیماری به صورت نادر و موردی در گربه‌های مسن دیده می‌شود.

کوشینگ به سه شکل وابسته به هیپوفیز (Pituitary dependent hyperadrenocorticism, PDH)، وابسته به آدرنال (Adrenal dependent hyperadrenocorticism, ADH) و ایاتروژنیک (Iatrogenic) رخ می‌دهد. کوشینگ وابسته به هیپوفیز شایع‌ترین فرم بیماری است که در بیش از ۸۰ درصد سگ‌ها و ۱۰۰ درصد گربه‌های مبتلا به کوشینگ

وجود دارد. در این نوع کوشینگ به دلیل وجود تومور در غده هیپوفیز مقادیر زیادی هورمون ACTH تولید می‌شود که موجب هیپرتروفی دو طرفه غدد فوق کلیه و ترشح بیش از حد کورتیزول خواهد شد. حدود ۸۰ درصد سگ‌های مبتلا به فرم وابسته به هیپوفیز دارای میکروآدنوم در غده هیپوفیز خود هستند و بقیه موارد از یک تومور ماکروآدنوم در هیپوفیز رنج می‌برند. با توجه به اندازه بزرگ و تهاجمی بودن ماکروآدنوم، در مبتلایان به این نوع تومور ممکن است اختلال بینایی (به دلیل فشار یا تهاجم به عصب بینایی)، سایر اختلال‌های درون ریز از قبیل کم‌کاری تیروئید (به دلیل فشار تومور بر روی سلول‌های تیروتروف هیپوفیز) و علائم عصبی (به دلیل متاستاز به مغز) مشاهده گردد. در کوشینگ وابسته به آدرنال به دلیل وجود تومور در کورتکس غده فوق کلیه مقدار زیادی هورمون کورتیزول ترشح می‌شود. این نوع کوشینگ تنها در ۱۵-۱۰ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ رخ می‌دهد. البته در موش خرما تومورهای کورتکس فوق کلیه شایع‌ترین عامل کوشینگ هستند که این تومورها مقادیر زیادی هورمون‌های جنسی و کورتیزول را ترشح می‌کنند. فرم وابسته به آدرنال در بسیاری از گونه‌های دامی دیگر نادر است. حدود نیمی از تومورهای آدرنال خوش خیم و مابقی بدخیم هستند که به بافت‌ها و ارگان‌ها دیگر از قبیل کبد، غدد لنفی مجاور و ریه متاستاز می‌دهند. کوشینگ ایاتروژنیک به دلیل تجویز طولانی مدت کورتون‌ها رخ می‌دهد که علائم بالینی و آزمایشگاهی شبیه به فرم طبیعی ایجاد می‌کند. گزارشات اندکی از تولید ACTH توسط تومورهای خارج از غده فوق کلیه و یک گزارش افزایش کورتیزول ناشی از غذا در سگ وجود دارد. تولید ACTH خارج از غده فوق کلیه در انسان بیشتر از دام‌ها گزارش شده است که اغلب موارد در تومور سلول جویی (Oat cell tumor)، یک تومور نوروآندوکرین در بافت ریه است.

علایم بیماری کوشینگ در دام‌های کوچک: بیماری کوشینگ روند بسیار آرام و طولانی مدت دارد. علائم بالینی این بیماری و میزان وقوع آن‌ها در سگ و گربه در جدول ۱ بیان شده است. از جمله شایع‌ترین علائم بالینی کوشینگ می‌توان به پرادراری، پرنوشی، پرخوری، بی‌حالی، شکم متسع و آویزان (Pot-belly)، مو ریختگی، بزرگ شدن کبد و عدم فحلی اشاره نمود. در صورت کاهش سطح کورتیزول خون بسیاری از علائم فوق برطرف خواهند شد.

یافته آزمایشگاهی	درصد مشاهده در سگ	درصد مشاهده در گربه
پرنوشی و پرادراری	۹۰-۸۰	۹۰
تاسی و موریختگی موضعی یا گسترده در بدن	۷۵-۶۰	۶۰
خشک و شکننده شدن پوست و بافت‌های پوششی	-	۵۰
پرخوری و افزایش اشتها	۶۰-۵۰	۷۰
اتساع و افتادگی شکم	۷۰	۸۵
بزرگی کبد	۷۰-۵۰	۳۵
رخوت و بی‌حالی	۸۰	۵۰
عدم فحلی	۵۵	-
رسوب کلسیم در پوست و بافت‌های پوششی	۱۰	-
پایودرم و تجمع چرک و عفونت در رحم	-	۴۰
افزایش رنگدانه‌های پوست	۳۳	-
جوش‌های سر سیاه و کومدون‌های پوستی (Comedones)	۳۳	-
دیابت ملیتوس راجعه	۳۳-۱۰	۹۰

جدول ۱. یافته‌های بالینی و درصد مشاهده آن‌ها در سگ‌ها و گربه‌های مبتلا به بیماری کوشینگ

در صورت وجود تومور ماکروآدنوم هیپوفیز ممکن است علائم عصبی و بینایی دیده شود. در برخی موارد به صورت موردی

تحلیل عضلات، اتساع عروق خونی در پوست، تحلیل بافت بیضه‌ها، کاهش تمایل جنسی، برونکوپنومونی، کریستالی شدن و رسوب مواد معدنی در ریه‌ها، التهاب مثانه، فلج اعصاب صورت و ترومبوامبولی‌های ریوی در سگ‌ها و گربه‌های مبتلا دیده می‌شود.

یافته‌های آزمایشگاهی مرتبط با سندرم/بیماری کوشینگ

یافته‌های خون شناسی: به دلیل افزایش مداوم کورتیزول در سگ‌های مبتلا به کوشینگ لوکوگرام استرس مورد انتظار است. تغییرات مشاهده شده در لوکوگرام استرس عبارتند از لوکوسیتوز همراه با نوتروفیلی، لنفوپنی، ائوزینوپنی و مونوسیتوز که در این بین لنفوپنی و ائوزینوپنی یافته‌های پایدارتری هستند. افزایش هماتوکریت (اریتروسیتوز) و حضور گلبول‌های قرمز هسته‌دار در خون برخی از سگ‌های مبتلا دیده می‌شود. افزایش تعداد پلاکت‌های خون (ترومبوسیتوز) در بسیاری از سگ‌های کوشینگی دیده می‌شود. لوکوگرام استرس در گربه‌های مبتلا به کوشینگ ایاتروژنیک مشاهده می‌شود اما گربه‌هایی که به فرم طبیعی کوشینگ دچار هستند این تغییر را همیشه نشان نمی‌دهند. تعداد گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها در گربه‌های مبتلا طبیعی است و حضور گلبول‌های قرمز هسته‌دار، آسیب‌های عروقی یا میکروآنژیوپاتی‌ها (Microangiopathies) و ترومبوسیتوز (Thrombocytosis) هم در مواردی دیده می‌شوند.

یافته‌های بیوشیمیایی: طیف بسیار وسیعی از یافته‌های بیوشیمیایی در بیماری کوشینگ در دام‌های کوچک گزارش شده است. افزایش سطح آلکالین فسفاتاز (Alkaline phosphates, ALP) خون در بیش از ۹۰ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ دیده می‌شود که نشان دهنده حساسیت بالای آن برای تشخیص کوشینگ در این گونه دامی است. هر چه میزان افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز بیشتر باشد احتمال بیماری کوشینگ بیشتر است. افزایش شدید سطح آلکالین فسفاتاز به ۱۰۰۰۰-۲۰۰۰۰ واحد بین المللی در لیتر خون نشانه خوبی از حضور بیماری کوشینگ در سگ می باشد. اما افزایش سطح آلکالین فسفاتاز خون اختصاصی بیماری کوشینگ نیست و در طیف وسیعی از بیماری‌ها دیده می‌شود. در مورد اهمیت آنزیم آلکالین فسفاتاز برای تشخیص کوشینگ در سگ می‌توان این‌گونه جمع بندی نمود که در یک سگ مشکوک به کوشینگ افزایش آلکالین فسفاتاز احتمال وجود بیماری را قوت می‌بخشد و برای تشخیص قطعی باید سراغ آزمایش‌های تائیدی که در ادامه ذکر می‌شوند رفت. از طرف دیگر، عدم افزایش سطح آلکالین فسفاتاز خون معرف خوبی برای عدم حضور بیماری کوشینگ در سگ است. در گربه‌ها وضعیت متفاوت است. با توجه به این‌که در گربه ایزوآنزیم استروئیدی آلکالین فسفاتاز وجود ندارد و نیمه عمر آلکالین فسفاتاز در گربه‌ها بسیار کوتاه است، در نتیجه افزایش آن تنها در ۱۵ درصد گربه‌های مبتلا به کوشینگ دیده می‌شود.

افزایش ملایم تا متوسط سایر آنزیم‌های کبدی از قبیل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمنیوترانسفراز (AST) در بیماری کوشینگ در پی هپاتومگالی ناشی از انباشتگی گلیکوژن نیز محتمل می‌باشد. تجمع گلیکوژن در هپاتوسیت‌ها صفت مشخصه دیگری برای بیماری کوشینگ در دام‌های کوچک است. به ویژه در گربه بروز سندرم کبد چرب به همراه تجمع گلیکوژن در بافت کبد در بسیاری از موارد رخ می‌دهد. افزایش میزان اسیدهای صفراوی در حدود یک سوم سگ‌های مبتلا رخ می‌دهد و احتمالا ناشی از هپاتوپاتی و هپاتومگالی ناشی از تجمع گلیکوژن در بافت کبد است.

افزایش گلوکز خون (هیپرگلیسمی) یافته بالینی دیگری است که در پی افزایش ترشح کورتیزول رخ می‌دهد. در صورتی‌که میزان گلوکز خون در یک سگ یا گربه مبتلا به کوشینگ بیشتر از ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد، بایستی وجود هم‌زمان دیابت ملیتوس را نیز مد نظر قرار داد. از طرف دیگر، در یک سگ یا گربه مبتلا به دیابت ملیتوس که در آن تنظیم گلوکز خون با تزریق انسولین دشوار یا غیر ممکن است (به اصطلاح مقاومت انسولینی وجود دارد)، بایستی وجود هم‌زمان کوشینگ را مد نظر قرار داد زیرا کورتیزول به عنوان آنتاگونیست انسولین عمل نموده و مانع فعالیت آن خواهد شد. افزایش سطح فروکتوزآمین سرم در پی هیپرگلیسمی

مزمن در طیف وسیعی از سگ‌ها و گربه‌های مبتلا دیده می‌شود. افزایش سطح کلسترول سرم در نیمی از سگ‌ها و گربه‌های مبتلا دیده می‌شود. به علاوه، افزایش سطح تری‌گلیسیریدهای خون در حدود ۹۰ درصد سگ‌های مبتلا مشاهده می‌شود. اما افزایش سطح تری‌گلیسیرید خون در گربه‌ها دیده نمی‌شود.

کاهش فسفر، اوره و کراتینین خون ممکن است در ۲۰ تا ۵۰ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ مشاهده شود که به دلیل اثرات کورتیزول در دفع ادراری فسفر و دیورز اسمزی رخ می‌دهند. بر عکس، به ندرت در برخی دام‌های مبتلا ممکن است به دلیل پرادرای و دهیدراسیون ناشی از آن افزایش فسفر، اوره و کراتینین خون رخ دهد. جدول ۲ یافته‌های بیوشیمیایی و تابلوی خونی مرتبط با سندرم/بیماری کوشینگ در دام‌های کوچک را به تفکیک نمایش می‌دهد.

یافته آزمایشگاهی	درصد مشاهده در سگ	درصد مشاهده در گربه
افزایش آلکالین فسفاتاز	۹۵-۸۵	۱۵
افزایش آلانین آمینوترنسفراز	۸۰-۵۰	۴۰
افزایش گلوکز خون	۴۰-۳۰	۹۵
کاهش اوره (نیتروژن) خون	۵۰-۳۰	-
کاهش فسفات خون	۴۰-۲۰	-
افزایش لیپید خون	۸۰-۵۰	-
افزایش کلسترول	۵۰	۴۰
وزن مخصوص ادرار کمتر از ۱/۰۲۰	۸۰	کمیاب
عفونت ادراری	۵۰	کمیاب
پروتوئین اوری	۷۵	شایع
گلوکوز اوری	۱۰	۹۰
کاهش تیروکسین	۵۰	-
کاهش هورمون T_4 آزاد در خون	۲۵	-
حضور ایزوآنزیم استروئیدی آلکالین فسفاتاز	۹۰-۸۵	حضور ندارد
تغییرات تعداد گلبول‌های سفید (لوکوگرام استرس)	شایع	کمیاب
حضور گلبول‌های قرمز هسته دار	شایع	کمیاب
ترومبوسیتوز	۸۵	-

جدول ۲. یافته‌های بیوشیمیایی و خون شناسی مرتبط با بیماری کوشینگ در دام‌های کوچک

یافته‌های مرتبط با آنالیز ادرار: وزن مخصوص ادرار در بسیاری از سگ‌ها و تعداد اندکی از گربه‌های مبتلا به کوشینگ کاهش می‌یابد. دلیل این امر تداخل کورتیوزل با فعالیت هورمون ADH در کلیه‌ها است که موجب اختلال در بازجذب آب و به دنبال آن پرادراری خواهد شد. وزن مخصوص ادرار در صورت محرومیت از آب به حدود ۱/۰۲۵ خواهد رسید. گلوکزاوری در ۱۰ درصد سگ‌ها و بیش از ۹۰ درصد گربه‌های مبتلا به کوشینگ وجود دارد. درصورت گلوکزاوری و کتون‌اوری مداوم در یک دام مبتلا به کوشینگ، احتمال ابتلای همزمان دیابت ملیتوس و کوشینگ وجود دارد. پروتئین‌اوری در بیش از ۷۵ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ وجود دارد که به دلیل التهاب مثانه و تاحدی آسیب گلومرولی ناشی از کورتیزول می‌باشد. نسبت پروتئین به کورتیزول ادرار در محدوده ۱ تا ۶ قرار دارد (نرمال کمتر از ۱). عفونت ادراری به دلیل ضعف سیستم ایمنی ناشی از افزایش کورتیزول در نیمی از سگ‌های مبتلا به کوشینگ دیده می‌شود که موجب مشاهده باکتری‌ها و یا گلبول‌های سفید در ادرار خواهد شد. کاهش وزن مخصوص ادرار همراه با باکتری‌اوری اما بدون حضور گلبول‌های سفید در ادرار ترکیب غیر معمولی است که در صورت مشاهده می‌تواند نشانه‌ای از بیماری کوشینگ باشد.

آزمایش‌های مورد استفاده برای تائید بیماری کوشینگ

در مواردی که تاریخچه، علائم بالینی (از قبیل پرادراری، پرنوشی و مو ریختگی) و یافته‌های آزمایشگاهی (از قبیل لوکوگرام استرس بویژه لنفوپنی، افزایش ALP و کاهش وزن مخصوص ادرار) احتمال وجود بیماری کوشینگ را در دام

نشان می‌دهند. در گام بعدی بایستی با انجام آزمایش‌های مناسب برای تائید دقیق بیماری اقدام نمود. سه آزمون نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار (Urine Cortisol: Creatinine Ratio, UCCR)، سرکوب دگزامتازون با دوز پایین (Low Dose Dexamethasome Suppression Test, LDDST)، و تحریک ACTH (ACTH Stimulation Test) آزمایش‌های مورد قبول برای این بیماری هستند که به طور معمول می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. هر کدام از این آزمایش ها محاسن و معایب و کاربرد منحصر به فردی دارند. برای مثال آزمون سرکوب دگزامتازون با دوز پایین دارای بیشترین تعداد موارد مثبت کاذب است و تنها در مواردی که دام دارای علائم بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی مشخصه بیماری است به کار برده می‌شود. به علاوه این آزمایش در مواردی که انجام عمل جراحی و خارج کردن غدد فوق کلیه به عنوان رهیافت درمانی میسر نباشد نیز توصیه می‌شود. تحریک ACTH کمترین میزان نتایج مثبت کاذب را دارد و زمانی که علائم بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی نتایج واضح و مشخصی را ارائه نمی‌دهند به عنوان بهترین روش غربالگری مطرح است. آزمایش UCCR ارزان‌ترین و ساده‌ترین روش غربالگری است اما با توجه به نتایج مثبت کاذب بالایی که دارد، انجام این روش به تنهایی با اشتباهات فراوان در تشخیص بیماری همراه خواهد بود. نکته مهم این که این تست‌ها باید در ترکیب با تاریخچه، یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی استفاده شوند.

نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار: مطالعات مختلف نشان داده‌اند که ۱۰۰-۹۰ درصد دام‌های مبتلا به بیماری کوشینگ، مقادیر قابل توجهی کورتیزول در ادرار خود دارند، در نتیجه نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار حساسیت بالایی دارد اما مشخص شده که حدود ۸۰ درصد دام‌های مبتلا به بیماری‌های غیر از کوشینگ نیز ممکن است افزایش نسبت را نشان دهند و این آزمون اختصاصیت بسیار پایینی برای بیماری کوشینگ دارد (در حدود ۲۰ درصد). در نتیجه انجام این تست برای تشخیص قطعی مناسب نیست ولی به دلیل قیمت پایین (ارزان‌ترین روش) و روش ساده و سریع برای غربال‌گری توصیه می‌شود.

جهت انجام این آزمایش بهتر است که نمونه ادرار صبح هنگام توسط صاحب دام گرفته شود تا کمترین استرس به دام وارد شود. نمونه ادرار در مجاورت یخ هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه جهت اندازه گیری کورتیزول و کراتینین ارسال شود.

نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار با استفاده از فرمول مقابل محاسبه می شود:

$$\frac{\text{کورتیزول ادرار}}{\text{کراتینین ادرار}}$$

که در آن کورتیزول و کراتینین بر حسب نانومول در لیتر (nmol/L) بیان می‌شوند. در صورتی‌که کورتیزول برحسب میکروگرم در دسی‌لیتر (µg/dL) و کراتینین بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر (mg/dL) باشد بایستی تبدیل واحد به صورت زیر انجام شود: کورتیزول برحسب میکروگرم در دسی‌لیتر را در عدد ۲۷/۵۹ و کراتینین بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر را در ۰/۰۸۸۴ ضرب نمود تا به ترتیب به نانومول در لیتر و میلی‌مول در لیتر تبدیل شوند. به عنوان مثال در صورتی‌که در یک نمونه ادرار میزان کورتیزول ۷/۲۵ میکروگرم در دسی‌لیتر و میزان کراتینین ادرار ۱۱۴ میلی‌گرم در دسی لیتر باشد، نسبت کورتیزول به کراتینین ادارار برابر خواهد بود:

$$\frac{7.25 \times 27.59}{114 \times 0.0884} \sim \frac{200}{10 \times 10^{6}} \sim 20 \times 10^{-6}$$

جهت سهولت تنها عدد اول ذکر شده و از بیان 10^{-6} خودداری می‌گردد. در حالت طبیعی و سلامت دام نسبت کورتیزول به کراتینین مرجع بسته به عوامل مختلف بین ۰/۱۷-۵/۷ تعریف شده است. نسبت کمتر از ۱۵ بیماری کوشینگ را رد می‌کند. نسبت‌های بین ۱۹-۱۵ مرزی تلقی شده و نسبت های بیشتر مساوی ۲۰ مشکوک به حضور بیماری کوشینگ هستند. در مواردی که این نسبت بیشتر از ۱۰۰ باشد، احتمال حضور بیماری در دام بسیار بالاست. از آنجایی‌که بیش از ۸۰ درصد سگ‌های مبتلا به بیماری‌های غیر کوشینگ افزایش نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار را

نشان می‌دهند، بالا بودن این نسبت تائید کننده کوشینگ نیست و برای تشخیص قطعی بیماری کوشینگ باید از آزمون‌های سرکوب دگزامتازون با دوز پایین و یا تحریک ACTH استفاده نمود.

