



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 اندازه‌گیری 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 ادراری 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 Neutrophil gelatinase-associated, Kidney injury molecule, Cystatin C، Lipocalin اشاره کرد.

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

بررسی کارکرد کلیه

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 زمانی که نفرون‌های باقیمانده توانایی جبران آسیب‌های ایجاد شده را داشته باشند

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 گلوبمرولی

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، کراتینین، فسفر، کلسیم و اطلاعات دیگر از آنالیز ادرار یا پروتئین در ادرار، پاک‌سازی کراتینین و البته دفع سهمی سدیم استفاده کرد.

اوره: اوره در کبد در پاسخ به دامینه شدن اسیدهای آمینه مازاد بر نیاز تغذیه‌ای ساخته می‌شود. اوره مولکول کوچکی است که در تمام مایعات بدن منتشر می‌شود. اوره به راحتی توسط گلوبولین‌ها فیلتر می‌شود اما بخش عمده آن توسط توپول‌ها و لوله‌های جمع‌کننده بازجذب می‌شود. بازجذب با کاهش جریان توپولی 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 پروتئین غذا، خونریزی گوارشی، عملکرد کلیه، پرادراری و هایپرتیروئیدیسم جستجو کرد. این عوامل همراه با بازجذب زیادی که در توپول‌ها 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 دی‌اکسید هیدرولیز کرده که در مرحله بعد آمونیا به صورت مستقیم یا غیر مستقیم با روش‌های رنگ‌سنجی قابل سنجش است.

کراتینین: کراتینین یک مولکول کوچک می‌باشد که در واقع حاصل شکستن کراتین فسفات است. کراتین فسفات به عنوان یک مولکول ذخیره‌کننده انرژی است که عموماً 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.

در مقادیر نرمال خود باقی می‌مانند. معمولاً بیماری‌های کلیوی به دو صورت ازوتمی و عدم توانایی در تغلیظ ادرار خود را نشان می‌دهند. عدم توانایی در تغلیظ زمانی ایجاد می‌شود که ۶۶٪ از نفرون‌ها از بین رفته باشند همچنین ازوتمی زمانی ایجاد می‌شود 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 گلوبول‌ها باشد می‌تواند شامل گلوبولونفریت یا آمیلوئیدوز، درگیری توپول‌ها مثل نفروزیس، اینترستیشیوم مثل Interstitial nephritis، لگنچه مثل پیلونفریت و یا مجاری دفع‌کننده 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 گلوبول‌ها

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. مثلاً در سگ‌های دالماسین که دفع بیش از اندازه اوریک اسید دارند این امر به دلیل اختلال در تبادل‌کننده‌های توپول‌های پروکسیمال روی می‌دهد یا در بیماری پلی‌کیستیک در گربه‌های جوان تغییری در GFR به وجود نمی‌آید.

GFR یکی از بهترین شاخص‌های پیشگویی‌کننده برای تعیین تعداد نفرون‌های عملکردی در کلیه است. محاسبه خود GFR کار آسانی نیست اما در مطالعات از موادی که از گلوبول‌ها فیلتر می‌شوند اما بازجذب یا ترشحی به توپول‌ها ندارند استفاده می‌شود. به عنوان مثال از اینولین، Mannitol، Iohexol، 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

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

Symmetrical Dimethyl arginine: SDMA 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 جمع‌آوری

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 کروموزن‌های 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. مثلاً 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. عموماً 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 مثلاً مقادیر بالا اما نرمال برای سگی مثل شی هوآهواً 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، پرئوشی 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

ادارار 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 این که 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 گلوبول‌ها فیلتر شده و در توپول‌های 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 صورتی که 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 ثابت 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 هایپوآدرنوکورتیسیسم) باعث کاهش بازجذب سدیم و افزایش برداشت پتاسیم می‌شود.

۳- در بیشتر سگ‌ها و گربه‌های دچار نارسایی حاد یا مزمن کلیه غلظت سرمی الکترولیت‌ها علی‌رغم آسیب نفرون‌ها 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

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، پیومترا، آبسه پروستات
هایپو آدرنوکورتیزیسیم
هایپرکلسمی
هایپوناترمی شدید
هایپوکالمی شدید
کتواسیدوز یا دیابت ملیتوس هایپراسمولار
هایپو آدرنوکورتیزیسیم همراه با دهیدراتاسیون
دیابت بی مزه همراه با دهیدراتاسیون (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 عموماً 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 احتمالاً مهم‌ترین عامل است. البته در بیماران مبتلا به AKI هم ممکن است آنمی با دلایل مختلفی از جمله مصرف مایعات زیاد، لپتوسپیروز یا هایپوآدرنوکورتیزیسیم روی دهد. ضمن این‌که خونریزی و همولیز می‌تواند شروع کننده AKI باشد. هایپرکالمی عموماً همراه با AKI به خصوص در موارد پس کلیوی آن روی می‌دهد. همچنین هایپرکالمی در

گره‌های 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 جمع‌آوری کننده و توپول از پس وظایف خود برآیند. اما در صورتی که تونسیته بالای لوله‌های جمع‌آوری کننده مختل باشد (مثل هایپو آدرنوکورتیزیسیم یا حیره غذایی که پروتیین حذف شده باشد) یا زمانی که تداخلی در کار توپول‌ها ایجاد شود (مثل مصرف مدر) یا اختلال در کار لوله‌های جمع‌آوری 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. عموماً 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 نمونه‌گیری 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 صورتی که در سگ‌های دچار نارسایی کلیوی وزن مخصوص معادل ۰/۰۰۶-۱/۰۰۶ 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

