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

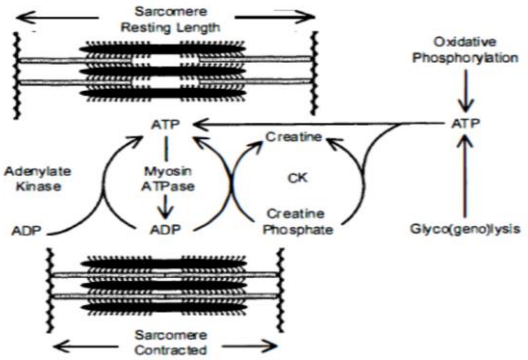
مقدمه

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.

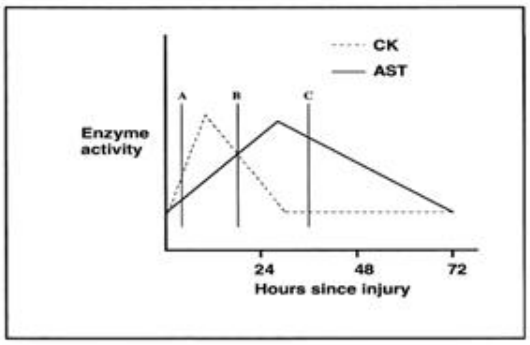
لاکتات دهیدروژناز (LDH)

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

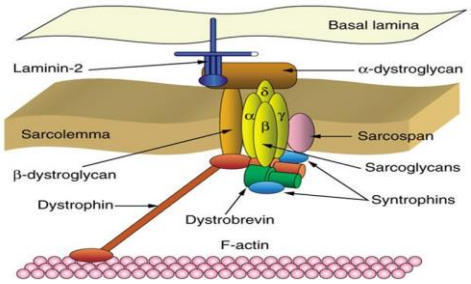
است. عضلات حاوی ۹۵ درصد پتاسیم بدن هستند. تخریب یا نکروز یک توده بزرگ عضلانی ممکن است پتاسیم را به اندازه‌ای در خون آزاد کند که منجر به هیپرکالمی شود. ارتباط بین هیپرکالمی و افزایش فعالیت آنزیم‌های سرمی عضله ممکن است ضعیف باشد. البته هیپرکالمی بیشتر با اختلالات اسید-باز و اختلال الکترولیت‌ها همراه است. 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

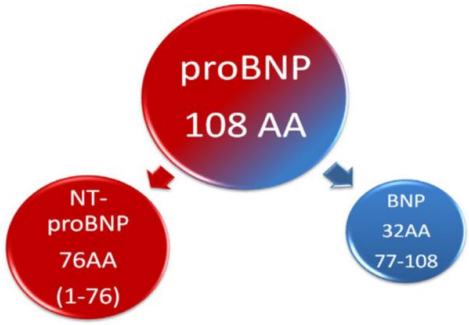
تروپونین‌ها پروتئین‌های کروی هستند که به تروپومیوزین متصل اند و به تعامل بین اکتین و میوزین در داخل میوفیبریل رشته‌های عضلانی کمک می‌کنند. سه پروتئین تروپونین یک کمپلکس تنظیمی را تشکیل می‌دهند که شامل تروپونین I، تروپونین T و تروپونین C می‌شود. تروپونین I و T ایزوفرم‌های قلبی هستند و بنابراین اندازه‌گیری 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