آزمون سرکوب دگزامتازون با دوز پایین: سرکوب دگزامتازون با دوز پایین بر این اساس طراحی شده است که تجویز دگزامتازون به دام‌های سالم موجب کاهش سطح کورتیزول خون خواهد شد. دگزامتازون توسط گیرنده‌های هیپوفیزی-هیپوتالاموسی شناسایی شده و سبب کاهش ترشح هورمون ACTH از غده هیپوفیز می‌شود که این امر به نوبه خود سبب کاهش ترشح کورتیزول از غدد فوق کلیه خواهد شد. اما در دام‌های مبتلا به بیماری کوشینگ پس از تجویز دگزامتازون با دوز پایین ترشح کورتیزول سرکوب نخواهد شد. این آزمون در فرم‌های مختلف بیماری کوشینگ پاسخی مشابه دارد و نمی‌تواند انواع مختلف بیماری را تفریق دهد.

روش انجام آزمون بدین ترتیب است:

۱. ابتدا یک نمونه خون از دام اخذ می‌شود.

۲. دگزامتازون داخل وریدی با دوز ۰/۰۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم تجویز می‌گردد. هر دو فرم دگزامتازون سدیم فسفات یا دگزامتازون به

همراه پلی اتیلن گلایکول در این روش قابل استفاده هستند.

۳. دو نمونه خون دیگر در ساعت‌های چهار و هشت پس از تجویز دگزامتازون گرفته خواهد شد.

۴. غلظت کورتیزول سرم در سه نمونه خون اخذ شده اندازه‌گیری خواهد شد. البته جهت تشخیص بیماری کوشینگ تنها دو نمونه قبل از تزریق و هشت ساعت پس از تزریق کافی است. نمونه ساعت چهار در برخی موارد جهت تعیین نوع کوشینگ کمک کننده خواهد بود که در ادامه ذکر خواهد شد.

در صورتی‌که در انجام آزمایش مشکلی پیش آمد (به عنوان مثال تزریق به صورت کامل داخل ورید انجام نشود) می‌توان بعد از گذشت ۷۲ ساعت آن را تکرار نمود.

در سگ‌های سالم، هشت ساعت پس از تجویز دگزامتازون غلظت کورتیزول خون به کمتر از ۱/۴ میکروگرم در دسی‌لیتر یا کمتر از ۴۰ نانومول در لیتر کاهش می‌یابد اما در سگ‌های مبتلا به کوشینگ غلظت کورتیزول در ساعت هشت بیشتر مساوی ۱/۴ میکروگرم در دسی‌لیتر خواهد بود. علاوه بر این در برخی منابع معیار دومی جهت تشخیص کوشینگ ذکر شده است بدین صورت که اگر غلظت کورتیزول در ساعت هشت پس از تزریق کمتر از ۵۰ درصد زمان پیش از تزریق باشد دام سالم است، اما اگر غلظت کورتیزول ساعت هشت بیشتر از ۵۰ درصد نمونه پیش از تزریق باشد وجود کوشینگ تائید خواهد شد.

تمامی سگ‌های مبتلا به فرم وابسته به آدرنال و ۹۵-۹۰ درصد سگ‌های مبتلا به فرم وابسته به هیپوفیز با این آزمون قابل شناسایی هستند. در مجموع حساسیت این آزمون برای تشخیص بیماری کوشینگ ۹۵ درصد است. به عبارت دیگر حدود ۹۵ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ به دنبال تزریق دوز پایین دگزامتازون عدم کاهش کورتیزول را نشان می‌دهند اما حدود ۵۶-۲۵ درصد سگ‌هایی که از بیماری‌های غیر کوشینگ رنج می‌برند نیز در این آزمون عدم کاهش کورتیزول را نشان می‌دهند که ممکن است به اشتباه کوشینگ تشخیص داده شوند (مثبت کاذب). هر چه بیماری غیر کوشینگ شدیدتر باشد احتمال نتیجه مثبت کاذب نیز بیشتر خواهد بود.

با توجه به نتایج مثبت کاذب زیادی که این آزمون دارد، انجام آن تنها در دام‌هایی که علائم بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی مرتبط با کوشینگ (از قبیل لنفوپنی، افزایش آنزیم ALP و کاهش وزن مخصوص ادرار) را نشان می‌دهند توصیه می‌شود. در دام‌های با علائم و یافته‌های مبهم و سوال برانگیز نباید از این آزمون استفاده کرد و بایستی سراغ آزمون دیگر یعنی تحریک ACTH رفت.

در گربه‌های سالم میزان کورتیزول خون چهار و هشت ساعت بعد از تزریق دوز پایین دگزامتازون معمولا کمتر از ۱ میکروگرم در دسی‌لیتر است، در حالی‌که در گربه‌های مبتلا به کوشینگ غلظت کورتیزول در این ساعات بیش از ۱/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر خواهد بود و مقادیر ۱/۴-۱ ناحیه

خاکستری در نظر گرفته می‌شود. عدم کاهش کورتیوزل خون به دنبال تزریق دوز پایین دگزامتازون در ۲۰-۱۵ درصد گربه‌های سالم و در بسیاری از گربه‌های مبتلا به بیماری‌های دیگر نیز دیده می‌شود که به اشتباه کوشینگ در آن‌ها تشخیص داده خواهد شد. با توجه به نکات ذکر شده این آزمایش برای تشخیص کوشینگ در گربه‌ها توصیه نمی‌شود. در گربه‌ها، آزمایش دگزامتازون با دوز بالا برای تائید وجود یا عدم وجود کوشینگ به کار می‌رود. که در آن ۰/۱ میلی‌گرم دگزامتازون به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تجویز می‌شود. در تمامی گربه‌های سالم، غلظت کورتیزول خون در ساعات چهار و هشت پس از تزریق دوز بالای دگزامتازون کمتر از یک میکروگرم در دسی‌لیتر (۳۰ نانومول در لیتر) خواهد بود. اما در حدود ۹۰ درصد از گربه‌های مبتلا به کوشینگ، غلظت کورتیزول در این ساعات بیشتر از ۱/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر است و مقادیر بین ۱/۴-۱ میکروگرم در دسی‌لیتر ناحیه خاکستری در نظر گرفته می‌شود.

آزمون تحریک ACTH: این آزمون بر مبنای افزایش ترشح کورتیزول در بدن دام متعاقب تجویز هورمون ACTH طراحی شده است. مراحل انجام آزمون بدین ترتیب است:

۱. ابتدا یک نمونه خون اولیه از دام اخذ می‌گردد.

۲. هورمون ACTH سنتتیک (کوسینتروپین/Cosyntropin) به صورت وریدی با دوز ۲۵۰ میکروگرم در سگ‌ها و گربه‌های با وزن بیشتر از ۵ کیلوگرم و با دوز ۱۲۵ میکروگرم در سگ‌ها و گربه‌های با وزن کمتر از ۵ کیلوگرم تجویز می‌گردد.

۳. در سگ یک نمونه خون دیگر در دقیقه ۶۰ پس از تزریق و در گربه دو نمونه خون دیگر در دقایق ۳۰ و ۶۰ پس از تزریق اخذ خواهد شد.

۴. در تمامی نمونه‌های اخذ شده غلظت کورتیزول اندازه‌گیری خواهد شد.

جهت صرفه‌جویی در هزینه می‌توان از دوزهای کمتر ACTH (پنج میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل وریدی) استفاده نمود که نتایج آن مشابه دوزهای بالاتر خواهد بود. در صورت عدم دسترسی به ACTH سنتتیک یا هزینه بالای آن می‌توان از ACTH خوکی یا گاوی با دوز ۲/۲ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت عضلانی استفاده نمود و نمونه خون را دو ساعت بعد از تزریق اخذ نمود.

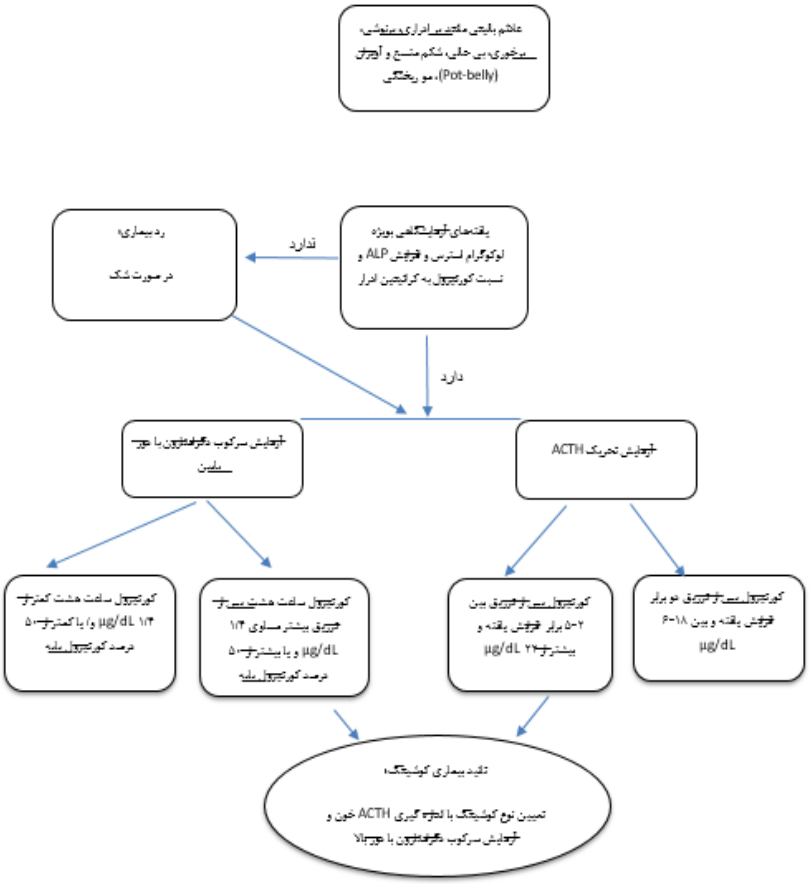
محدوده طبیعی کورتیزول پایه در سگ‌های سالم ۶-۰/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر است. در سگ‌های سالم پس از تجویز هورمون ACTH غلظت کورتیزول در خون آن‌ها افزایش دو برابری می‌یابد ولی در محدوده ۱۸-۶ میکروگرم در دسی‌لیتر باقی می‌ماند اما در دام‌های مبتلا به بیماری کوشینگ، غلظت کورتیزول در خون آن‌ها بین ۵-۲ برابر افزایش یافته و به مقادیر بالای ۲۲ میکروگرم در دسی‌لیتر می‌رسد. مقادیر کورتیزول بین ۱۸ تا ۲۲ میکروگرم در دسی‌لیتر ناحیه خاکستری و مشکوک در نظر گرفته می‌شود که نیاز به بررسی بیشتر (تکرار آزمون یا انجام آزمون سرکوب دگزامتازون با دوز پایین) دارد.

آزمون تحریک ACTH قادر به شناسایی ۸۵-۸۰ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ وابسته به هیپوفیز خواهد بود اما تنها ۶۰ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ وابسته با آدرنال را شناسایی خواهد نمود. از آنجایی‌که کوشینگ وابسته با آدرنال فقط ۱۰ درصد موارد کوشینگ در سگ را تشکیل می‌دهد، بنابراین اغلب دام‌های مبتلا به کوشینگ با این آزمون قابل تشخیص هستند. یکی از بهترین مزیت‌های آزمون تحریک ACTH تعداد اندک موارد مثبت کاذب است (۱۵ درصد). بنابراین این آزمون در سگ‌های بیماری کاربرد دارد که تعداد محدودی علائم بالینی و آزمایشگاهی مرتبط با کوشینگ را نشان می‌دهند و کلینیسین سعی می‌کند که شک خود در مورد وجود کوشینگ در این بیماران را برطرف نماید. یک رهیافت منطقی در این بیماران بدین صورت است که ابتدا آزمایش‌های خون شناسی و بیوشیمیایی به ویژه اندازه‌گیری آنزیم ALP سرم خون و نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار انجام شود. در صورتی‌که نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار در محدوده طبیعی بود و افزایش آنزیم ALP نیز وجود ندارد، بیماری کوشینگ رد خواهد شد. در صورت افزایش نسبت کورتیزول به کراتینین ادرار و ALP بایستی با انجام آزمون تحریک ACTH وجود یا عدم وجود کوشینگ را تائید نمود.

از مزایای دیگر آزمون تحریک ACTH می‌توان به تشخیص کوشینگ ایاتروژنیک است اشاره نمود. در سگ‌های مبتلا به کوشینگ ایاتروژنیک، میزان کورتیزول خون بعد از تزریق ACTH افزایش نخواهد یافت و در هر دو نمونه قبل و بعد از تزریق کمتر از ۸ میکروگرم در دسی‌لیتر خواهد بود.

آزمون تحریک ACTH آزمون مناسبی برای مانیتورینگ پاسخ به درمان کوشینگ است. به عنوان مثال در صورت درمان کوشینگ با داروی میتوتان هدف درمان این است که بعد از تحریک ACTH غلظت کورتیزول خون تا کمتر از ۵ میکروگرم در دسی‌لیتر کاهش یابد اما بایستی دقت نمود که میزان کاهش ACTH به حدی نباشد که وارد محدوده کم‌کاری آدرنال شود. آزمون تحریک ACTH قادر به شناسایی موارد نادر و غیر معمول کوشینگ نیز است که در آن‌ها افزایش پیش‌سازهای کورتیزول (۱۷-هیدروکسی پروژسترون) وجود دارد اما غلظت محصول نهایی (کورتیزول) طبیعی است.

این امکان وجود دارد که در برخی بیماران نتایج بدست آمده از آزمون تحریک ACTH یا سرکوب دگزامتازون با دوز پایین تعیین کننده نباشد و گاهی اوقات نیاز به تکرار آزمون در زمان‌های دیگر یا استفاده از هر دو آزمون با هم وجود دارد. به دنبال انجام هر دو آزمون در گروهی از سگ‌های مبتلا به کوشینگ، هیچ‌کدام از سگ‌ها در هر دو آزمون نتایج طبیعی را نشان نداده و حداقل در یک آزمون کوشینگ قابل تشخیص است. شکل ۳ روند تشخیص بیماری کوشینگ در دام‌های کوچک را نمایش می‌دهد. در گربه‌های سالم غلظت کورتیوزل خون قبل از تزریق ACTH ۶-۱ میکروگرم در دسی‌لیتر است و یک ساعت بعد از تزریق کمتر از ۱۳ میکروگرم در دسی‌لیتر خواهد بود. در گربه‌های مبتلا به کوشینگ غلظت کورتیزول یک ساعت بعد از تزریق ACTH به بیش از ۱۶ میکروگرم در دسی‌لیتر می‌رسد. اما تنها ۵۰-۴۰ درصد گربه‌های مبتلا به کوشینگ با این آزمون قابل تشخیص هستند.



شکل ۳. روند تشخیصی بیماری کوشینگ در دام‌های کوچک

غدد آدرنال علاوه بر کورتیزول هورمون‌های دیگری نیز تولید می‌کنند که ممکن است غلظت آن‌ها در بیماری کوشینگ افزایش یابد. در اندکی از مبتلایان ممکن است هورمون‌های استروئیدی دیگر غیر از کورتیزول افزایش یابند. به همین دلیل برخی آزمایشگاه‌ها در کنار کورتیزول هورمون‌های دیگر از قبیل دی‌هیدرواپی‌آندرواستندیون، استرادیول، آندرواستندیون، ۱۷ هیدروکسی پروژسترون، پروژسترون و تستسترون را قبل و بعد از تزریق ACTH اندازه‌گیری می‌کنند.

آزمایش‌های مورد استفاده برای تعیین نوع کوشینگ

پس از این‌که وجود کوشینگ در یک دام با استفاده از آزمون سرکوب دگزامتازون با دوز پایین یا آزمون تحریک ACTH تائید شد، بایستی با انجام آزمایش‌های تفریقی نوع کوشینگ را تعیین نمود. تعیین نوع کوشینگ از لحاظ رهیافت درمان بسیار با اهمیت است. دو آزمون اندازه‌گیری ACTH اندوژن خون (Endogenous ACTH, eACTH) و سرکوب دگزامتازون با دوز بالا (High-dose dexamethasone suppression test, HDDST) مهم‌ترین آزمایش‌های تفریقی کوشینگ هستند. آزمون سرکوب دگزامتازون با دوز پایین نیز در برخی مبتلایان می‌تواند علاوه بر تشخیص کوشینگ، نوع آن را نیز تعیین نماید که در ادامه ذکر خواهد شد. در کنار این آزمایش‌ها، اولترا سونوگرافی نیز می تواند در تعیین نوع کوشینگ کمک کننده باشد.

اندازه‌گیری ACTH خون: اندازه‌گیری ACTH خون یکی از آزمون‌های تفریقی کوشینگ در دام‌های کوچک است. در این روش، بیماری کوشینگ وابسته به هیپوفیز سبب افزایش تولید ACTH در سگ‌های مبتلا شده و در نتیجه سطح سرمی ACTH در این دام‌ها بیشتر از حالت طبیعی است. در بیماری کوشینگ وابسته به غده آدرنال، افزایش سطح کورتیزول در بدن دام‌های مبتلا سبب سرکوب تولید و ترشح ACTH شده و در پی آن در سگ‌های مبتلا کاهش سطح سرمی ACTH به خوبی مشاهده می‌گردد. مشابه با سایر روش‌ها، این روش نیز در موارد کلاسیک بیماری کاربردی است و در مواردی که وضعیت بیمار در مرز بین سلامتی و بیماری قرار دارد، این تست ممکن است نتیجه مطلوبی به همراه نداشته باشد. دامنه مرجع در دام‌های کوچک ۱۰۰-۲۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر است. مقادیر کمتر از ۲۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر نشان دهنده حضور بیماری کوشینگ وابسته به غده آدرنال است، مقادیر ۲۰-۴۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر در مرز قرار داشته و قضاوت در مورد آن‌ها مشکوک و دو پهلوست و مقادیر بالای ۴۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر معرف حضور بیماری کوشینگ وابسته به هیپوفیز در دام‌های مبتلا است. در برخی موارد بیماری کوشینگ وابسته به هیپوفیز، مقادیر بالاتر از ۲۰۰ میکروگرم بر دسی‌لیتر هم مشاهده می‌گردد. تقریبا در ۹۰ درصد سگ‌های مبتلا به بیماری کوشینگ وابسته به هیپوفیز، سطح ACTH در سرم بالاتر از ۴۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر است و در ۷۰ درصد سگ‌های مبتلا به بیماری کوشینگ وابسته به آدرنال سطح سرمی ACTH به مقادیر کمتر از ۲۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر می‌رسد. نکته بسیار مهم این است که اندازه‌گیری ACTH تنها برای تعیین نوع کوشینگ در دام‌هایی به کار می‌رود که قبلا تشخیص بیماری در آن‌ها با استفاده از آزمون‌های سرکوب دگزامتازون با دوز پایین یا آزمون تحریک ACTH داده شده است و به هیچ وجه نباید از ACTH برای تشخیص وجود یا عدم وجود کوشینگ استفاده نمود. اگر چه آزمون ACTH بسیار ساده و مفید است و اندازه‌گیری آن با کیت‌های رادیوایمنواسی انسانی قابل انجام است اما ACTH هورمون بسیار ناپایداری است و برای اندازه‌گیری آن بایستی پروتکل گفته شده در بالا را به دقت رعایت نمود.

