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