

کلینیکال پاتولوژی

دکتر مریم کریمی
نویسنده: سروش قاسمی

بیوشیمی بالینی



MASTER DARS

Clinical Pathology

جلسه اول (دکتر کریمی)

کلینیکال پاتولوژی: به بررسی سلول، در حالت سالم و بیمار کلینیکال پاتولوژی می گوئیم.

دو قسمت است:

- بیوشیمی بالینی
- هماتولوژی

بیوشیمی بالینی

کبد:

یکی از فعالترین اعضای بدن است که در هر دقیقه یک و نیم لیتر خون به آن وارد می شود. وظایف کبد شامل سم زدایی دارو ها دفع مواد زائد که شامل بیلی روبین اسید های صفراوی، در متابولیسم چربی ها پروتئین ها و قند ها نقش دارد اجسام کتونی را می سازد. عوامل انعقادی را سنتز می کند و در سنتز اوره نقش دارد ولی مهم ترین کار آن همان دفع بیلی روبین است.

موارد اندیکاسیون یا مواردی که آزمایش های کبدی درخواست داده می شود:

زرد شدن پوست و مخاطات ، اسهال و استفراغ طولانی، آسیب و بزرگ شدن کبد مواردی است که ما به آزمایش های کبدی مراجعه می کنیم

کاربرد تست های کبدی :

- تشخیص بیماری های اولیه ی کبد مثل یرقان ها
- بیماری های ثانویه ی کبد (دیابت قندی) بیماری هایی که از کبد منشا نمی گیرند و مربوط به قسمتی دیگری هستند ولی آثارشان در کبد مشاهده می شود
- تشخیص تفریقی انواع یرقان ها
- در تشخیص کم خونی ها با منبع نا شناخته از تست های کبدی استفاده می شود (کبد در سنتز عوامل انعقادی کاربرد دارد)
- کار های تحقیقاتی (تعیین سمیت دارو ها، مسیر مهاجرت های انگلی و مطالعات فیزیولوژیکی)

محدودیت های تست های کبدی:

- بعضی آنزیم های کبد اختصاصی برای بعضی گونه ها هستند مثل ALT که فقط مخصوص انسان سگ و گربه است
- اغلب آزمایش های کبدی ویژگی کمی دارند (کبد کارهای متفاوتی انجام می دهد و هر یک از وظایفش را با یک قسمت انجام میدهد و برای سنجش آن ها یک تست مختلف وجود دارد)
- بیماری های مربوط به خارج از کبد ممکن است تحت تاثیر تست های کبدی قرار گیرند.

طبقه بندی آزمایش های کبدی:

- یکسری از آزمایش های کبد بر مبنای خاصیت ترشحاتی و تراوشی کبد هستند (یکی از وظایف کبد مربوط به فعالیت جذب، کانژوگه و ترشح کردن است) شامل:
 - (a) بیلی روبین
 - (b) اسید های صفراوی
 - (c) BSP برم سولفوفتالئین یا برم سولفالتئین (یک ماده خارجیست که به بدن تزریق می شود و وظیفه ی کبد این است که این ماده را جذب، کانژوگه و دفع کند



- فعالیت های متابولیسیمی کبد: در متابولیسم پروتئین کربوهیدرات و چربی ها نقش دارد پس با اندازه گیری این پارامتر ها می توان از سلامت کبد با خبر شد
- آنزیم های کبدی: با اندازه گیری آنزیم های کبدی (اختصاصی یا غیر اختصاصی)

عمده آزمایش های کبدی بر اساس اندازه گیری رنگدانه های صفراوی در خون ادرار و مدفوع است

رنگدانه صفراوی در خون : بیلی روبین

هموگلوبین به هم و گلوبین تبدیل می شود.

گلوبین پروتئین است که به اسید آمینه تبدیل می شود. هم به پروتوپورفرین+ آهن تبدیل شده. آهن به دخایر آهن در بدن منتقل می شود و پروتوپورفرین به بیلی وردین (سبز رنگ) و سپس به بیلی روبین غیر کانژوگه (زرد رنگ) تبدیل می شود.

در شرایط فیزیولوژیک این اتفاق مداوما تکرار می شود و ما در خون در حالت عادی مقداری بیلی روبین غیر کانژوگه داریم (بیلی روبین مستقیم یا غیر محلول) بیلی روبین غیر کانژوگه به آلبومین متصل شده و به کبد می رود.

کبد بیلی روبین غیر کانژوگه را از خون می گیرد.

بیلی روبین در کبد توسط آنزیم UDPGT یا (uridine diphosphate glucuronosyltransferase) با دو تا اسید گلوکورونیک به بیلی روبین دی گلوکوروناید تبدیل می شود که بیلی روبین کانژوگه است (محلول است).