آزمون سرکوب دگزامتازون با دوز بالا: مشابه آزمون ACTH، این آزمون در سگ‌ها تنها برای تعیین نوع کوشینگ به کار می‌رود که قبلا تشخیص بیماری در آن‌ها با استفاده از آزمون‌های سرکوب دگزامتازون با دوز پایین یا آزمون تحریک ACTH داده شده است و به هیچ وجه نباید از سرکوب دگزامتازون با دوز بالا برای تشخیص وجود یا عدم وجود کوشینگ در سگ استفاده نمود. بر عکس سگ، در گربه‌ها همان‌گونه که قبلا ذکر شد این آزمون برای تائید وجود یا عدم وجود کوشینگ به کار می‌رود و نقشی در تعیین نوع آن ندارد.

در این آزمون به دنبال تجویز دوز بالایی از دگزامتازون به دام‌های سالم ترشح ACTH از غده هیپوفیز مهار می‌گردد که کاهش سطح ACTH در مرحله بعد سبب سرکوب غده آدرنال و مهار ترشح کورتیزول از این غده می‌گردد. در ۷۵ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ وابسته به هیپوفیز نیز مشابه دام‌های سالم سطح کورتیزول خون به دنبال تزریق دوز بالای دگزامتازون کاهش می‌یابد. اغلب این سگ‌ها دارای میکروآدنوم در غده هیپوفیز خود هستند اما در سگ‌های مبتلا به کوشینگ وابسته به آدرنال و همچنین ۲۵ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ وابسته به هیپوفیز کاهش کورتیزول خون رخ نمی‌دهد. اغلب سگ‌های مبتلا به کوشینگ وابسته به هیپوفیز که در این آزمون کاهش کورتیزول را نشان نمی‌دهند از ماکروآدنوم یا کارسینوم هیپوفیز رنج می‌برند.

پروتکل انجام آزمایش مشابه آزمون سرکوب دگزامتازون با دوز پایین است و فقط میزان تزریق دگزامتازون ۱-۰/۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (حداقل ۱۰ برابر) است. سه نمونه خون در زمان‌های صفر (پیش از تزریق)، ۴ و هشت ساعت بعد از تزریق گرفته شده و میزان کورتیزول خون در این نمونه‌ها اندازه‌گیری خواهد شد. اخذ نمونه ساعت ۴ الزامی نیست و می‌توان آن را حذف نمود.

در صورتی‌که در یک سگ مبتلا به کوشینگ میزان کورتیزول خون در ساعات ۴ یا هشت بعد از تزریق دوز بالای دگزامتازون کمتر از ۱/۴ میکروگرم در دسی‌لیتر (۴۰ نانومول در لیتر) باشد یا کورتیزول خون در ساعات ۴ یا ۸ کمتر از ۵۰ درصد میزان کورتیزول پایه (قبل از تزریق) باشد، نشان دهنده کوشینگ وابسته به هیپوفیز است. در غیر این صورت (یعنی کورتیزول خون بیشتر مساوی ۱/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر یا بیشتر از ۵۰ درصد زمان پایه) احتمال هر دو کوشینگ وابسته به آدرنال و وابسته به هیپوفیز وجود دارد و نمی‌توان این دو را از یکدیگر تفکیک نمود. در این شرایط باید از سایر آزمون‌های تفریقی مانند eACTH استفاده نمود.

سرکوب دگزامتازون با دوز پایین به عنوان یک آزمون تفریقی: همان‌گونه که ذکر گردید در برخی موارد نتایج حاصل از آزمون سرکوب دگزامتازون با دوز پایین به گونه‌ای است که نه تنها در تشخیص قطعی بیماری کوشینگ کمک کننده است بلکه می‌تواند نوع کوشینگ را هم تعیین نماید. در صورتی‌که به دنبال انجام آزمایش میزان کورتیزول خون در ساعت هشت بعد از تزریق بیشتر از ۱/۴ میکروگرم در دسی‌لیتر باشد، مشاهده هر یک از موارد زیر نشان دهنده وجود کوشینگ از نوع وابسته به هیپوفیز است:

- کورتیزول خون ساعت چهار کمتر از ۱/۴ میکروگرم در دسی‌لیتر
- کورتیزول ساعت چهار کمتر از ۵۰ درصد کورتیزول پایه
- کورتیزول ساعت هشت کمتر از ۵۰ درصد زمان پایه اما بیشتر از ۱/۴ میکروگرم در دسی‌لیتر

در مجموع حدود ۸۰-۶۰ درصد سگ‌های مبتلا به کوشینگ وابسته به هیپوفیز حداقل یکی از سه معیار فوق را نشان می‌دهند و نه تنها تشخیص کوشینگ بلکه تعیین نوع آن نیز با این آزمون قابل انجام است.

بیماری کوشینگ در موش خرما: سندرم/بیماری کوشینگ یکی از بیماری‌های شایع در موش خرما می‌باشد که طیف وسیعی از علائم بالینی و تظاهرات آزمایشگاهی که برای سگ و گربه ذکر شد را در بر دارد ولی ضایعات غدد آدرنال و همچنین اختلالات هورمونی در موش خرما تقریبا متفاوت هستند. ضایعات این بیماری در موش خرما به طور عمده در غدد آدرنال بروز می‌کند و تقریبا نیمی از این ضایعات هایپرپلازی و نیم دیگر نئوپلازی می‌باشد. کارسینوما شایع‌ترین نئوپلازی در غدد آدرنال موش خرماهای مبتلا به کوشینگ است. در برخی موارد، خون‌ریزی‌های شدید و تهدید کننده متعاقب بروز نکروز در این تومورها مشاهده می‌گردد. به طور تقریبی ۸۰ درصد ضایعات در غده آدرنال سمت چپ و ۱۵ درصد به صورت دو طرفه رخ می‌دهد. برداشت و خروج غده آدرنال درگیر به صورت یک طرفه رهیافت درمانی موفقی است که در موش خرماهای مبتلا به ضایعات یک طرفه غده آدرنال سمت چپ سبب بهبود دام‌های مبتلا می‌گردد. در موش خرما استروژن هورمون اصلی است که اختلالات آن سبب بروز علایم بالینی در

دام‌های مبتلا می‌گردد. افزایش سطح کورتیزول سرم در دام‌های مبتلا به ندرت مشاهده می‌شود.

در صورت طولانی شدن روند بیماری، افزایش استروژن سبب سرکوب مغز استخوان شده و متعاقب آن کم‌خونی، نوتروپنی و ترومبوسیتوپنی به وضوح مشاهده می‌گردد. تشخیص بیماری کوشینگ در موش خرما با اندازه‌گیری سطح استرادیول (Estradiol) و یا پیش‌سازهای استرادیول یعنی ۱۷-هیدروکسی‌پروژسترون (17-hydroxyprogesterone) و آندروستندیون (Androstenedione) صورت می‌گیرد. اندازه‌گیری پیش‌سازهای استرادیول رهیافت تشخیصی بسیار مهمی است که در مواردی که افزایش استرادیول در دام‌های مبتلا مشاهده نمی‌گردد، باید سطح این پیش‌سازها در بدن دام‌های مشکوک به بیماری کوشینگ اندازه‌گیری شود و در صورتی‌که سطح این پیش‌سازها بالا باشد، می‌تواند نشانه‌ای از حضور کوشینگ در دام‌های مشکوک به بیماری باشد. کیت‌های تجاری تشخیصی برای اندازه‌گیری این هورمون در دسترس می‌باشد.

سندرم/بیماری آدیسون

انواع بیماری آدیسون: نوع اولیه شایع‌ترین فرم بیماری است که در ۹۵-۹۰ درصد سگ‌های مبتلا به آدیسون رخ می‌دهد. ضایعه اصلی در اغلب این بیماران التهاب لنفوسیتی کورتکس آدرنال است که با پیشرفت بیماری به آتروفی ختم خواهد شد. ضایعات در کورتکس آدرنال غیر قابل برگشت هستند و این دام‌ها در تمام طول عمر خود نیاز به درمان جایگزین دارند. در این بیماری هر سه لایه کورتکس تخریب می‌شود که موجب کاهش تولید هر دو مینرالوکورتیکوئیدها و گلوکوکورتیکوئیدها خواهد شد. کاهش سدیم و کلر و افزایش پتاسیم خون به دلیل کمبود آلدسترون در این بیماران وجود دارد. علائم بالینی آدیسون زمانی مشاهده خواهند شد که حدود ۹۰-۷۵ درصد کورتکس هر دو آدرنال تخریب شده باشد. در مراحل ابتدایی بیماری که تخریب کورتکس کمتر از میزان فوق است و کمبود نسبی هورمون‌ها وجود دارد ممکن است در حالت عادی علائم بالینی مشاهده نشود، اما به دنبال مواجهه با استرس‌هایی از قبیل حمل و نقل، نبرد و گریز کمبود هورمون‌ها خود را نمایان نموده و دام علائم بالینی را نشان دهد.

برخی سگ‌های مبتلا به کوشینگ که تحت درمان دارویی قرار می‌گیرند ممکن است در اثر تخریب بیش از حد کورتکس مبتلا به آدیسون اولیه شوند. داروهایی از قبیل میتوتان و تریلوزتان که برای درمان کوشینگ به کار می‌روند موجب نکروز زونا فاسیکولاتا و زونا رتیکولاریس می‌شوند. در حدود پنج درصد سگ‌های درمان شده یا در سگ‌هایی که دوز بیش از حد از این داروها دریافت نموده‌اند تخریب زونا گلومرولوزا نیز رخ می‌دهد که در بسیاری از این سگ‌ها تخریب کورتکس دائمی است و به درمان جایگزین مینرالوکورتیکوئیدها و گلوکوکورتیکوئیدها در تمام طول عمر نیاز است. در آدیسون ثانویه به دلیل وجود ضایعه‌ای مانند تومور یا کیست در هیپوفیز تولید ACTH کاهش می‌یابد. کاهش ACTH موجب آتروفی زونا فاسیکولاتا و زونا رتیکولاریس کاهش تولید گلوکوکورتیکوئیدها خواهد شد. از آنجایی‌که در آدیسون ثانویه زونا گلومرولا سالم باقی می‌ماند، تولید مینروالوکورتیکوئیدها تغییر نخواهد کرد. بنابراین بر خلاف آدیسون اولیه، در نوع ثانویه تغییر الکترولیت‌های خون (سدیم، پتاسیم و کلر) و علائم بالینی مرتبط با هورمون آلدسترون از قبیل برادی‌کاردی وجود ندارد. نوع دیگری از آدیسون به دنبال قطع ناگهانی کورتون درمانی رخ می‌دهد که تحت عنوان آدیسون ایاتروژنیک نامیده می‌شود. تحویز طولانی مدت کورتیکواستروئیدها موجب فیدبک منفی بر روی تولید ACTH در هیپوفیز و متعاقب آن آتروفی زونا فاسیکولاتا و زونا رتیکولاریس خواهد شد. بعد از قطع کورتون درمانی حدود ۴-۲ هفته زمان نیاز است تا فعالیت کورتکس به حالت طبیعی برگردد. در صورت تجویز استروئیدهای طولانی اثر این زمان طولانی تر حدود ۶ هفته یا بیشتر خواهد بود. در طی این دوره احتمال این‌که دام علائم آدیسون را نشان دهد وجود دارد به ویژه اگر با استرس‌های محیطی از قبیل نبرد و گریز مواجه شود. همانند آدیسون ثانویه، در آدیسون ایاتروژنیک تنها کمبود گلوکوکورتیکوئیدها وجود دارد و بنابراین تغییر الکترولیت‌های خون (سدیم، پتاسیم و کلر) و

علائم بالینی مرتبط با هورمون آلدسترون از قبیل برادی‌کاردی وجود ندارد. در گربه‌ها بیماری نادر است و تنها فرم اولیه و ایاتروژنیک بیماری در این دام دیده می‌شود.

علائم بالینی: بر خلاف بیماری کوشینگ که به طور نسبتا رایج در دام‌های پیر دیده می‌شود، سندرم/بیماری آدیسون معمولا در سگ‌های جوان تا میانسال (۶-۳ ساله) رخ می‌دهد. ۷۰ درصد موارد در دام‌های ماده به ویژه دام‌های ماده عقیم نشده رخ می‌دهد. خطر بیماری در بعضی نژادها از قبیل استاندارد پودل، گریت دین، روتوایلر، ترییر سفید وست هایلند (West Highland white terriers) و سنت برنارد بیشتر از سایر نژادها است. این بیماری در گربه‌ها نادر است. برخی علائم بالینی از قبیل بی‌حالی، ضعف، استفراغ، اسهال، درد شکمی و بی‌اشتهایی به دلیل کمبود گلوکوکورتیکوئیدها و برخی دیگر همانند برادی‌کاردی، میکروکاردی، کاهش فشار خون، پرادراری و پرنوشی به دلیل کمبود مینرالوکورتیکوئیدها رخ می‌دهند. در تاریخچه بیمار اغلب دوره‌هایی از ضعف و بی‌حالی، استفراغ و بی‌اشتهایی وجود دارد که به صورت خود به خودی یا بعد از درمان حمایتی با مایعات و کورتون‌ها برطرف می‌شوند. این شکل از بیماری چهره کلاسیک یا مزمن کم‌کاری آدرنال است. لرزش‌های عضلانی، خونریزی روده و معده و هیپوگلیسمی شدید از جمله سایر علائم بالینی کم‌کاری آدرنال هستند. بعضی بیماران وضعیت اورژانسی داشته و کلاپس کامل، نبض ضعیف، دهیدراسیون، شوک، هیپوترمی و برادی‌کاردی شدید را نشان می‌دهند. این شکل بیماری تحت عنوان بحران آدیسونی (Addisonian crisis) نامیده می‌شود. ترکیب متناقض برادی‌کاردی و شوک بایستی شک به کم‌کاری آدرنال را برانگیزد. در صورت عدم درمان، بیمار در اثر اختلالات قلبی یا کلیوی از بین می‌رود. در سگ‌های مبتلا به فرم اولیه آدیسون هر دو گروه علائم بالینی ناشی از کمبود گلوکوکورتیکوئیدها و مینرالوکورتیکوئیدها دیده می‌شود اما در آدیسون ثانویه، ایاتروژنیک و درصد کمی از سگ‌های مبتلا به آدیسون اولیه تنها کمبود گلوکوکورتیکوئیدها وجود دارد و در این‌ها علائم بالینی مبهمی از قبیل بی‌حالی، ضعف، استفراغ و علائم گوارشی دیده می‌شود.

یافته‌های آزمایشگاهی مرتبط با آدیسون

یافته‌های خون شناسی: در بیماری آدیسون، تعداد گلبول‌های سفید به طور معمول بدون تغییر و طبیعی می‌باشد ولی در برخی موارد ائوزینوفیلی و لنفوسیتوز خفیف در پی کاهش ترشح گلوکوکورتیکوئیدها دیده می‌شود. عدم مشاهده تغییرات در تعداد گلبول‌های سفید خود می‌تواند نشانه‌ای از بیماری آدیسون باشد. زیرا در یک سگ بیمار انتظار می‌رود که به دلیل افزایش کورتیزول لوکوگرام استرس به صورت نوتروفیلی، لنفوپنی، ائوزینوپنی و مونوسیتوز رخ دهد و عدم مشاهده آن‌ها می‌تواند حاکی از ناتوانی کورتکس آدرنال در تولید کورتیزول باشد. در ۱۰ تا ۳۰ درصد مبتلایان به آدیسون کم‌خونی خفیف و غیر جبرانی دیده می‌شود و در برخی دیگر هماتوکریت در حداقل میزان طبیعی است که به دنبال مایع درمانی وارد محدوده کم۴خونی خواهد شد. کم‌خونی به دلیل فقدان تحریک استروئیدی بر روی مغز استخوان و خون‌ریزی‌های گوارشی ایجاد می‌شود. برعکس در تعدادی از دام‌های مبتلا به آدیسون به دلیل افزایش دفع ادرار و کاهش آب بدن، افزایش هماتوکریت تا ۷۰ درصد (پلی‌سیتمی کاذب) مشاهده می‌شود. تغییرات تابلوی خونی به طور عمده در پی کاهش گلوکوکورتیکوئید ها رخ می‌دهند و به نظر می‌رسد که مینرالوکورتیکوئیدها اثری روی تابلوی خونی در دام کوچک ندارند.

یافته‌های بیوشیمیایی: نتایج بیوشیمیایی بسته به اولیه یا ثانویه بودن آدیسون متفاوت خواهد بود. هیپرکالمی (افزایش پتاسیم خون) و هیپوناترمی (کاهش سدیم خون) تغییرات کلاسیک نوع اولیه آدیسون هستند که به دلیل کمبود آلدسترون رخ می‌دهند. نسبت سدیم به پتاسیم کمتر از ۲۳ یافته مهمی است که در بیش از ۹۵ درصد سگ‌های مبتلا به آدیسون اولیه مشاهده می‌شود. در صورتی‌که این نسبت کمتر از ۱۵ باشد احتمال وجود بیماری آدیسون بسیار زیاد است. در دام‌های مبتلا به آدیسون ثانویه و ایاتروژنیک و درصد کمی از مبتلایان به آدیسون اولیه کمبود آلدسترون و بنابراین تغییرات الکترولیت‌های خون وجود ندارد. در مجموع حدود

۳۰ درصد سگ‌های مبتلا به آدیسون تغییرات الکترولیت‌های خون را نشان نمی‌دهند. هیپوکلرمی (کاهش کلر خون) نیز در بسیاری از دام‌ها وجود دارد. ازوتمی (افزایش اوره و کراتینین خون) و افزایش فسفر خون در ۹۵-۹۰ درصد مبتلایان وجود دارد که به دلیل پرادرای و کم آبی بدن رخ می دهد که خود ناشی از کمبود آلدسترون است. ازوتمی همراه با افزایش فسفر خون در بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی نیز مشاهده می‌شود. به علاوه همانند بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی، کاهش وزن مخصوص ادرار (کمتر از ۱/۰۳۰) در حدود ۶۰ درصد از دام‌های مبتلا به آدیسون نیز وجود دارد. بنابراین تمایز بیماری آدیسون از نارسایی کلیوی بسیار ضروری است. با توجه به چند نکته می‌توان تشخیص داد که ازوتمی ناشی از نارسایی کلیوی است یا ازوتمی پیش کلیوی ناشی از بیماری آدیسون است. در صورتی‌که نسبت ازت اوره خون (Blood Urea Nitrogen, BUN) به کراتینین بیشتر از ۲۵ باشد احتمال ازتمی پیش کلیوی ناشی از آدیسون بیشتر است. همچنین در صورتی‌که ظرف چند ساعت تا یک روز بعد از مایع درمانی سطح اوره و کراتینین خون طبیعی شود احتمالا ازوتمی پیش کلیوی است. افزایش ملایم تا متوسط کلسیم خون (هیپرکلسمی) در حدود یک سوم سگ‌های مبتلا به آدیسون وجود دارد که به دلایلی از قبیل افزایش جذب گوارشی، بازجذب کلیوی و آزادسازی کلسیم از استخوان ها رخ می‌دهد. در صورتی‌که در یک دام بیمار همراه با ازوتمی و کاهش نسبت سدیم به پتاسیم خون، هیپرکلسمی نیز وجود داشته باشد شانس وجود بیماری آدیسون بیشتر از نارسایی کلیوی خواهد بود. کاهش گلوکز خون به دلیل کمبود گلوکوکورتیکوئیدها در ۳۰-۱۰ درصد سگ‌های مبتلا دیده می‌شود. در برخی مبتلایان افزایش آلبومین خون (ناشی از کم آبی بدن) و در برخی دیگر کاهش آلبومین خون (به دلیل عواملی از قبیل خونریزی گوارشی و اختلالات روده‌ای) وجود دارد. به دلایل ناشناخته‌ای افزایش ملایم تا متوسط آنزیم‌های کبدی در ۵۰-۳۰ درصد سگ‌های آدیسونی دیده می‌شود که به دنبال درمان بیماری برطرف خواهند شد. افزایش دفع ادراری هیدروژن به دلیل کمبود آلدسترون موجب اسیدوز متابولیک در دام خواهد شد. علاوه براین کاهش پرفیوژن بافتی ناشی از کم آبی بدن نیز در ایجاد اسیدوز متابولیک دخالت دارد. جدول ۳ یافته‌های بیوشیمیایی و خونی مرتبط با بیماری آدیسون را در دام‌های کوچک نشان می‌دهد.