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 پروتئین 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

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 منویدرات در مسمومیت با ضدیخ یا گلوکزاوروی بیانگر اختلال در توپول‌های پروکسیمال است. پیلونفریت و اختلال در توپول‌های پروکسیمال می‌تواند حاد یا مزمن باشد. مقادیر زیاد کست گرانولار و کست سلول‌های اپی‌تلیال توپولی بیانگر نکرز حاد توپولار (ATN) است. همچنین اندازه کلیه می‌تواند اطلاعات خوبی در مورد نوع ازوتمی بدهد. در بیماری‌های حاد کلیوی، با اندازه نرمال یا افزایش یافته کلیه مواجه هستیم و در بیماری‌های مزمن عموماً 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 دمیتراله شدن استخوان‌ها به دلیل زمان بر بودن در موارد مزمن اختلال کلیوی دیده می‌شود. در حالت نرمال بخش عمده فسفات از محل توپول‌های 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 ماندن در سگ و گربه

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 هیدروکسیلاز 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 احتمالاً به سرعت پیشرفت و تغییر می‌کنند.

پتاسیم: در گربه‌های ازوتیمیک و مبتلا به CKD هایپوکالمی یک یافته معمول است. دلیل این رویداد نامشخص است اما به نظر دلایل 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. هایپوکالمی در بیماری‌های حاد کلیوی معمول است به خصوص اگر بیمار آنوریک باشد.

وضعیت اسید و باز: در بیماران مبتلا به نارسای حاد کلیوی اسیدوز متابولیک دیده می‌شود که شدت آن متناسب با ازوتمی است. استثنا در مسمومیت با اتیلن گلیکول، اسیدوز ایجاد شده مربوط به متابولیت‌های خود گلیکولیک اسید در گردش خون است. اسیدوز متابولیک ممکن است در مراحل انتهایی CKD هم ایجاد شود. علت اسیدوز کاهش آمونوژنز 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. احتمالاً غلظت دیگر لیپیدها هم دستخوش تغییر می‌شود اما در مورد حیوانات به خوبی نشان

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

داده نشده است.

بیومارکرهای ادراری معمول برای بررسی آسیب کلیوی

آلبومین ادرار/میکروآلبومینوری: در حیوان سالم به دلیل اندازه و شارژ، آلبومین از گلوبولین‌ها فیلتر نمی‌شود اما آسیب به گلوبولین‌ها باعث افزایش عبور آلبومین از سد گلوبولینی 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 30 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 1 mg/dl است. محدوده بین $1-30 \text{ mg/dl}$ را میکروآلبومینوری (Malb) و مقادیر بیشتر از 30 mg/dl را پروتینین اوریا می‌گویند. تشخیص میکروآلبومینوری باعث کمک به تشخیص زود هنگام پروتینینوری پاتولوژیک که می‌تواند در موارد بیماری‌های گلوبولینی 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 تقریباً در یک سوم سگ و گربه‌های بیمار مراجعه کننده با دلایل مختلف به بیمارستان‌های آموزشی دیده شده است. سگ‌های مبتلا به لنفوم و استئوسارکوم گاهی نسبت پروتینین به کراتینین نرمال و البته میکروآلبومینوری دارند. سگ‌های مبتلا به کرم قلب قبل از پروتینینوری میکروآلبومینوری دارند و شواهد هیستوپاتولوژیک هم نشان دهنده آسیب گلوبولینی 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 گلوبولینی 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 هایپرتیروئیدسم است و افزایش میزان میکروآلبومینوری 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 آسیب‌های 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 ($1/93-28/57 \text{ IU/g}$) دارد. معمولاً 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 گلوبولین‌ها 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

یا بعد از کنترل هایپرآدرنوکورتیزیم 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 هیپاتوسیت‌ها، 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 باکتری‌ها 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. هم‌اکنون تست ادراری NAGAL در سگ جهت مقاصد پژوهشی در دسترس است.

Retinol binding protein: RBPs

کننده رتینول (Vitamin A) است. در پلاسما کمپلکس RBP و رتینول به ترنس‌تایرین متصل شده که از عبور پروتئین با وزن مولکولی پایین RBP (۲۱ کیلودالتون) از سد گلوامرولی جلوگیری می‌کند. در نبود رتینول RBP توانایی اتصال به ترنس‌تایرین را از دست می‌دهد و از سد گلوامرولی 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، هایپرآدرنوکورتیزیم، 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.

باعث ترشح اینترفرون گاما و تقویت ترشح کمپلمان‌های فعال کننده زیر گروه ایمونوگلوبین G می‌شود. غلظت IL-18 در سرم و ادرار افراد دچار آسیب حاد، مزمن کلیوی و بیماران گلوامرولار 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) آسپرژیلوس فصلی دیده می‌شود که با افزایش این اینترفرون در سگ‌های دچار IMHA شانس مرگ و میر هم افزایش می‌یابد. در دامپزشکی با این که 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 پروتئین 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 این که 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 حاضر این تست در سگ جهت اهداف پژوهشی قابل انجام است.

N-acetyl-β-D-glucosaminidase: NAG

یک پروتئین درون سلولی است که در کاتابولسیم گلیکوزآمینوگلیکان نقش دارد. گلیکوپروتئین‌ها 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

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 Ahmadi¹, Mehrdad Mohri²

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, azotemia 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. New biomarkers such as Cystatin C, a Kidney injury molecule, and Neutrophil gelatinase-associated Lipocalin are 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