یافته آزمایشگاهی	درصد مشاهده در دام‌های مبتلا	علت بروز
کاهش سدیم خون	۸۰-۶۰	کاهش آلدسترون
افزایش پتاسیم خون	۹۵	کاهش آلدسترون
نسبت سدیم به پتاسیم (کمتر از ۲۳ به ۱)	۹۵	کاهش آلدسترون
کاهش کلر خون	۷۵-۵۰	کاهش آلدسترون
افزایش فسفر خون	۹۰	کم آبی
افزایش کلسیم خون	۳۳	ناشناخته
کاهش کلسیم خون	۱۰	کاهش غلظت آلبومین در خون
ازوتمی	۹۵-۹۰	کم آبی در بدن
کاهش گلوکز خون	۳۰-۲۰	کاهش گلوکوکورتیکوئیدها
افزایش آلبومین خون	۵۰	کم آبی در بدن
کاهش آلبومین خون	۱۰	ناشناخته
وزن مخصوص ادرار کمتر از ۱/۰۳۰	۶۰	هیپوناترمی مزمن
عدم مشاهده لوکوگرام استرس	۹۰	کاهش گلوکوکورتیکوئیدها
کم‌خونی	۳۰-۱۰	کاهش گلوکوکورتیکوئیدها، خون‌ریزی
پلی‌سیتمی	-	کم آبی در بدن

جدول ۳. یافته‌های بیوشیمیایی و تابلوی خونی مرتبط با بیماری آدیسون در دام‌های کوچک

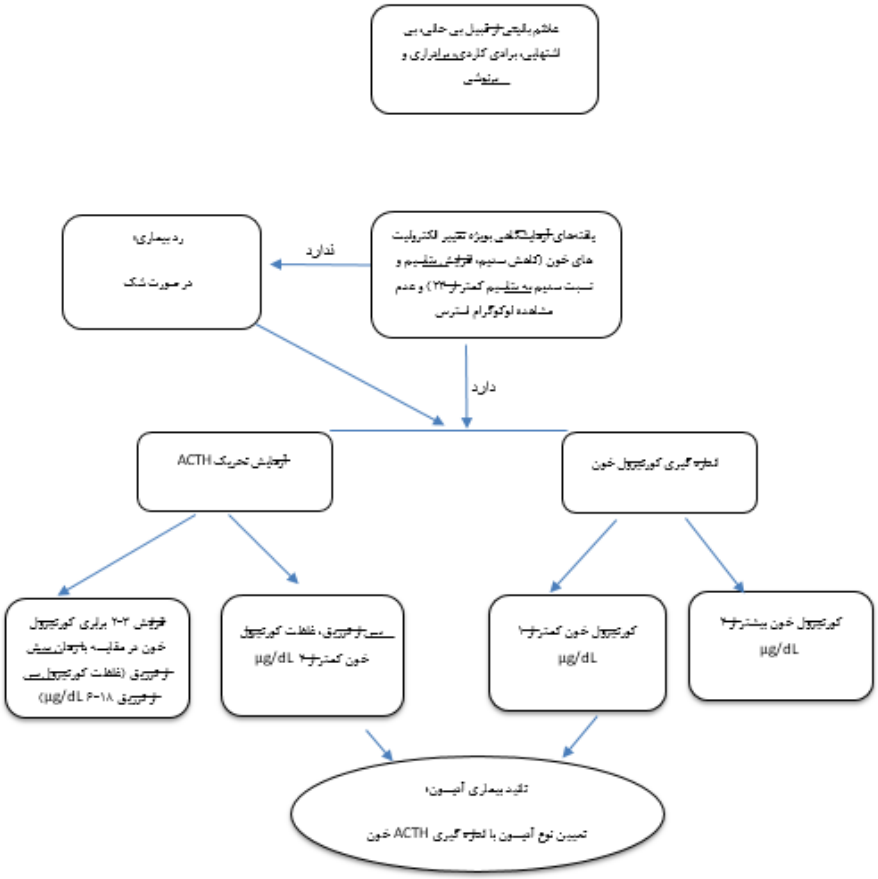
آزمایش‌های مورد استفاده برای تائید بیماری آدیسون: در صورتی‌که با توجه به تاریخچه، علائم بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی از قبیل کاهش نسبت سدیم به پتاسیم خون بیماری آدیسون مورد ظن قرار گیرد بایستی در مرحله بعد با انجام آزمایش‌های اندازه‌گیری کورتیزول خون و تحریک ACTH اقدام به تشخیص یا رد بیماری نمود. علاوه بر این دو، روش‌های آزمایشگاهی دیگری نیز برای تشخیص این بیماری طراحی شده‌اند که در ادامه به صورت مجزا مورد بررسی قرار می‌گیرند.

اندازه‌گیری کورتیزول خون: اندازه‌گیری کورتیوزل خون ابتدایی‌ترین آزمایش است که برای تشخیص آدیسون به کار می‌رود. سطح کورتیزول خون در هر دو شکل اولیه و ثانویه آدیسون کاهش می‌یابد. اگر در یک سگ غلظت کورتیزول خون بیشتر از ۲ میکروگرم در دسی‌لیتر باشد بیماری آدیسون کنار گذاشته می‌شود. درصورتی‌که غلظت کورتیزول خون کمتر از ۱ میکروگرم در دسی‌لیتر باشد به احتمال بالای ۹۸ درصد بیماری آدیسون وجود دارد. مقادیر بین ۱ تا ۲ میکروگرم در دسی‌لیتر ناحیه خاکستری است که نه می‌توان بیماری آدیسون را رد و نه می‌توان تائید نمود. در این مواقع باید با آزمایش تحریک ACTH وجود یا عدم وجود بیماری را مشخص نمود. میزان کورتیزول خون در حدود ۲۲ درصد سگ‌های مبتلا به آدیسون در ناحیه خاکستری قرار دارد که بایستی با انجام آزمایش تحریک ACTH وجود بیماری را تائید نمود. همان‌گونه که ذکر شد کاهش کورتیزول خون در هر دو شکل اولیه و ثانویه آدیسون رخ می‌دهد. در آدیسون ایاتروژنیک (ناشی از قطع ناگهانی کورتون درمانی) بسته به نوع کورتون تجویز شده سطح کورتیزول خون متفاوت خواهد بود. اگر استروئید تجویز شده با کورتیزول خون واکنش متقاطع نشان دهد (مانند هیدروکورتیزون، پردنیزون و پردنیزولون) ممکن است افزایش غلظت کورتیزول خون مشاهده شود. اما اگر کورتون درمانی با دگزامتازون صورت گرفته باشد که با کورتیزول واکنش متقاطع ندارد، غلظت کورتیزول خون کاهش یافته خواهد. برای این‌که بتوان تفسیر بهتری از نتایج کورتیزول خون داشت و از اثرات تداخلی سایر کورتیکواستروئیدها اجتناب نمود، ضروری است که مصرف کورتیکواستروئیدها حداقل ۲۴ تا ۴۸ ساعت قبل از اندازه‌گیری غلظت کورتیزول خون متوقف شود. در صورتی‌که نیاز حیاتی به مصرف استروئید ها وجود دارد، دگزامتازون به خاطر عدم واکنش متقاطع با کورتیزول گزینه مناسب‌تری است.

آزمایش تحریک ACTH: بهترین و قابل اعتمادترین روش آزمایشگاهی برای تشخیص بیماری آدیسون روش غربال‌گری تحریک ACTH است. پروتکل انجام آزمایش در بخش کوشینگ شرح داده شده است. در پی تزریق ACTH به سگ‌های سالم میزان کورتیزول خون افزایش ۳-۲ برابری را در مقایسه با زمان پیش از تزریق نشان خواهد داد و غلظت آن به رقمی بین ۱۸-۶ میکروگرم بر دسی‌لیتر می‌رسد ولی در سگ‌های مبتلا به فرم‌های اولیه، ثانویه و ایاتروژنیک آدیسون افزایش غلظت کورتیزول پس از تزریق ACTH بسیار کمتر بوده و غلظت کورتیزول خون کمتر از ۲ میکروگرم در دسی‌لیتر باقی می‌ماند. در گربه نیز اگر غلظت کورتیزول خون قبل و بعد از تزریق ACTH کمتر از ۲ میکروگرم بر دسی‌لیتر باشد بیماری آدیسون تایید می‌شود. اگر نسبت سدیم به پتاسیم کاهش یافته و سایر یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی هم تایید کننده حضور بیماری آدیسون در دام باشند، در آن صورت غلظت کورتیزول پایه کمتر از ۱ میکروگرم در دسی‌لیتر نشان دهنده فرم اولیه بیماری است و نیازی به انجام آزمایش تحریک ACTH نیست اما در مواردی که نسبت سدیم به پتاسیم طبیعی است، برای تائید وجود یا عدم وجود بیماری باید از روش تحریک ACTH استفاده کرد. در فرم ثانویه بیماری (ناشی از ضایعات و تومورهای غده هیپوفیز) علی‌رغم این که غلظت کورتیزول پایه در بدن دام کاهش می‌یابد، علائم بالینی و یافته‌های بیوشیمیایی اختصاصی نبوده و نمی‌توان تنها بر پایه کاهش کورتیزول خون بیماری آدیسون را تشخیص داد و انجام آزمایش تحریک ACTH جهت قضاوت در مورد بیماری ضروری است.

دستورالعمل‌های متعددی برای روش تحریک ACTH ذکر شده است که همه آن‌ها به درستی قابل اجرا هستند ولی

نکته قابل توجه این است که استفاده از دوزهای پایین از نظر اقتصادی مناسب‌تر است و هزینه‌ها را تا حدود بسیار زیادی کاهش می‌دهد. به علاوه مطالعات جدید نشان می‌دهند که هر گونه دوزی بالاتر از ۵ میکروگرم ACTH سنتتیک به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دام توانایی تحریک غدد فوق کلیه برای ترشح کورتیزول در حدود زمان ۶۰ دقیقه پس از تجویز را دارد، لذا دوزهای بالاتر به طور عملی تفاوتی در عملکرد نخواهند داشت. اگر به هر دلیلی نیاز به تکرار آزمایش وجود دارد می‌توان آزمون تحریک ACTH را بعد از ۲۴ ساعت دوباره تکرار کرد. شکل ۴ روند تشخیص بیماری را به صورت خلاصه نشان می‌دهد.



شکل ۴. روند تشخیصی بیماری آدیسون در دام‌های کوچک

سایر روش‌های تشخیص بیماری آدیسون: در آزمایش تورن (Thorn test) و آزمایش تورن اصلاح شده (Modified thorn test) به جای اندازه‌گیری مستقیم کورتیزول خون بعد از تزریق ACTH، تغییر غلظت کورتیزول به صورت غیر مستقیم از طریق تغییر تعداد ائوزینوفیل‌ها (آزمایش تورن) یا تغییر نسبت نوتروفیل به لنفوسیت (آزمایش تورن اصلاح شده) بررسی می‌گردد. در یک سگ سالم به دنبال تزریق ACTH غلظت کورتیزول خون افزایش یافته و افزایش کورتیزول موجب کاهش تعداد ائوزینوفیل‌ها و افزایش نسبت نوتروفیل به لنفوسیت خواهد شد. عدم مشاهده تغییرات فوق در یک سگ نشان دهنده کم‌کاری آدرنال می‌باشد. امروزه با توجه با آسانی و در دسترس بودن اندازه‌گیری کورتیزول خون این دو آزمایش منسوخ شده و کاربردی ندارند. نسبت آلدسترون به رنین و نسبت کورتیزول به ACTH روش‌های دیگری هستند که به صورت موردی و تحقیقاتی برای تشخیص بیماری آدیسون در سگ‌ها به کار رفته‌اند و محققان

اعلام کرده‌اند که این روش‌ها می‌توانند در تفریق بین فرم‌های مختلف بیماری کمک کننده باشند ولی اطلاعات زیادی در خصوص صحت این ادعاها وجود ندارد.

آزمایش‌های مورد استفاده برای تعیین نوع بیماری آدیسون: اندازه‌گیری کورتیزول خون و آزمایش تحریک ACTH برای تشخیص بیماری آدیسون به کار می‌روند اما قادر به تعیین اولیه یا ثانویه بودن آدیسون نیستند. اندازه‌گیری ACTH خون یک آزمایش ساده برای تمایز این دو است. سگ‌های مبتلا به نوع اولیه آدیسون افزایش ACTH (معمولا بین ۴۰ تا ۱۲۵۰ پیکومول در لیتر) و سگ‌های مبتلا به فرم ثانویه کاهش ACTH خون (معمولا ۲-۱ پیکومول در لیتر) را نشان می‌دهند. در فرم اولیه بیماری که ضایعه در غدد فوق کلیه وجود دارد، به دلیل برداشته شدن فیدبک منفی کورتیزول بر روی هیپوفیز میزان تولید ACTH توسط این غده افزایش می‌یابد. اما در فرم ثانویه به دلیل وجود ضایعه در هیپوفیز تولید ACTH مختل شده که متعاقبا موجب آتروفی کورتکس فوق کلیه و کاهش تولید کورتیزول گردیده است. در آدیسون ایاتروژنیک غلظت ACTH خون کمتر از ۲ پیکومول در لیتر خواهد بود. از آنجایی‌که تغییرات الکترولیت‌های خون تنها در فرم اولیه آدیسون رخ می‌دهند، در صورتی‌که نسبت سدیم به پتاسیم کمتر از ۲۳ باشد و نتایج آزمایش‌های کورتیزول خون و یا تحریک ACTH نشان دهنده بیماری آدیسون هستند، می‌توان فرم اولیه بیماری را تشخیص داد و نیازی به اندازه‌گیری ACTH خون نیست.

روندهای درمانی برای بیماری‌های غدد فوق کلیه در دام‌های کوچک

نکته مهم در درمان بیماری‌های غدد فوق کلیه تشخیص دقیق و زود هنگام بیماری در مراحل اولیه است که همین امر اهمیت روش‌های آزمایشگاهی تشخیص بیماری‌های غدد فوق کلیه را پررنگ‌تر می‌کند. به طور کلی پس از تشخیص بیماری و تعیین فرم‌های مختلف آن در دام‌های کوچک، روندهای درمانی به سادگی قابل اجرا می‌باشد. روند درمانی در بیماری‌هایی که با کاهش فعالیت غدد فوق کلیه همراه هستند نظیر بیماری آدیسون، تحریک غدد فوق کلیه برای فعالیت بیشتر و ترشح استروئیدها از طریق تجویز هورمون ACTH و یا تجویز مستقیم استروئیدها به بدن دام می‌باشد و در موارد پرکاری غدد فوق کلیه، در صورت حضور تومور در این غدد درمان جراحی توصیه می‌شود ولی روند های درمانی در موارد وجود تومور در غده هیپوفیز بسیار دشوار است و در بسیاری از موارد پیشرفته حضور این تومورها منجر به مرگ دام می‌شود. در موارد کم کاری و یا پر کاری لایه زونا رتیکولاریس، تجویز هورمون‌های جنسی مختلف مفید است و در بیماری‌های مرتبط با بخش داخلی این غدد، تجویز اپی‌نفرین و سایر داروهای مشابه مفید می‌باشد.

منابع

1. Latimer KS. *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology*, 5th ed. John Wiley & Sons; 2011.
2. Meij BP, Mol JA, 2008, Adrenocortical Function. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, editors. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th ed. San Diego, USA:Academic Press; 2008. p. 605-622.
3. O'neill DG, Scudder C, Faire JM, et al. *Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210,824 dogs attending primary-care veterinary practices in the UK from 2009 to 2014*. J Small Anim Pract 2016; 57(7):365-373.
4. Peterson ME, Ward CR. Etiopathologic findings of hyperthyroidism in cats. *J Small Anim Pract* 2007; 37(4):633-645.
5. Stockham SL, Scoth MA. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*, 2nd ed. Iowa, USA: Blackwell Publlshing; 2008.
6. Thrall MA, Allison R, Weiser G, Campbell T. *Veterinary hematology and clinical chemistry*, 2nd ed. 2012. p. 497-453
7. Villiers E, Ristic J. *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. 3rd ed. British Small Animal Veterinary Association; 2016.

Abstracts in English

Adrenal glands: diseases and laboratory diagnostic methods in small animals

Samin Madreseh Ghahfarokhi[1], Mohammad Heidarpour[2*]

1. Resident of Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

2. Assoc. Prof. Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

*heidarpour@um.ac.ir

The adrenal glands are important organs in the body of small animals, which disruptions associated with their performance due to lack of timely detection in most cases, result in irreparable damage or death of the animal. The tissue structure of these glands is unique and the cortical and internal parts of these glands are responsible for secreting important hormones in the animal's body. In general, important functional diseases among adrenal gland diseases in small animals can be classified into two categories. The first category is the diseases caused by excessive proliferation and excessive growth of the adrenal gland, called hyperadrenocorticism, or cushing's syndrome/disease, and other diseases caused by low activity of adrenal glands that are known as Hypoadrenocorticism or Addison's syndrome/disease. Hyperadrenocorticism is primarily a disease of old dogs and ferrets, but it also occurs rarely in cats. Polyuria and polydipsia, lethargy, pot-belly and alopecia, are among the most frequent clinical signs. A stress leukogram (leukocytosis, mature neutrophilia, lymphopenia, eosinopenia, and monocytosis), increased alkaline phosphatase (ALP) and urine specific gravity <1.020 are good indicators of suspicion to Cushing's disease. Increased urine cortisol: creatinine ratio (UCCR) in a dog that has classical signs and lab data of Cushing's is very suggestive of hyperadrenocorticism. If the history, clinical signs, and routine laboratory data are suggestive for hyperadrenocorticism then the diagnosis at this stage is a two-step process: first rule in or rule out hyperadrenocorticism with screening tests [Low Dose Dexamethasome Suppression Test (LDDST) and ACTH stimulation test] and then try to differentiate pituitary and adrenal dependent hyperadrenocorticism with confirmatory tests [blood ACTH concentration and High Dose Dexamethasome Suppression Test (HDDST)]. Addison's disease usually occurs in young to middle aged (3–6 years) dogs. Lethargy, weakness, vomiting, diarrhea, abdominal pain, anorexia, bradycardia, microcardia, decreased blood pressure, polyuria and polydipsia are the most constant clinical signs of the disease. Laboratory findings including azotemia, decreased urine specific gravity, absence of a stress leukogram and especially a Na: K ratio <23:1 are the key abnormalities to indicate primary hypoadrenocortisim. In such cases, blood cortisol concentration and ACTH stimulation test could be used for diagnosis of Addison's disease. To differentiate pituitary and adrenal dependent hypoadrenocorticism, the concentration of blood ACTH should be measured.

Key words: Addison's disease, Cushing's disease, Laboratory findings, Diagnosis

التیام، دوره ۵، شماره ۱: ۹۳-۸۶، ۱۳۹۷ Eltiam, 5 (1): 86-93, 2018

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

بیومارکرهای تشخیص آسیب عضلات اسکلتی و میوکارد در دام‌های کوچک

مائده قاری[۱]، مهدیه زعیمی*[۲]

۱. رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استادیار کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

*zaeemi@um.ac.ir

چکیده

آسیب‌های عضلانی در دام‌های کوچک می‌تواند به دو صورت ارثی و یا اکتسابی و با واسطه عوامل مختلفی نظیر عوامل عفونی، داروها، توکسین‌ها، سیستم ایمنی، اختلالات اندوکرین و متابولیک بروز یابد. انجام تست‌های هماتولوژی، بیوشیمیایی، ایمنولوژی، مولکولی، پاتولوژی و غیره جهت تشخیص و مانیتورینگ این بیماری‌ها پیشنهاد می‌گردد. از جمله تست‌های بیوشیمیایی می‌توان به اندازه‌گیری فعالیت سرمی آنزیم‌های آسپارتات آمینوترنسفراز، لاکتات دهیدروژناز، کراتینین کیناز و غلظت سرمی لاکتات، میوگلوبین، تروپونین‌ها، ناتریورتیک پپتیدها و غیره اشاره نمود. هدف از مطالعه حاضر، معرفی بیومارکرهایی است که امروزه در تشخیص آسیب عضلات اسکلتی و میوکارد در دام‌های کوچک مورد استفاده قرار می‌گیرد و همچنین اطلاعاتی در ارتباط با ساختار، عملکرد، متابولیسم، مقادیر مرجع و کاربرد این بیومارکرها ارائه می‌شود تا با انتخاب مناسب بیومارکر درک بهتری از وضعیت سلامت عضلات اسکلتی و میوکارد حاصل گردد.

واژه‌های کلیدی: میوکارد، عضلات اسکلتی، ناتریورتریک پپتیدها، تروپونین

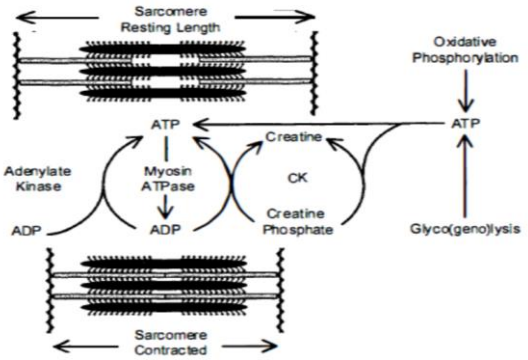
مقدمه

بیماری‌های عضلانی که با دژنراسیون، نکروز و یا التهاب همراه با دژنراسیون/ نکروز مشخص می‌شوند، با روش‌های بیوشیمی بالینی تشخیص داده می‌شوند. ویژگی مشترک این شرایط، اختلال در غشاهای سلول‌های عضلانی و انتشار آنزیم‌ها و محتویات سیتوپلاسمی آن‌ها به خون و لنف است. لازم به ذکر است آتروفی عضلانی و شرایط نئوپلاستیک که با اختلالات غشای سلولی همراه نیست و معمولا تغییری در آزمایش‌های بیوشیمی بالینی ایجاد نمی‌کنند.

کراتین کیناز (CK)

آنزیم CK برای تولید انرژی عضلات بسیار مهم است. این آنزیم با انتقال یک پیوند فسفات با انرژی بالا از کراتین فسفات به آدنوزین دی‌فسفات (ADP)، باعث تولید آدنوزین تری‌فسفات (ATP) لازم برای انقباض عضله می‌شود و همچنین واکنش معکوس آن‌را هنگام استراحت عضلات کاتالیز می‌کند (شکل ۱). سلول‌های عضله حاوی هشت برابر کراتین فسفات بیشتر نسبت به ATP هستند، در نتیجه یک

منبع غنی از پیوندهای پر انرژی فسفات برای انقباض هستند. کراتینین کیناز یک آنزیم سیتوزولی است که بیشترین فعالیت را در عضله اسکلتی، عضله قلب و مغز دارد و در کبد دارای فعالیت ناچیزی است. کراتینین کیناز برای عضلات یک آنزیم اختصاصی است زیرا اکثر فعالیت سرمی آن مربوط به عضلات است. اما به علت نیمه عمر پایین این آنزیم، حساسیت آن پایین است.



شکل ۱. نقش کراتینین کیناز در انقباض عضلات، انرژی لازم برای انقباض عضلات از هیدرولیز ATP در حضور آنزیم ATPآز تولید می‌شود. آنزیم کراتینین کیناز وظیفه فسفریلاسیون ADP به ATP را برعهده دارد هم‌زمان با این تغییر یک مولکول کراتین فسفات به کراتین تبدیل می‌شود.

آنزیم CK دارای دو زیر واحد B برای مغز و M برای عضله است. بر این اساس سه نوع اصلی ایزوآنزیم شامل CK-BB (CK1)، CK-MB (CK2) و CK-MM (CK3) وجود دارد که می‌توان آن‌ها را از طریق الکتروفورز جدا کرد. همچنین برای این منظور می‌توان از روش‌های خاص ایمونولوژیک یا کروماتوگرافی (Ion exchange chromatography) استفاده کرد. ایزوآنزیم CK-BB در مغز، اعصاب محیطی و مایع مغزی نخاعی دیده می‌شود. ایزوآنزیم CK-MB در عضله قلبی و به میزان نسبتا کم در بافت‌های دیگر وجود دارد. ایزوآنزیم CK-MM در هر دو عضله اسکلتی و قلبی وجود دارد. فعالیت CK در سرم عمدتا CK-MM است، به دنبال آن CK-BB و مقدار بسیار کمتری CK-MB است. فعالیت سرمی CK در سگ‌های سالم بسته به سن و نژاد متفاوت است و میزان آن با افزایش سن کاهش می‌یابد. توله‌ها می‌توانند CK بسیار بیشتری نسبت به سگ‌های بالغ داشته باشند. نژادهای کوچک فعالیت سرمی بالاتری دارند. نیمه عمر CK پلاسما کوتاه است (کمتر از سه ساعت در سگ). اندازه‌گیری CK باید سریعا صورت بگیرد و در صورت تاخیر در اندازه‌گیری این آنزیم ممکن است فعالیت آن کاهش یابد. اگر زمان اخذ نمونه تا اندازه‌گیری آن طولانی است، باید نمونه سرم یا پلاسما فریز شوند (۲۰°C-). لازم به ذکر است که به دلیل آزادسازی CK از پلاکت‌ها در زمان تشکیل لخته، میزان فعالیت این آنزیم سرم بالاتر از میزان آن در پلاسما است. تزریق داخل عضلانی نیز می‌تواند فعالیت CK سرم را افزایش دهد و یا برخی داروها (مانند کتامین) می‌توانند به مدت یک هفته افزایش قابل توجهی در فعالیت این آنزیم ایجاد کنند. آسیب‌های تروماتیک عروق، حتی در صورت عدم وجود همولیز، می‌تواند فعالیت سرمی CK را افزایش دهد. فعالیت بدنی شدید در سگ‌ها باعث افزایش فعالیت سرمی CK و LDH می‌شود. پس از تمرین سبک، به ندرت بیش از سه برابر افزایش می‌یابد. حمل و نقل حیوانات ممکن است سبب افزایش فعالیت CK سرم شود. در جدول۱، به طور خلاصه به برخی از عوامل افزایش فعالیت سرمی CK اشاره شده است.

آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)

آنزیم AST قبلا تحت عنوان گلوتامیک اگزالواستات ترانس آمیناز (SGOT) نامیده می‌شد. این آنزیم باعث کاتالیز واکنش برگشت‌پذیر تبدیل L-آسپارتات و ۲-اگزالوگلوتارات به اگزالواستات و گلوتامات می‌شود و در نهایت اگزالواستات وارد چرخه کربس می‌شود. آنزیم AST دارای ایزوآنزیم‌های سیتوزولی و میتوکندریایی است و تقریبا در تمام سلول‌ها از جمله گلبول‌های قرمز وجود دارد. اگر چه فعالیت سرمی AST غیر اختصاصی است اما عضله و کبد منابع اصلی آن هستند و نیمه عمر پلاسمایی AST طولانی‌تر از نیمه عمر CK است. نیمه عمر پلاسمایی این آنزیم در سگ‌ها حدود ۱۲ ساعت و در گربه‌ها کمتر از ۱۲ ساعت می باشد. فعالیت AST در دمای اتاق، یخچال و فریزر نسبتا پایدار است. جدا کردن سرم یا پلاسما از سلول‌ها بلافاصله باید صورت گیرد زیرا همولیز می‌تواند منجر به افزایش کاذب فعالیت آن شود.

آلانین آمینوترانسفراز (ALT)

این آنزیم واکنش برگشت‌پذیر تبدیل L-آلانین و ۲-اگزوگلوتارات به پیروات وگلوتامات را کاتالیز می‌کند. گلوتامات می‌تواند برای گلوکونئوژنز استفاده شود و یا وارد چرخه کربس گردد. این آنزیم قبلا تحت عنوان گلوتامیک پیرورویک ترانس آمیناز (SGPT) نامیده می‌شد. این آنزیم عمدتا یک آنزیم سیتوزولی در نظر گرفته می‌شود که در سگ و گربه اختصاصی کبد است با این حال، در بیماری‌های عضلانی مانند دیستروفی عضلانی مرتبط با کروموزوم X و یا میوپاتی‌های سمی نیز افزایش فعالیت آن گزارش شده است. نیمه عمر پلاسمایی ALT در سگ‌ها حدود دو و نیم روز در نظر گرفته می‌شود. این آنزیم در بیش‌تر گونه‌ها دارای نیمه عمر بیشتری نسبت به AST و یا CK می‌باشد.

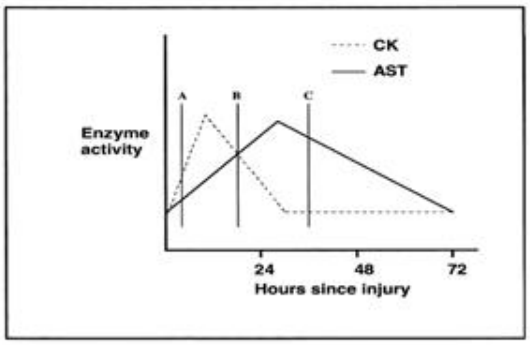
لاکتات دهیدروژناز (LDH)

لاکتات دهیدروژناز یک آنزیم سیتوزولی موجود در تمام سلول‌ها و بافت‌هایی است که واکنش برگشت‌پذیر تبدیل L-لاکتات به پیرووات را کاتالیز می‌کنند. عضله، کبد و اریتروسیت‌ها معمولا منابع فعالیت LDH بالا در سرم هستند. به دلیل اختصاصیت کمتر LDH و تحت تاثیر قرار گرفتن آن حتی در همولیزهای خفیف، این آنزیم در تعیین آسیب عضلانی نسبت به CK و AST از اهمیت کمتری برخوردار است. LDH یک آنزیم تترامری است که از دو زیر واحد H و M ساخته شده است که پنج ایزوآنزیم LDH1 (H4)، LDH2 (H3M1)، LDH3 (H2M2)، LDH4 (H1M3) و LDH5 (M4) را تشکیل می‌دهد. از طریق الکتروفورز می‌توان ایزوآنزیم‌های مختلف LDH را جدا کرد. ایزوآنزیم LDH1 (H4) نسبت به حرارت پایدار است و برخلاف سایر ایزوآنزیم های LDH اگر نمونه سرم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گیرد، غیر فعال نمی‌شود. به طور کلی، ایزوآنزیم‌هایی که دارای تعداد بیشتری تحت واحد H هستند مثل LDH1 و LDH2، نسبت به پیروات حساس بوده و اغلب در بافت‌های هوازی نظیر عضله قلب وجود دارند. در حالی‌که تحت واحد M تحت تاثیر پیروات قرار نمی‌گیرد و بیشتر در بافت های بی‌هوازی نظیر عضلات اسکلتی وجود دارند. ایزوآنزیم LDH1 (H4) ایزوآنزیم اصلی در عضله قلب و کلیه است و ایزوآنزیم LDH5 (M4) ایزوآنزیم اصلی در عضله اسکلتی و اریتروسیت‌ها است. در بسیاری از گونه‌ها از جمله سگ و گربه، کبد نیز حاوی ایزوآنزیم‌های LDH4 و LDH5 (H1M3 و M4) است. جهت اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم بلافاصله باید سرم یا پلاسما از سلول‌ها جدا شود، زیرا همولیز باعث افزایش کاذب فعالیت سرمی LDH می‌شود. این آنزیم در دمای فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) ناپایدار است و در دمای یخچال پایدارتر خواهد بود (۴ درجه سانتی‌گراد). نیمه عمر پلاسمایی ایزوآنزیم‌های LDH متفاوت است به طوری‌که LDH1 (H4) طولانی‌ترین و LDH5 (M4) کوتاه‌ترین نیمه عمر را دارند.

پانل‌های تشخیصی آنزیم‌های عضلانی

افزایش فعالیت سرمی CK، AST و LDH با آسیب‌های عضلانی دژنراتیو یا نکروز رخ می‌دهد. آنزیم CK حساس‌ترین آنزیم سرم برای تشخیص آسیب عضلانی اسکلتی است. فعالیت CK سرم در عرض چهار تا شش ساعت پس از آسیب عضلانی افزایش می‌یابد و در شش تا ۱۲ ساعت به حداکثر میزان خود می‌رسد. فعالیت CK سرم در عرض ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از رفع آسیب عضلانی به میزان پایه باز می‌گردد. افزایش پایدار فعالیت CK نشان دهنده آسیب عضلانی است. مقدار افزایش فعالیت سرمی CK عموما با میزان بافت عضلانی ارتباط دارد اما استثنائاتی نیز وجود دارد. فقط افزایش مشخص (به عنوان مثال، بیش از ۵۰۰۰ واحد در لیتر) و یا افزایش متوسط اما پایدار (به عنوان مثال، بیش از ۲۰۰۰ واحد در لیتر) از لحاظ بالینی حائز اهمیت است. البته به علت حجم کم توده عضلانی و فعالیت نسبتا کم این آنزیم در عضلات گربه، افزایش خفیف فعالیت سرمی CK در گربه‌ها باید مورد توجه قرار گیرد. لازم به ذکر است که بی‌اشتهایی در گربه‌ها نیز می‌تواند منجر به افزایش فعالیت سرمی CK شود. فعالیت AST سرم افزایش کمتری نسبت به فعالیت سرمی CK و

LDH متعاقب آسیب عضلانی دارد. افزایش فعالیت AST سرم ممکن است چند روز پس از رفع آسیب عضلانی همچنان باقی بماند. افزایش فعالیت سرمی LDH بعد از آسیب دیدگی عضلات نسبت به CK و AST کمتر دیده می‌شود و تشخیص آن به علت توزیع بافتی گسترده LDH، دشوارتر است. فعالیت سرمی دو آنزیم CK و AST در پی آسیب عضلانی افزایش می‌یابد و ارزیابی همزمان این دو آنزیم می‌تواند اطلاعات بیشتری در ارتباط با زمان رخداد آسیب در اختیار ما قرار دهد (شکل ۲). طبق نمودار زیر، افزایش آنزیم CK به تنهایی (نقطه A نمودار) نشان دهنده آسیب خیلی حاد و افزایش هر دو آنزیم (نقطه B نمودار) آسیب عضلانی فعال و یا آسیبی که اخیرا ایجاد شده را نشان می‌دهد. افزایش AST به تنهایی (نقطه C نمودار) نشان می‌دهد که آسیب عضلانی حداقل دو روز است که متوقف شده و فعالیت CK به دلیل نیمه عمر پایین آن به حالت نرمال برگشته است. البته لازم به ذکر است که افزایش آنزیم AST به تنهایی می‌تواند نشان دهنده آسیب کبدی نیز باشد.



شکل ۲. تغییرات فعالیت سرمی CK و AST در زمان‌های مختلف پس از بروز آسیب عضلانی

آلدولاز

آلدولاز، آلدولاز A نیز نامیده می‌شود، یک آنزیم سیتوزولی در عضله است که باعث شکسته شدن فروکتوز ۱ و ۶ بیس-فسفات برای تشکیل گلیسرالدهید ۳-فسفات و دی‌هیدروکسی استون فسفات و در نتیجه استفاده از انرژی فروکتوز می‌شود. آلدولاز برای بررسی اختلالات عضلانی اسکلتی مورد استفاده قرار می‌گیرد اما ایزوآنزیم‌های آن در چندین بافت دیگر از جمله کبد و قلب نیز وجود دارد. آلدولاز در مقایسه با CK برای تشخیص اختلالات عضلانی اسکلتی ارزش پایین‌تری دارد زیرا CK دارای حساسیت تشخیصی بالاتری است و همچنین اندازه‌گیری آن آسان‌تر است.

کربونیک انهیدراز III

کربونیک انهیدراز III یک متالوآنزیم حاوی روی است و اختصاصی بافت عضلانی است. برخلاف عضله قلب و عضلات صاف، به مقدار بالا در عضلات اسکلتی وجود دارد و از این رو به عنوان یک شاخص برای تشخیص رابدومیولیز در نظر گرفته می‌شود. افزایش و کاهش در غلظت این آنزیم بسیار سریع‌تر از کراتین کیناز رخ می‌دهد.

میوگلوبین

میوگلوبین یک هموپروتئین است که مسئول حمل و نقل و ذخیره اکسیژن در سلول‌های عضلات است و معمولا در سرم وجود ندارد. میوگلوبین یک شاخص اختصاصی و حساس برای نکروز عضلانی است و به سرعت از عضلات آزاد شده و بلافاصله وارد خون می‌شود. از آن‌جا که CK و AST ابتدا به لنف وارد می‌شوند در نتیجه تاخیر در افزایش فعالیت سرمی آن‌ها دیده می‌شود. میوگلوبین سرم سریعا پس از رفع آسیب عضلانی کاهش می‌یابد. میوگلوبین یک مونومر با وزن مولکولی پایین است که بر خلاف هموگلوبین به پروتئین‌های پلاسما باند نمی‌شود و به راحتی از سد گلومرولی عبور می‌کند و ممکن است پلاسما تغییر رنگ را نشان ندهد. میوگلوبین و هموگلوبین هر دو باعث واکنش مثبت خون مخفی در نوار های ادراری می‌شوند و رنگ ادرار بسته به غلظت و تخریب/ اکسیداسیون از صورتی تا قرمز و قهوه‌ای تغییر رنگ می‌دهد. میوگلوبین را می‌توان در سرم یا ادرار با استفاده از انواع روش‌های ایمنی (ایمنواسی) اندازه‌گیری کرد، اما به ندرت از آن‌ها در دامپزشکی استفاده می‌شود.

پتاسیم

یون‌های پتاسیم نقش مهمی را در پایداری غشای پلاریزه در سیستم عصبی و عضلات ایفا می‌کنند. مایع داخل سلولی حاوی پتاسیم بسیار بیش‌تری نسبت به مایع خارج سلولی

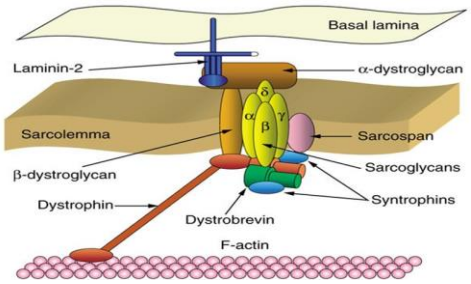
است. عضلات حاوی ۹۵ درصد پتاسیم بدن هستند. تخریب یا نکروز یک توده بزرگ عضلانی ممکن است پتاسیم را به اندازه‌ای در خون آزاد کند که منجر به هیپرکالمی شود. ارتباط بین هیپرکالمی و افزایش فعالیت آنزیم‌های سرمی عضله ممکن است ضعیف باشد. البته هیپرکالمی بیشتر با اختلالات اسید-باز و اختلال الکترولیت‌ها همراه است. پلی‌میوپاتی هیپوکالمیک ممکن است در گربه‌های مبتلا به نارسایی مزمن کلیه یا رژیم غذایی اسیدی دیده شود. هیپوکالمی و افزایش فعالیت سرمی CK در این موارد معمول هستند.

لاکتات

لاکتات یک محصول جانبی گلیکولیز بی‌هوازی است که عمدتا توسط عضله اسکلتی، گلبول‌های قرمز، مغز، پوست و مدولای کلیه تولید می‌شود. غلظت لاکتات خون، حاصل تعادل بین تولید لاکتات، متابولیسم آن در کبد (مورد استفاده برای گلوکونوژنز) و دفع ادراری آن است. افزایش لاکتات پلاسما به دو صورت ارثی و اکتسابی گزارش شده است. میوپاتی ارثی در سگ های نژاد لابرادور رتریور همراه با افزایش غلظت سرمی لاکتات می‌باشد. همچنین غلظت لاکتات سرم به طور قابل توجهی پس از ورزش در سگ‌های مبتلا به میوپاتی میتوکندریایی (Exercise-induced mitochondrial) و میوپاتی ناشی از ذخیره لیپید (Lipid storage myopathies) افزایش می‌یابد. برای اخذ نمونه جهت ارزیابی لاکتات، خون باید در لوله‌های حاوی فلوراید سدیم و اگزالات پتاسیم جمع‌آوری شود و حداکثر طی مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شود. فلوراید مانع از گلیکولیز بی‌هوازی و تولید لاکتات توسط گلبول‌های قرمز می‌شود. در صورتی‌که بیمار در حین نمونه‌گیری انقباض عضلانی (فعالیت عضلانی) داشته باشد یا در صورتی‌که رگ به مدت طولانی نگه داشته شود به طوری‌که باعث استاز وریدی و هیپوکسی موضعی شود، میزان لاکتات فزایش می‌یابد. همچنین غلظت لاکتات سرم می‌تواند پس از یک وعده غذایی نیز افزایش یابد.

دیستروفین

دیستروفین یک پروتئین سیتواسکلتال است که فیبرهای عضلانی را به ماتریکس خارج سلولی متصل می‌کند (شکل ۳).



شکل ۳. نمای شماتیک از محل قرارگیری دیستروفین در عضلات

به دنبال کمبود ارثی دیستروفین، بیماری دیستروفی عضلانی که وابسته به کروموزوم X است رخ می‌دهد. این بیماری با دژنراسیون و نکروز عضلانی همراه است و هیپرتروفی برخی ازعضلات و افزایش فعالیت آنزیم‌های سرمی عضلات نیز دیده می‌شود. برای مثال افزایش CK تا ۱۰ برابر می‌تواند رخ دهد. دیستروفین در عضله را می‌توان با استفاده از تکنیک‌های ایمونوسیتوشیمی یا ایمونوبلوتینگ مورد ارزیابی قرار داد. مواردی از بروز دیستروفی عضلانی سگ بدون کمبود دیستروفین گزارش شده است.

آنتی‌بادی گیرنده استیل کولین

میاستنی گراویس به دو فرم اکتسابی و مادرزادی وجود دارد و فرم اکتسابی آن شایع‌تر است. فرم اکتسابی این بیماری به دنبال تولید آنتی بادی‌های ضد گیرنده استیل‌کولین ایجاد می‌شود. می‌توان با روشهای ایمنولوژیک تیتر آنتی بادی را با حساسیت و ویژگی بالا بویژه در بیمارانی که دارای علائم بالینی استفراغ و مگاازوفاگوس غیر قابل توجیه و یا عدم تحمل ورزش هستند، تعیین نمود. لازم به ذکر است که آنتی‌بادی‌ها در میاستنی گراویس مادرزادی (غیر ایمنی) وجود ندارند.

تشخیص آسیب‌های میوکارد با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی

با استفاده از تعیین ایزوآنزیم‌های CK و LDH می‌توان آسیب

عضله اسکلتی و قلب را از هم تفکیک نمود. فعالیت‌های سرمی CK-MM و LDH5 (M4) متعاقب آسیب‌های عضلات اسکلتی و فعالیت سرمی CK-MB و LDH1 (H4) متعاقب آسیب عضله قلب افزایش بیشتری را نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که فعالیت سرمی LDH1 (H4) در بیماری‌های همولیتیک و نمونه‌های همولیز شده نیز افزایش می‌یابد. از آنجا که تعیین ایزوآنزیم‌های CK و LDH در دامپزشکی امکان‌پذیر نیست، لذا اندازه‌گیری تروپونین‌های قلبی از حساسیت و ویژگی بیشتری برای تشخیص آسیب عضله قلب برخوردارند.

تروپونین

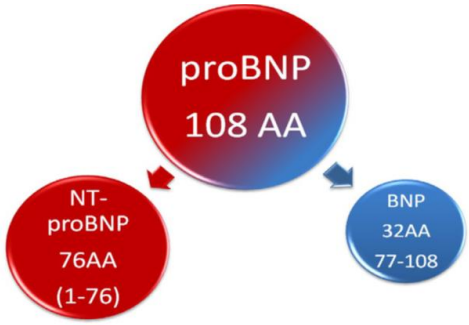
تروپونین‌ها پروتئین‌های کروی هستند که به تروپومیوزین متصل اند و به تعامل بین اکتین و میوزین در داخل میوفیبریل رشته‌های عضلانی کمک می‌کنند. سه پروتئین تروپونین یک کمپلکس تنظیمی را تشکیل می‌دهند که شامل تروپونین I، تروپونین T و تروپونین C می‌شود. تروپونین I و T ایزوفرم‌های قلبی هستند و بنابراین اندازه‌گیری آن‌ها جهت ارزیابی آسیب عضلانی قلب مفید توصیه می‌گردد. تروپونین I فقط در عضله قلبی حضور دارد در حالی‌که تروپونین T به مقدار کم در عضله اسکلتی هم وجود دارد. آسیب قلبی که باعث تخریب میوسیت‌ها و پارگی غشا می‌شود باعث می شود که تروپونین به مقدار زیاد وارد خون شود. این روند با ترشح آهسته و پیوسته تروپونین‌های باند شده ادامه می‌یابد. اندازه‌گیری تروپونین های قلبی با استفاده از روش‌های ایمنولوژیک امکان‌پذیر می‌باشد و امروزه اندازه‌گیری تروپونین I وT به طور گسترده‌ای جایگزین CK-MB در تشخیص آسیب‌های عضله قلب شده است. از آنجا که در طی روند تکامل ساختار تروپونین در بین گونه‌های مختلف دستخوش تغییرات زیادی نشده است لذا می‌توان به راحتی از کیت‌های انسانی در تشخیص آسیب‌های عضلانی قلب در بسیاری از گونه‌های دامی از جمله سگ و گربه استفاده کرد. غلظت سرمی تروپونین قلب در حالت سلامت معمولا بسیار کم است به طوری‌که غلظت سرمی آن در سگ‌ها کمتر از ۰/۰۳ تا ۰/۰۷ و در گربه کمتر از ۰/۰۳ تا ۰/۱۶ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. افزایش تروپونین I سرم چند ساعت (۴ تا ۶ ساعت) پس از آسیب عضلانی قلب قابل تشخیص است و غلظت سرمی آن در ۱۰ تا ۱۶ ساعت بعد از آسیب به حداکثر مقدار می‌رسد. تروپونین‌های قلبی دارای نیمه عمر کوتاه (چند ساعت) هستند بنابراین سطح سرمی آن‌ها پس از رفع آسیب به سرعت طی یک یا دو روز کاهش می‌یابد. مطالعات نشان داده است که افزایش سطح تروپونین سرمی با میزان آسیب عضله قلب متناسب است و می تواند به خوبی در تعیین پروگنوز بیماری کمک کند.

اگر چه تروپونین قلبی شاخص بسیار حساسی برای اسیب عضله قلب است اما امکان تشخیص نوع آسیب را مشخص نمی‌کند و از این لحاظ از ویژگی پایینی برخوردار است. البته اخیرا حساسیت و ویژگی این تست در تشخیص بیماری های قلبی در دام های کوچک به ترتیب برابر با ۹۷٪ و ۹۵٪ اعلام شده است. مطالعات متعدد نشان داده است که غلظت سرمی cTnI در سگ‌های مبتلا به بیماری‌های قلبی مانند بیماری‌های دریچه میترال، کاردیومیوپاتی انقباضی و آسیب حاد میوکارد به دنبال چرخش و اتساع معده و آسیب قفسه سینه در مقایسه با سگ‌های سالم افزایش می یابد. غلظت cTnI همچنین در موارد نارسایی کلیوی، رابدومیولیز (Rhabdomyolysis)، فعالیت شدید بدنی، بیماری‌های سیستمیک غیر قلبی و تنگی نفس غیر مرتبط با قلب نیز افزایش می‌یابد. به تازگی نشان داده شده که سگ‌های نژاد گری‌هوند، غلظت cTnI بالاتری نسبت به سایر گونه‌ها دارند.

ناتریورتیک پپتیدها

انواع مختلفی از ناتریورتیک پپتیدها وجود دارد اما از میان آن‌ها دو ناتریورتیک پپتید دهلیزی (Atrial natriuretic peptides) (ANP) و مغزی (Brain natriuretic peptides) (BNP) به عنوان نشانگرهای عملکرد عضلانی قلب مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. پپتید ANP فقط در میوکاردیوم دهلیزی یافت می شود، در حالی‌که BNP هم در دهلیز و هم در بطن وجود دارد اما مقدار آن در بطن بیشتر از

دهلیز است. پپتید BNP پس از آزاد شدن به گردش خون از پایداری بشتری نسبت به ANP برخوردار است. پپتیدهای ناتریورتیک به صورت پیش آنزیم از سلول‌های عضله قلب و در پاسخ به استرس‌های مکانیکی یا آسیب عضلات قلب و اغلب به علت افزایش فشار به دیواره قلب ترشح می‌شوند. سپس ساختار این پیش هورمون‌ها برش خورده و به دو قسمت فعال (ANP و یا BNP) و غیر فعال (NTproANP و یا NTproBNP) تبدیل می‌شوند (شکل ۴).



شکل ۴. نمای شماتیک از برش ساختار proBNP (۱۰۸ اسید آمینه) و تبدیل آن به BNP (۳۲ اسید آمینه) و NT-proBNP (۷۶ اسید آمینه)

قسمت‌های فعال بوجود آمده یعنی ANP و BNP با مهار سیستم رنین آنژیوتانسین آلدسترون، ایجاد دیورز و اتساع عروقی، باعث کاهش فشار خون و در نتیجه کاهش فشار وارده به دیواره قلب می‌شود. به منظور ارزیابی وضعیت دیواره قلب می‌توان هم قسمت‌های فعال و هم غیر فعال را اندازه‌گیری نمود اما با توجه به نیمه عمر بیشتر NTproANP و NTproBNP نسبت به ANP و BNP، اندازه‌گیری قسمتهای غیر فعال بیشتر مورد توجه قرار می‌گیرد. در پزشکی مقادیر BNP و NTproBNP به عنوان شاخص‌های نارسایی احتقانی قلب مورد بررسی قرار می‌گیرد. لازم به ذکر است این تست از حساسیت بالا و ویژگی کمی برخوردار است.

اختلاف بین گونه‌ای قابل توجهی در ساختار ناتریورتیک پپتیدها وجود دارد. برخلاف کیت‌های اندازه‌گیری تروپونین، نمی‌توان از کیت‌های انسانی در اندازه‌گیری ناتریورتیک پپتیدها در گونه‌های دامی استفاده نمود و باید از کیت‌های اختصاصی گونه استفاده نمود. در دامپزشکی، کیت‌های اختصاصی (الایزا) برای اندازه‌گیری ناتریورتیک پپتیدها در سگ و گربه به صورت تجاری وجود دارد. از اندازه‌گیری NTproBNP سرم می‌توان در تشخیص بیماری دژنراتیو دریچه میترال قلب و کاردیومیوپاتی‌ها و همچنین تشخیص دیسپنه غیر مرتبط با قلب در سگ و گربه استفاده نمود. در جدول ۲ به برخی از کاربردهای تشخیصی تروپونین‌های قلبی و ناتریورتیک پپتیدها در سگ و گربه اشاره شده است.

	ناتریورتیک پپتید B	تروپونین‌های قلبی
سگ	بیماری دریچه میترال، کاردیومیوپاتی اتساعی، کاردیومیوپاتی آریتموژنیک بطن راست در سگ نژاد باکسر، انفارکتوس میوکارد (القا شده)، افزایش فشار خون ریوی (القا شده)، تمایز دیسپنه قلبی و غیر قلبی، تمایز بیماری های تنفسی قلبی و غیر قلبی، نارسایی احتقانی قلب همراه با علایم سرفه و دیسپنه، بابزیوز	بیماری دریچه میترال، کاردیومیوپاتی اتساعی، افیوژن پریکارد (نئوپلاستیک و غیر نئوپلاستیک)، بیماری کرم قلب، بابزیوز
گربه	تمایز دیسپنه قلبی و غیر قلبی، تمایز بیماری های تنفسی قلبی و غیر قلبی، تمایز افیوژن های صفاغی قلبی و غیر قلبی، افزایش فشار خون سیستمیک	تمایز دیسترس های تنفسی قلبی و غیر قلبی، هایپرتروفیک کاردیومیوپاتی، کاردیومیوپاتی های مرتبط با پرکاری تیروئید، تنگی قفسه سینه

جدول ۲. موارد کاربرد استفاده از تروپونین‌های قلبی و ناتریورتیک پپتیدها در بیماری‌های مختلف در سگ و گربه

منابع

1. Latimer KS. *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology*, 5th ed. John Wiley & Sons; 2011.
2. Thrall MA, Allison R, Weiser G, Campbell T. *Veterinary hematology and clinical chemistry*, 2nd ed. 2012.
3. Stockham SL, Scoth MA. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*, 2nd ed. Iowa, USA: Blackwell Publlshing; 2008.
4. Kaneko J, Harvey J, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th ed. San Diego, USA:Academic Press; 2008.
5. Villiers E, Ristic J. *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. 3rd ed. British Small Animal Veterinary Association; 2016.
6. Taylor SM. Selected disorders of muscle and the neuromuscular junction. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2000;30(1):59-75.

Abstract in English

Biomarkers of myocardial and skeletal muscle diseases in small animals

Maedeh Gharee[1], Mahdieh Zaeemi[2*]

1. Resident of Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

2. Assist. Prof. Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

*zaeemi @um.ac.ir

Muscle diseases can be either inherited or acquired that result from several different disease processes including; infectious, drug- and toxin-induced, and immune mediated, endocrine and metabolic disorders. Standard hematological and biochemical, immunologic, molecular, pathological tests are indicated to diagnosis and monitoring these diseases. From the biochemical tests, the serum activities of aspartate aminotransferase enzymes, lactate dehydrogenase, creatinine kinase, and serum concentration of lactate, myoglobin, troponins, natriuretic peptides, are measured. The aim of this study is to introduce biomarkers that used nowadays to detect skeletal muscle and myocardial damage in small animals. It also provides information on the structure, function, metabolism, reference values and applicability of these biomarkers to provide a better understanding of the health status of skeletal and myocardial muscles by choosing an appropriate biomarker.

Key words: Myocardium, Skeletal muscle, Natriuretic peptides, Troponins

التیام، دوره ۵، شماره ۱: ۱۰۳-۹۴، ۱۳۹۷

Eltiam, 5 (1): 94-103, 2018

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

تشخیص آزمایشگاهی اختلالات مرتبط با متابولیسم آهن در سگ و گربه

معصومه معصومی ورکی[۱]، مهدیه زعیمی*[۲]

۱. رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استادیار کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

*zaeemi@um.ac.ir

چکیده

آهن یکی از عناصر ضروری برای حیات اغلب موجودات زنده می‌باشد. اختلال در تنظیم میزان آهن بدن می‌تواند منجر به بروز تظاهرات بالینی مختلف گردد. اختلالات مرتبط با متابولیسم آهن در پستانداران شامل آنمی فقر آهن، آنمی بر اثر بیماری‌های مزمن و سرباری آهن یا هماکروماتوز می‌باشد. مطالعه حاضر به طور خلاصه به متابولیسم آهن در دام‌های کوچک، اختلالات مرتبط با آن و همچنین روش‌های ارزیابی وضعیت آهن بدن پرداخته است.

واژه‌های کلیدی: آنمی فقر آهن، هموکروماتوز، ترانسفرین، هپسیدین، دام‌های کوچک

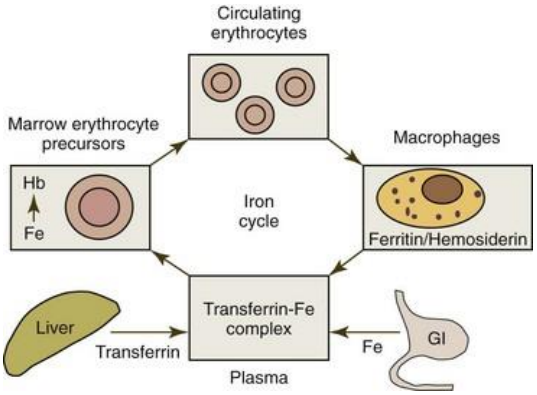
مقدمه

آهن یکی از عناصر ضروری برای تمام موجودات زنده است و تنها گروهی از لاکتوباسیل‌ها هستند که برای حیات به آهن نیاز ندارند. آهن از نظر فراوانی، دومین فلز و چهارمین عنصر طبیعت است. اما علی‌رغم این فراوانی، کمبود آهن بسیار شایع است. مقدار زیادی از آهن برای سنتز هموگلوبین استفاده می‌شود و همچنین آهن برای تولید میوگلوبین عضلات و سنتز DNA مورد نیاز است و کمبود آن موجب کم خونی می‌شود و افزایش آن باعث تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب DNA می‌شود. هرگونه اختلال در تنظیم جذب و دفع آهن می‌تواند مشکلاتی ایجاد کند که برخی از آن‌ها شدید و حتی خطرناک می‌باشند. قسمت عمده آهن در بدن شامل ذخایر آهن در ارگان‌ها (کبد، طحال و مغز استخوان) و آهن موجود در گلبول‌های قرمز می باشد.

جذب آهن

در شرایط سلامت، تقریبا تمام آهن موجود در پلاسما از ذخایر آهن بدن آزاد می‌شود و تنها حدود ۳ درصد آن از مواد غذایی و از طریق دستگاه گوارش جذب می‌شود. اطلاعات محدودی در ارتباط با مقادیر مورد نیاز آهن در سگ بالغ وجود دارد و مقدار مجاز آن به میزان ۰/۰۳۶ تا ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در یک روز پیشنهاد شده است که بستگی به منبع آهن مورد استفاده و فراهمی زیستی آن دارد. اطلاعات قابل تاییدی برای مقدار مجاز و پیشنهاد شده برای گربه بالغ موجود نیست. در شکل ۱ چرخه آهن در بدن نشان

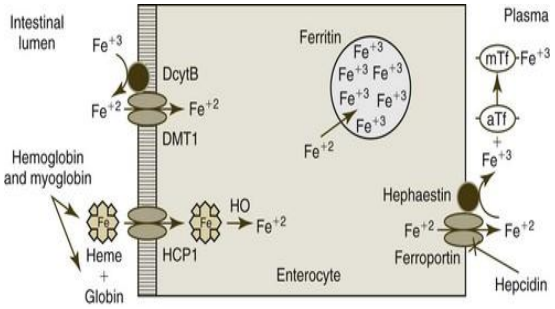
داده شده است.



شکل ۱. چرخه آهن در بدن

آهن به دو فرم هم و غیر هم از دستگاه گوارش جذب می‌شود. آهن غیر هم موجود در غذا ابتدا توسط ترکیبی به نام سیتوکروم b دئودنوم (Duodenal cytochrome/Dcyt B) و همچنین اسید آسکوربیک از فرم فریک به فرم فرو تبدیل می‌شود و سپس توسط پروتئینی به نام پروتئین ناقل فلزات دوظرفیتی یا همان DMT1 (Divalent metal transporter 1) وارد انتروسیت‌ها می‌شود. این پروتئین توانایی انتقال فلزاتی چون منگنز، مولیبدن و دیگر کاتیون‌های دو ظرفیتی را دارد اما بیشترین تمایل را برای جذب آهن دارد. حضور ترکیباتی نظیر فیتات، فسفات و تانن می‌تواند میزان جذب آهن غیر هم را کاهش دهد.

جذب آهن به فرم هم از دستگاه گوارش مکانیسم متفاوتی دارد به این ترتیب که ابتدا ساختار هم توسط آنزیم‌های گوارشی از ترکیبات غذایی آزاد می‌شود و سپس توسط پروتئینی به نام پروتئین ناقل هم (Heme carrier protein 1/HCP1) وارد انتروسیت‌ها می‌شود و در آنجا آهن دو ظرفیتی از ساختار هم توسط آنزیمی به نام هم اکسیژناز (Heme oxygenase) جدا می‌شود. در سطح بازولترال سلول‌های انتروسیت پروتئینی به نام فروپورتین (Ferroportin) جهت خروج آهن از سلول‌های روده و ورود آن به خون وجود دارد. هفاستین یک فرواکسیداز است که بر روی غشای بازولترال سلول‌های مخاط دوازدهه بیان می‌شود و با فروپورتین مرتبط است و در واقع عمل اصلی آن اکسیداسیون fe^{2+} به fe^{3+} جهت خروج آهن از انتروسیت‌ها می‌باشد. آهنی که از انتروسیت‌ها خارج می‌شود به سرعت به ترانسفرین که یک گلیکو پروتئین با قابلیت اتصال بالا به یک تا دو یون fe^{3+} می‌باشد، متصل می‌شود (شکل ۲).

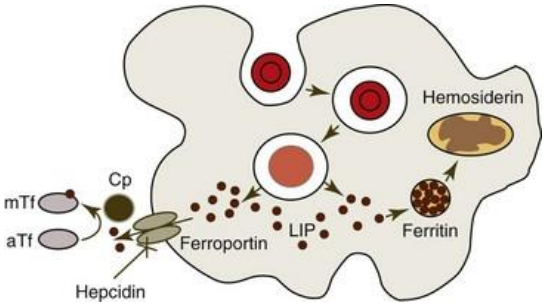


شکل ۲- مکانیسم‌های جذب آهن از روده

تنظیم میزان آهن بدن

تنظیم میزان جذب آهن از غذا نقش بسیار کلیدی در حفظ میزان آهن بدن ایفا می‌کند و بدن هیچ‌گونه کنترلی روی دفع آهن ندارد. مقدار آهنی که از غذا جذب می‌شود توسط پروتئینی به نام هپسیدین (Hepcidin) کنترل می‌شود. این پروتئین که توسط کبد تولید می‌شود به عنوان یک تنظیم کننده منفی عمل می‌کند و در متابولیسم آهن نقش بسیار کلیدی دارد. اخیرا نشان داده شده است که افزایش غلظت هپسیدین باعث تخریب DMT1 شده و در نتیجه آهن کمتری به انتروسیت‌ها وارد می‌شود و بالعکس با کاهش غلظت هپسیدین مقدار بیشتری DMT1 برای انتقال آهن فعال می‌شود. از طرفی فعالیت فروپورتین که مسوول خروج آهن از انتروسیت‌ها است نیز وابسته به غلظت هپسیدین است به طوری‌که هرچه غلظت هپسیدین بیشتر باشد، فعالیت فروپورتین کمتر خواهد بود و بالعکس. همچنین مطالعات نشان داده است که علاوه بر اثر ممانعت کنندگی هپسیدین در جذب آهن از انتروسیت‌ها، این پروتئین با تاثیر بر پروتئین فروپورتین موجود در غشای سلول‌های ماکروفاژ و هپاتوسیت‌ها مانع از خروج آهن از ذخایر بدن می‌گردد. لازم به ذکر است که در سلول‌های هپاتوسیت و ماکروفاژها برخلاف انتروسیت‌ها پروتئینی به نام سرولوپلاسمین فعالیت

فرواکسیدازی داشته و آهن دو ظرفیتی را به سه ظرفیتی جهت اتصال به ترنسفرین تبدیل می‌کند. در شکل ۳ متابولیسم آهن در ماکروفاژها نشان داده شده است. فاکتورهایی که بر غلظت هپسیدین موثرند شامل مقدار ذخایر آهن بدن، هایپوکسی، التهاب و شدت اریتروپوئز می‌باشد و مقدار زیاد آهن و التهاب موجب بیان زیاد هپسیدین می‌شود در حالی‌که آنمی و هایپوکسی موجب کاهش بیان آن می‌شود.



شکل ۳. نقش هپسیدین در خروج آهن از سلول‌های ماکروفاژ

توزیع آهن در بدن

در بدن سه مخزن آهن وجود دارد که مخزن انتقالی، مخزن عملکردی و مخزن ذخیره‌ای نامیده می‌شوند. مخزن انتقالی که همان آهن متصل به پروتئین ترانسفرین (Transferrin) است کمتر از یک درصد آهن بدن را تشکیل می‌دهد. مخزن عملکردی شامل هموگلوبین، میوگلوبین و آنزیم‌هاست. بیش از دو سوم آهن بدن در ساختار هموگلوبین و حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد آن در ساختار میوگلوبین، آنزیم‌ها و سایتوکروم‌ها قرار می‌گیرد. باقی‌مانده آهن بدن در هپاتوسیت‌ها و ماکروفاژها به صورت ذخیره‌ای موجود است.

ارزیابی آزمایشگاهی وضعیت آهن بدن

۱. آهن سرم: آهن سرم را می‌توان با روش‌های فتومتریک اندازه‌گیری نمود. دامنه طبیعی غلظت آهن سرم در سگ و گربه به ترتیب ۵/۹ تا ۲۶/۳ و ۵/۹ تا ۲۴/۲ میکرومول در لیتر می باشد. اما غلظت سرمی آهن شاخص دقیقی برای وضعیت آهن کل بدن نمی‌باشد زیرا با این روش تنها قسمتی کوچک (آهن متصل به ترانسفرین، کمتر از ۰/۱ درصد) از آهن کل بدن را مورد ارزیابی قرار می‌گیرد و همچنین غلظت سرمی آهن تحت تاثیر فاکتورهای متعددی می‌باشد. همولیز، آنمی‌های همولیتیک، مصرف مکمل آهن، انتقال خون‌های مکرر، آنمی‌های هایپوپلاستیک و آپلاستیک، تزریق کورتیکواستروئیدها و بیماری‌های کبدی می‌توانند منجر به افزایش غلظت آهن سرم شود. در حالی‌که فقر آهن، کاهش پروتئین خون، کم کاری تیروئید، التهاب و بیماری‌های کلیوی باعث کاهش غلظت آهن سرم می‌شود.

۲. **فریتین (Ferritin) سرم:** فریتین یک کمپلکس آهن-پروتئین محلول در آب است و غلظت آن در سرم مرتبط با ذخایر آهن بدن می باشد. فریتین شاخص بهتر و دقیق تری از وضعیت مقدار آهن کل بدن است اما باید در نظر داشت که فریتین یک پروتئین مثبت فاز حاد است و در شرایط التهاب تولید آن افزایش می‌یابد. دامنه مقادیر مرجع فریتین سرم در سگ و گربه برابر با ۸۰ تا ۸۰۰ و ۳۲ تا ۱۲۳ میکروگرم در لیتر گزارش شده است. غلظت‌های پایین‌تر از حد مرجع فریتین سرم نشان دهنده فقر آهن می‌باشد و افزایش آن می‌تواند نشان دهنده سرباری آهن، التهاب، آنمی همولیتیک، بیماری‌های کبدی، برخی بیماری‌های نئوپلاستیک مانند هیستیوسیتوز بدخیم و تغذیه نامناسب باشد. لازم به ذکر است که برای تفسیر بهتر نتایج این آزمایش اندازه‌گیری دیگر پروتئین‌های فاز حاد کمک کننده می‌باشد. به عنوان مثال در سگ اندازه‌گیری پروتئین واکنشی C و در گربه اندازه‌گیری سرم آمیلوئید A در تشخیص پاسخ فاز حاد حائز اهمیت می‌باشد. یکی از محدودیت های این تست این است که اندازه‌گیری فریتین نیاز به کیت الایزای اختصاصی گونه دارد که توسط آزمایشگاه تشخیصی دامپزشکی ایالت کانساس آمریکا به صورت تجاری ارایه شده است و علاوه بر هزینه بالا در دسترس همه نمی‌باشد.

اندازه گیری ترانسفرین:

الف- ظرفیت تام اتصال به ترانسفرین (Total iron-binding capacity/TIBC**):** اگر چه می‌توان مستقیم غلظت ترانسفرین سرم را اندازه‌گیری کرد اما این تست روتین نمی‌باشد و معمولا غلظت کل ترانسفرین (منوفریک ترانسفرین، دی‌فریک

ترانسفرین و آپوترانسفرین) به صورت غیر مستقیم و با تعیین ظرفیت تام اتصال به ترانسفرین اندازه‌گیری می‌شود. در این روش ابتدا نمونه سرم با آهن اشباع می‌شود و سپس مقدار کل آهن نمونه به عنوان ظرفیت تام اتصال به ترانسفرین اندازه‌گیری می‌شود. از آنجا که ترانسفرین می‌تواند به آهن بیشتری از آنچه که در گردش خون وجود دارد متصل شود، طبیعتا ظرفیت تام اتصال ترانسفری بیشتر از غلظت آهن سرم خواهد بود. دامنه مقادیر مرجع TIBC در سگ و گربه به ترتیب برابر با ۵۰/۵ تا ۶۹/۱ و ۳۰/۳ تا ۵۸/۲ میکرومول در لیتر گزارش شده است. در شرایط کمبود آهن، مقدار TIBC در اکثر گونه‌ها به جز سگ به علت افزایش تولید ترانسفرین به منظور انتقال بیشتر آهن افزایش می‌یابد. همچنین در شرایط سرباری آهن و بیماری‌های مزمن کبدی در سگ‌ها مقدار آن کاهش می‌یابد. در بیماری‌های کبدی به دلیل کاهش تولید ترانسفرین و در ضایعات گلومرولی شدید، انتروپاتی و خونریزی ها به دلیل از دست دادن ترانسفرین، مقادیر TIBC کاهش می‌یابد. همچنین لازم به ذکر است که ترانسفرین یک پروتئین فاز حاد منفی می‌باشد و در شرایط التهاب مقدار ترانسفرین کاهش می‌یابد و یا در پایین ترین سطح نرمال قرار می‌گیرد.

ب- درصد اشباع ترانسفرین: نسبت غلظت آهن سرم به TIBC به عنوان درصد اشباع ترانسفرین گزارش می‌شود و درصد اشباع آهن به صورت نرمال بین ۲۰ تا ۵۰ درصد می‌باشد و فاکتورهایی که بر میزان غلظت آهن سرم و TIBCموثرند همچنین بر درصد اشباع نیز موثر هستند. درصد اشباع کمتر از ۲۰ درصد نشانگر کمبود آهن می‌باشد و بیماران مبتلا به هموکروماتوز دارای درصد اشباع بالاتر از ۵۰ درصد هستند.

۳. آهن بافتی: آهن موجود در بافت‌ها به دو صورت هم (هموگلوبین، میوگلوبین و برخی از آنزیم‌ها) و غیر هم (هموسیدرین و فریتین) می‌باشد. مقدار هموسیدرین را می‌توان با انجام آزمایشات سیتولوژیک و هیستولوژیک در نمونه‌های تهیه شده از مغز استخوان، کبد و طحال تعیین نمود. از آنجا که این روش بسیار تهاجمی است به صورت معمول کمتر انجام می‌شوند. نمونه‌های بافتی را می توان با رنگ‌آمیزی اختصاصی پروشین بلو (Prussian Blue) رنگ‌آمیزی کرد که در این صورت هموسیدرین به صورت گرانول‌های آبی رنگ دیده خواهد شد و سلول‌ها در این رنگ‌آمیزی رنگ صورتی تیره به خود می‌گیرند. در شرایط آنمی فقر آهن میزان رنگدانه‌های هموسیدرین در بافت مغز استخوان کاهش می‌یابد. البته باید این نکته مد نظر قرار گیرد که به صورت طبیعی مغز استخوان در گربه‌ها فاقد هموسیدرین است و عدم مشاهده این رنگدانه در مغز استخوان شاخص مناسبی جهت تشخیص فقر آهن در گربه نمی‌باشد. آهن قابل رنگ‌آمیزی مغز استخوان در شرایطی چون آنمی‌های همولیتیک، دیس اریتروپوئز، سرباری آهن و در شرایطی که کاهش تولید گلبول قرمز رخ می‌دهد مانند بیماری‌های التهابی افزایش می‌یابد. اندازه‌گیری آهن غیر هم در بافت‌ها، پس از هضم اسیدی، با روش‌های کالریمتری (Colorimetric) و کولومتری (Coulometric) امکان‌پذیر می‌باشد.

۴. پروتوپورفیرین روی در اریتروسیت‌ها: در روند ساخت هموگلوبین در سلول‌های رده اریتروئیدی، آنزیم فروشلاتاز آهن دو ظرفیتی را در داخل ساختار پروتوپورفیرین قرار می‌دهد و مولکول هم تولید می‌شود اما در تعداد کمی از موارد، عنصر روی می‌تواند به جای آهن در داخل این ساختار قرار گیرد که در این صورت به این مولکول جدید پروتوپورفیرین روی (Zinc protoporphyrin/Znpp) گفته می‌شود. در شرایط کاهش میزان آهن بدن، احتمال قرارگیری روی در این ساختار و در نتیجه غلظت Znpp در اریتروسیت‌ها افزایش می‌یابد. از آنجا که این مولکول پایدار است، تا زمان تخریب اریتروسیت‌ها در داخل آن‌ها باقی می‌ماند. شرایطی چون فقر آهن، التهاب (به دلیل عدم آزادسازی آهن از ذخایر)، اریتروپوئز شدید و مسمومیت با سرب منجر به افزایش میزان Znpp می‌گردد. با روش‌های فلومتری و اسپکتوفتومتری می‌توان غلظت Znpp را در

اریتروست‌ها بررسی کرد.

۵. سایر تست‌ها که هنوز در دامپزشکی استفاده نمی‌شود:

- **رسپتورهای محلول ترانسفرین:** وظیفه این رسپتورها انتقال آهن متصل به ترانسفرین به داخل سلول‌ها است. مقدار این رسپتورها در سرم و یا پلاسما با تعداد آن‌ها در سطح سلول‌ها رابطه مستقیم دارد. با کاهش میزان آهن در سلول‌ها، بیان ژن این رسپتورها به صورت جبرانی افزایش می‌یابد و لذا مقدار آن در خون نیز زیاد خواهد شد. در واقع با اندازه‌گیری رسپتور-۱ ترانسفرین (Soluble Transferrin Receptor1/Tfr-1) کمبود آهن در سطح سلولی بررسی می‌شود. این آزمایش تحت تاثیر التهاب قرار نمی‌گیرد و شاخص بهتری برای بررسی وضعیت آهن بدن خواهد بود. اندازه‌گیری Tfr-1 در پزشکی در تمایز آنمی فقر آهن از آنمی ناشی از بیماری‌های مزمن بسیار کمک کننده است ولی متاسفانه تا کنون چنین آزمایشی برای گونه‌های دامی طراحی نشده است.

- **هپسیدین:** هنوز اندازه‌گیری هپسیدین جایگزین روش‌های دیگر اندازه‌گیری مقدار آهن در انسان نشده است ولی اندازه‌گیری آن در خون و ادرار می‌تواند در تشخیص آسیب شناسی بیماری بسیار کمک کننده باشد. اگر چه تغییرات فریتین و هپسیدین در شرایط فقر آهن و التهاب مشابه است اما مطالعات نشان داده است که تغییرات هپسیدین سریعتر و قبل از فریتین رخ می‌دهد.

بیماری‌های مرتبط با متابولیسم آهن

۱. فقر آهن: کمبود آهن در بالغین به خصوص در گربه‌ها غیر معمول است. اما در حیوانات جوان شایع است چرا که در حین رشد به مقادیر زیادی آهن نیاز دارند و از طرفی شیر که غذای اصلی آن‌ها محسوب می‌شود فاقد مقادیر کافی آهن است. معمولا حیوانات بالغی که با غذاهای تجاری تغذیه می‌شوند، مشکل کمبود آهن ندارند مگر در خونریزی‌های مزمن که این حالت معمولا مرتبط با تومورهای خونریزی دهنده (میولوما (Myeloma)، میلوسارکوما (Myelosarcoma) و کارسینوما (Carcinoma)) و زخم‌های گوارشی است که اغلب ناشی از مصرف داروهایی نظیر کورتیکواستروئیدها و داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی، انگل‌های خارجی مثل ککها و انگل‌های داخلی مثل کرم‌های قلابدار و شلاقی می‌باشند که می‌توانند موجب کمبود آهن به خصوص در توله سگ‌ها و بچه گربه‌ها شوند. خونریزی‌های مجرای ادراری محل دیگری برای از دست دادن آهن می‌باشد و به ندرت اختلالات انعقادی می‌تواند موجب از دست دادن مزمن خون شود. خروج آهن از بدن باعث می‌شود که آهن کمتری در اختیار بافت خون‌ساز قرار گیرد و در نتیجه موجب بروز کم‌خونی می‌شود. کم‌خونی ناشی از فقرآهن معمولا جبران پذیر است ولی در موارد فقر آهن شدید و مزمن کم‌خونی جبران ناپذیر می‌شود.

یافته‌های آزمایشگاهی

- فاکتورهای بیوشیمیایی: از یافته‌های آزمایشگاهی مورد انتظار مرتبط با کمبود آهن می‌توان به کاهش غلظت سرم آهن و کاهش غلظت فریتین و TIBC نرمال و یا افزایش یافته و کاهش درصد اشباع ترانسفرین اشاره نمود. نتایج این آزمایش‌ها باید با توجه به تاریخچه بیمار و یافته‌های بالینی و نتایج دیگر آزمایشات به خصوص وقتی که التهاب نیز وجود دارد مورد تفسیر قرار بگیرد. باید توجه نمود که در بروز همزمان کمبود آهن و التهاب غلظت فریتین ممکن است در دامنه طبیعی باشد. در جدول ۱ یافته‌های آزمایشگاهی در اختلالات مرتبط با متابولیسم آهن به صورت خلاصه مورد مقایسه قرار گرفته است.

نام عارضه	آهن سرم	TIBC	ترانسفرین اشباع	فریتین	آهن مغز استخوان	MCV	MCHC	هیپسیدین
آنمی فقر آهن	کم	نرمال/زیاد	کم	کم	کم	کم	نرمال/کم	کم
بیماری مزمن	کم	نرمال/کم	نرمال/کم	نرمال/زیاد	زیاد	نرمال	نرمال	زیاد
التهاب حاد	کم	نرمال/کم	نرمال/کم	نرمال/زیاد	نرمال	نرمال	نرمال	زیاد
آنمی همولیتیک	زیاد	نرمال/کم	زیاد	زیاد	نرمال	نرمال/زیاد	نرمال/کم	کم
شانت پورتوسیستمیک	کم	نرمال/کم	نرمال/کم	نرمال/زیاد	نرمال	کم	کم	؟؟
مسمومیت حاد با آهن	زیاد	نرمال	زیاد	نرمال	نرمال	نرمال	نرمال	زیاد
هموکروماتوز	زیاد	کم	زیاد	زیاد	زیاد	نرمال	نرمال	زیاد

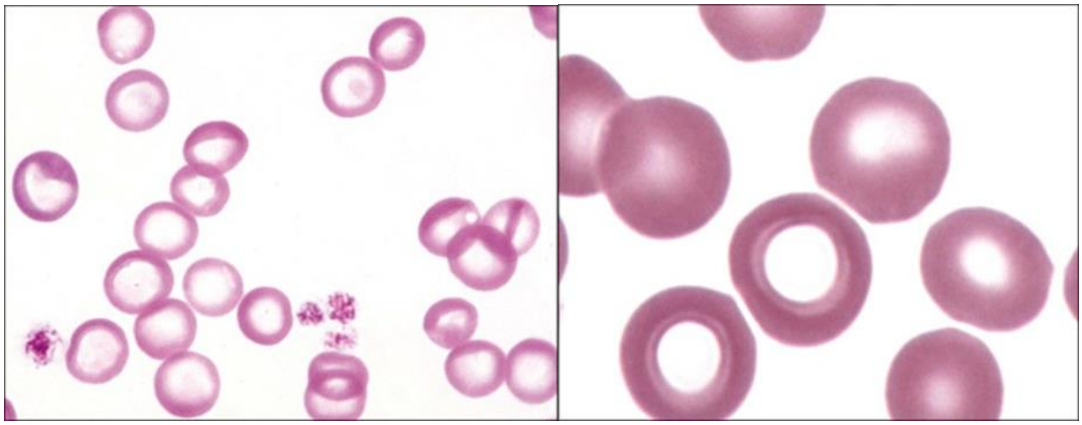
جدول ۱. یافته‌های آزمایشگاهی مورد انتظار در اختلالات متابولیسم آهن

- **شاخص های گلبول قرمز:** در فقر آهن پیشرفته کم‌خونی میکروسیتیک هایپوکرومیک مشاهده می‌شود و معمولا در مراحل اولیه فقر آهن کم‌خونی رخ نمی‌دهد زیرا اولین اولویت مصرف آهن در بدن ساخت گلبول‌های قرمز است لذا در این مرحله یافته‌های خون‌شناسی در دامنه طبیعی می‌باشد. با پیشروی کمبود آهن، کم‌خونی بصورت نورموسیتیک نورموکرومیک بروز می‌یابد که در این حالت ابتدا میانگین سایز سلول‌ها (Mean Cell Volume/MCV) کاهش می‌یابد و پس از مدتی شاخص MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) نیز کاهش می‌یابد. با توجه به این واقعیت که نیمه عمر اریتروسیت‌ها طولانی می‌باشد پس هفته‌ها تا ماه‌ها زمان می‌برد تا تعداد میکروسیت‌ها به اندازه‌ای برسد که منجر به کاهش میانگین سایز اریتروسیت‌ها شود. همچنین باید در نظر گرفته شود که گلبول‌های قرمز خون بچه گربه‌ها و توله سگ‌ها پس از تولد به صورت طبیعی سایز بزرگ‌تری نسبت به بالغین دارند یعنی ماکروسیت هستند و این مساله ممکن است مانع از تشخیص کاهش MCV در نوزادان مبتلا به آنمی فقر آهن شود. لازم به ذکر است که اندازه اریتروسیت‌ها در برخی از سگ‌های نژاد شیبای ژاپنی نظیر آکیتا به صورت طبیعی و بدون داشتن فقر آهن و یا کم خونی کمتر از حد نرمال می‌باشد. در کم‌خونی فقر آهن به علت حضور همزمان اریتروسیت‌های میکروسیت و نرموسیت در گردش خون، توزیع اندازه گلبول‌های قرمز (RDW/Red cells Distribution Width) اغلب افزایش پیدا می‌کند و این افزایش قبل از کاهش MCV خود را نشان می‌دهد. در این زمان غلظت میانگین هموگلوبین سلول‌ها (MCHC) می‌تواند نرمال و یا کاهش یافته باشد. در سگ‌های مبتلا به فقر آهن پیشرفته کاهش MCHC گزارش شده است ولی این تغییر در گربه‌های بالغ به ندرت رخ می‌دهد.

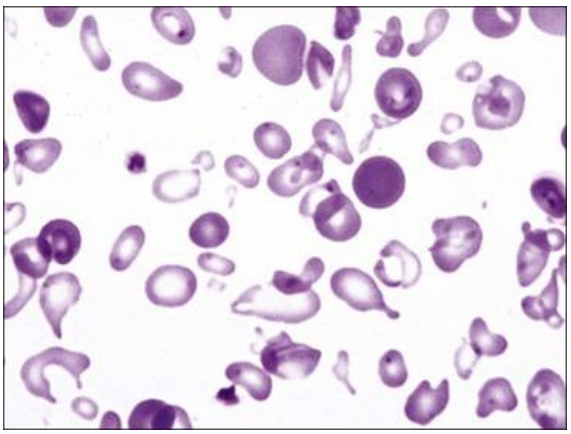
یافته‌های میکروسکوپیک

تهیه گسترش خون و بررسی مورفولوژی اریتروسیت‌ها نیز می‌تواند کمک کننده باشد. هایپوکرومازی به علت کاهش غلظت هموگلوبین رخ می‌دهد و هنگامی‌که اریتروسیت دارای سنترال پالور بزرگ با لبه قرمز کم رنگ و باریک شود به عنوان هایپوکرومازی شناسایی می‌شود. باید دقت شود که این حالت با سلول‌های پانچ (Punched out erythrocytes) یا توروسیت (Totocyte) اشتباه گرفته نشود که در آن سنترال

پلور بزرگ‌تر اما با لبه قرمز تیره و ضخیم هموگلوبین همراه است (شکل ۴). پویکیلوسیتوز به خصوص وجود کراتوسیت‌ها و شیستوسیت‌ها به علت افزایش آسیب‌های اکسیداتیو در سگ‌ها می‌تواند با کم‌خونی فقر آهن مرتبط باشد (شکل ۵).



شکل ۴. مقایسه سلول هایپوکروم (سمت چپ) و سلول توروسیت (سمت راست)



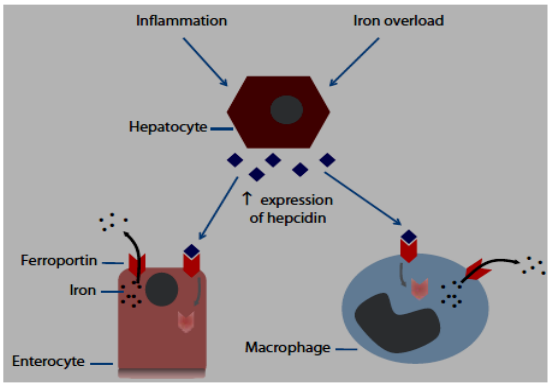
شکل ۵. تغییرات ریخت شناسی اریتروسیت‌ها در کم‌خونی فقر آهن

- شاخص های رتیکولوسیتی: مطالعات نشان داده است که افزایش شاخص رتیکولوسیتی برای تشخیص کمبود آهن در انسان بسیار کمک کننده است و همچنین ممکن است در تشخیص مراحل اولیه کم‌خونی فقر آهن در سگ‌ها و گربه‌ها کمک کننده باشد. در مقایسه با اریتروسیت‌ها، تعیین مقدار هموگلوبین موجود در رتیکولوسیت‌ها شاخص بسیار مناسب‌تری از میزان دسترسی بافت‌های خون‌ساز به آهن می‌باشد زیرا مدت زمان حضور رتیکولوسیت‌ها در خون حدود دو روز است در حالی‌که عمر گلبول‌های قرمز بالغ در گربه و سگ به ترتیب ۷۰ و ۱۲۰ روز است. مطالعات نشان داده‌اند که شاخص‌های رتیکولوسیتی نظیر غلظت هموگلوبین رتیکولوسیت‌ها (Hemoglobin content of reticulocytes/CH_{retic}) و میانگین سایز رتیکولوسیت‌ها (Mean cell volume of reticulocytes/MCV_{retic}) با دیگر شاخص‌های فقر آهن مرتبط می‌باشند. این شاخص ها توسط آنالایزورهای مجهز هماتولوژی در آزمایشگاه‌های مرجع قابل اندازه‌گیری است و احتمالا از ارزش بالایی در دامپزشکی برخوردارند. به نظر می‌رسد که CH_{retic} حساس‌ترین شاخص در تشخیص فقر آهن در انسان است. همچنین مطالعات نشان داده است که این تست از حساسیت ۹۵/۲٪ و ۹۳/۸٪ و ویژگی ۹۰/۵٪ و ۷۶/۹٪ در تشخیص آنمی فقر آهن به ترتیب در سگ‌ها و گربه‌ها برخوردار است. حد برش (Cut off) این تست در سگ‌ها و گربه‌ها به ترتیب معادل ۱/۲۲ و ۰/۸۸ فمتومول برآورد شده است. لازم به ذکر است که التهاب نیز

می‌تواند باعث کاهش شاخص‌های رتیکولوسیتی شود گر چه هنوز مطالعات زیادی برای ارزیابی استفاده از این شاخص‌ها در سگ و گربه مورد نیاز است.

کم‌خونی حاصل از التهاب (کم‌خونی ناشی از بیماری‌های مزمن)

کاهش آهن سرم علی‌رغم وجود ذخایر کافی آن در بدن به طور رایج در التهاب رخ می‌دهد و این حالت با افزایش هپسیدین به دنبال تولید سایتوکین‌های التهابی مرتبط می‌باشد و این یک مکانیسم محافظتی بدن به منظور ممانعت از در دسترس قرار گرفتن مواد غذایی مورد نیاز برای ارگانیسم‌های عفونی است. افزایش هپسیدین موجب تخریب فروپورتین و در نتیجه موجب کاهش جذب آهن از روده و مانع از خروج آهن از ماکروفاژها می‌شود که در نهایت باعث غلظت پایین آهن سرم، فقر آهن عملکردی و توسعه کم‌خونی می‌شود (شکل ۶).



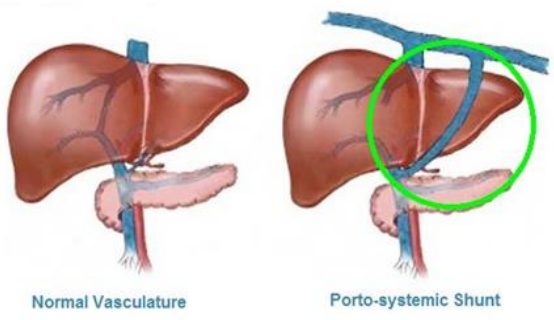
شکل ۶. افزایش تولید هپسیدین در شرایط التهاب و سرباری آهن. هپسیدین به فروپورتین باند شده و با تخریب آن موجب مهار ورود آهن به پلاسما می‌شود.

یافته‌های آزمایشگاهی

از آنجا که در شرایط التهاب حاد و یا مزمن غلظت آهن سرم کاهش می‌یابد بنابراین تمایز کم‌خونی التهاب از کم‌خونی فقر آهن معمولا چالش برانگیز است. در کم‌خونی ناشی از التهاب انتظار می‌رود که غلظت فریتین افزایش یابد و TIBC و درصد اشباع آن به طور معمول در محدوه نرمال و یا ممکن است کاهش یابد. در این شرایط کم‌خونی غیر جبرانی، نورموسیتیک و نورموکرومیک بوده و از نظر شدت کم‌خونی متوسط است.

شانت پروتو سیستمیک

شانت پورتوسیستمیک یک اختلال عروقی است. در این عارضه که به صورت مادرزادی و اکتسابی بروز می‌یابد، خون ورید باب به جای این‌که وارد کبد شود مستقیما وارد گردش خون عمومی می‌شود در نتیجه بسیاری از ترکیباتی که باید توسط کبد برداشته شود از جمله آنتی‌ژن‌ها، توکسین‌ها و مواد غذایی از جمله آهن مستقیم وارد گردش خون عمومی می‌شود (شکل ۷).



شکل ۷. نمای شماتیک از شانت پروتوسیستمیک (سمت راست) در مقایسه با حالت طبیعی (سمت چپ)

این بیماری با یافته‌های آزمایشگاهی نظیر افزایش آمونیاک، افزایش اسیدهای صفراوی و کاهش اوره در خون همراه است و از نظر هماتولوژی، هماتوکریت در دامنه طبیعی است اما کاهش جزئی در شاخص‌های MCV و MCHC و افزایش خفیف RDW در دام‌های مبتلا به این بیماری گزارش شده است. مطالعات نشان داده است که دو سوم سگ‌ها و یک سوم گربه‌های مبتلا به شانت پورتوسیستمیک درگیر میکروسیتوز خفیف می‌باشند. اگر چه مکانیسم دقیق آن ناشناخته است اما این میکروسیتوز تاحدودی به تغییرات متابولیسم آهن نسبت داده شده است. در حالت کلی در شانت پروتوسیستمیک غلظت آهن سرم کاهش، فریتین طبیعی تا افزایش یافته و TIBC طبیعی تا کاهش یافته و شبیه کم‌خونی ناشی از التهاب است.

کمبود مس

کمبود مس با کم‌خونی در پستانداران مرتبط می‌باشد و عموما کم‌خونی آن میکروسیتیک یا نرموسیتیک است. کمبود

مس می‌تواند موجب کاهش عملکرد آهن شود که به علت اهمیت نقش پروتئین‌های غنی از مس نظیر هفاستین و سرولوپلاسمین (Ceruloplasmin) در انتقال آهن است. کمبود مس منجر به کاهش هفاستین و سروپلاسمین می‌شود که به ترتیب در آزادسازی آهن از انتروسیت و ذخایر بافتی نقش دارند، در نتیجه غلظت آهن سرم نیز کاهش می‌یابد.

هموکروماتوز

به تجمع آهن در سلول‌های پارانشیمی هموکروماتوز می‌گویند که باعث آسیب بافتی و از دست دادن عملکرد ارگان‌ها می‌شود. تجمع آهن درون سلول‌ها به ویژه ماکروفاژها بدون اختلال در عملکرد و آسیب بافتی را هموسیدروز گویند. سرباری آهن یک مشکل معمول در حیوانات کوچک نیست اما ممکن است توسط انتقال خون‌های مکرر و آهن زیاد تغذیه رخ بدهد. هموکروماتوز همچنین به دنبال کاهش فعالیت آنزیم پیرووات کیناز نیز رخ می‌دهد که با کم‌خونی همولیتیک فعال و در نتیجه افزایش جذب روده‌ای آهن مرتبط می‌باشد. کمبود ارثی هپسیدین باعث افزایش فعالیت فروپورتین و به دنبال آن افزایش جذب آهن از روده و ایجاد هموکروماتوز می‌شود. مشکلات کبدی نیز گاهی با کاهش تولید هپسیدین چنین پیامدی را دارند. اگر چه در سگ و گربه مقاومت نسبی به سرباری آهن وجود دارد اما این که سرباری آهن در آن‌ها مشکل ایجاد می‌کند یا خیر نامشخص است.

یافته‌های آزمایشگاهی

برای تخمین مقدار آهن کبد معمولا از روش‌های تصویر برداری و همچنین تهیه بیوپسی استفاده می‌شود. اگر چه فریتین به عنوان یک تست غربالگر برای سرباری آهن در انسان استفاده می‌شود اما غلظت فریتین ارتباط خوبی با غلظت آهن کبد ندارد. متاسفانه تا کنون تغییرات غلظت فریتین در دام‌های کوچک مبتلا به هموکروماتوز بررسی نشده است. توصیه شده است که هنگام اندازه‌گیری غلظت فریتین درصد اشباع ترانسفرین نیز محاسبه شود در این حالت درصد اشباع ترانسفرین نیز افزایش می‌یابد.

منابع

1. Latimer KS. *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology*, 5th ed. John Wiley & Sons; 2011.
2. Stockham SL, Scoth MA. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*, 2nd ed. Iowa, USA: Blackwell Publlshing; 2008.
3. Thrall MA, Allison R, Weiser G, Campbell T. *Veterinary hematology and clinical chemistry*, 2nd ed. 2012.
4. Kaneko J, Harvey J, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th ed. San Diego, USA:Academic Press; 2008.
5. Bohn A. Diagnosis of Disorders of Iron Metabolism in Dogs and Cats. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2013;43(6):1319-1330.
6. McCown JL, Specht AJ. Iron Homeostasis and Disorders in Dogs and Cats: A Review. J Am Anim Hosp Assoc 2011; 47(3):151-160.

Abstract in English

Laboratory diagnosis of iron metabolism disorders in Dogs and Cat

Masoume Masoumi Verki[1], Mahdieh Zaeemi[2*]

1. Resident of Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

2. Assist. Prof. Clinical Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad

*zaeemi @um.ac.ir

Iron is essential to virtually all living organisms and is integral to multiple metabolic functions. Disorders of iron in the body include iron deficiency anemia, anemia of inflammatory disease, and iron overload. This article summarizes iron metabolism and disorders associated with iron metabolism in small animals and the diagnostic tests currently in use for assessing iron status are discussed.

Key words: Iron deficiency anemia, Hemocromatose, Transferrin, Hepcidin, Small animal

Table of English Abstract

Laboratory diagnosis of liver disease in small animal practice (Saba Ahmadi, Morteza Hasanabadi, Mehrdad Mohri)	**13**
practice Laboratory diagnosis of renal diseases in small animal (Morteza Hasanabadi, Saba Ahmadi, Mehrdad Mohri)	**23**
Laboratory findings of acute pancreatitis in dogs and cats (Niloufar Abedi, Mahdieh Zaeemi)	**33**
Diabetes Mellitus: laboratory findings and diagnosis in dogs and cat (Mahsa Mohtadi, Mohammad Heidarpour)	**50**
Thyroid glands: diseases and laboratory diagnosis in small animals (Maedeh Ghari, Niloufar Abedi, Mohammad Heidarpour)	**65**
Adrenal glands: diseases and laboratory diagnostic methods in small animals (Samin Madreseh Ghahfarokhi, Mohammad Heidarpour)	**85**
Biomarkers of myocardial and skeletal muscle diseases in small animals (Maedeh Gharee, Mahdieh Zaeemi)	**93**
Laboratory diagnosis of iron metabolism disorders in Dogs and Cat (Masoume Masoumi Verki, Mahdieh Zaeemi)	**103**

Eltiam

(Clinical Biochemistry in Small Animals)

Print ISSN: 2423-5695

Publisher: Iranian Veterinary Surgery Association (IVSA)

Editor-in-chief: Dr. Ahmadreza Mohamadnia

Guest Editor: Prof. Mehrdad Mohri
(Prof. Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad)

Manager: Dr. Samaneh Ghasemi
(DVM, DVSc in Veterinary Surgery)

Editorial Board (Alphabetical order)

Dr. Seyed Mohsen Ahmadinejad (Assist.prof. University of Applied Science and Technology, Tehran)
Dr. Mohammadreza Emami (Assoc.Prof. Veterinary Surgery, Ferdowsi University of Mashhad)
Dr. Mohammad Mehdi Dehghan (Prof. Veterinary Surgery, University of Tehran)
Dr. Siamak Zarei (Veterinary Surgeon, Tehran)
Dr. Kamran Sardari (Prof. Veterinary Surgery, Ferdowsi University of Mashhad)
Dr. Mohamad Mehdi Oloumi (Prof. Veterinary Surgery, Shahid Bahonar University of Kerman)
Dr. Ali Ghashghaii (Assist.prof. Veterinary Surgery, Razi University of Kermanshah)
Dr. Majid Masoudi fard (Assoc.Prof. Veterinary Diagnostic Imaging, University of Tehran)
Dr. Ahmadreza Mohamadnia (Assoc.prof. Veterinary Surgery, Ferdowsi University of Mashhad)
Dr. Iradj Nowrouzian (Prof. Veteinary Surgery, University of Tehran)

Postal Adress: Asian Highway, Opposite to Razavi Hospital, Faculty of Veterinary Medicine

Teaching Hospital, Secretariet of IVSA, Mashhad, Iran

PostalCode: 9187195786

Phone: 0098-5136579430 **Fax: 0098-5136579430**

Website: www.eltiamjournal.ir

Email Adress: eltiam.ivsa@gmail.com

Eltiam

(Iranian Veterinary Surgery Association Journal)

ISSN 2423-5695

Volume 5. Issue 1. 2018

نشریه علمی ترویجی التیام دو بار در سال چاپ می‌شود.

شماره بعدی التیام: "مدیریت زخم، مبانی، چالش‌ها، دستاوردها و چشم‌اندازها"، سردبیر مهمان: دکتر سید مهدی قمصری