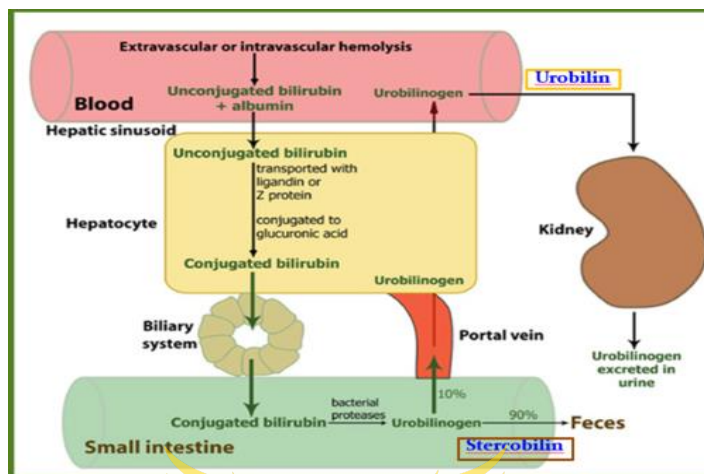
بیلی روبین کانژوگه شده وارد مجاری صفراوی شده و به دئودنوم ترشح می شود.

توسط پروتئاز های باکتری ها به Urobilinogen تبدیل می شود.

(a) 90 درصد آن اکسید شده و به Stercobilin (رنگدانه مدفوع) تبدیل می شود.

(b) 10 درصد آن به توسط Portal Vein جذب شده و به کبد می رود (همان Urobilinogen) سپس دوباره وارد خون شده و توسط کلیه ها به ادرار ترشح می شود.

بیلی روبین متصل به آلبومین نا محلول است و اگر وارد کبد شود و کانژوگه شود محلول در آب است و می تواند دفع شود. در بیماری هایی که همولیز Intra vascular یا Extra vascular ایجاد می کنند نیز این اتفاق می افتد. رنگدانه ی صفراوی در خون: بیلی روبین کانژوگه و غیر کانژوگه است. رنگدانه ی صفراوی در مدفوع: استرکوبیلین یا اوروبیلین است. رنگدانه ی صفراوی در ادرار: اوروبیلینوزن.



آیا در ادرار بیلی روبین داریم؟

بیلی روبین غیر کانژوگه به هیچ عنوان وارد ادرار نمی شود ولی بیلی روبین کانژوگه اگر میزانش بیش از حد آستانه کبدی باشد در ادرار افزایش می یابد درجه شرايطی بیلی روبین را در مدفوع داریم؟

مصرف آنتی بیوتیک ها و عدم اثر پروتئاز های باکتریایی ، اسهال ها، نوزادان شیرخوار (برای همین رنگ مدفوع زرد رنگ دارند)

افزایش بیلی روبین بیش از یک میلی گرم در دسی لیتر، هایپر بیلی روبینمی گفته می شود (1mg/dl)

دلایل هایپر بیلی روبینمی

- Pre hepatic (Hemolytic)
- Hepatic
- Post Hepatic

1) Pre hepatic: مسئول این یرقان ها بیماری های همولیتیک است. یعنی روزانه توسط این بیماری ها RBC های بیشتری لایز می شود و بیلی روبین غیر کانژوگه بیشتری در خون دیده می شود. کبد با تمام توان بیلی روبین های غیر کانژوگه را دریافت می کند ولی توان آن به اندازه کافی نیست. بنابراین بیلی روبین غیر کانژوگه افزایش می یابد. نسبت به حالت معمولی چون بیلی روبین بیشتر وارد کبد می شود، بیلی روبین کانژوگه بیشتر است، اوروبیلینوژن بیشتر و استرکوبیلین بیشتر است (رنگ مدفوع بیشتر می شود) (رنگ ادرار هم بیشتر می شود).

بنابراین در این نوع یرقان: بیلی روبین غیر کانژوگه افزایش - استرکوبیلین افزایش - اوروبیلینوژن افزایش - **بیلی روبین کانژوگه تغییر نمی کند.**

نکته: هر جا بیلی روبین کانژوگه تغییر نکرد ما بیلیروبینوری نداریم (حضور بیلی روبین در ادرار).

درواقع در این نوع یرقان بیلی روبین کانژوگه ای که تولید می شود باعث افزایش اوروبیلینوژن و استرکوبیلین می شود.

2) Hepatic: کبد نمی تواند بیلی روبین غیر کانژوگه را از خون بگیرد، بیلی روبین هایی که درون کبد وارد شده کانژوگه نمی شود و بیلیروبین کانژوگه نشده

نیز در کبد زیاد می شوند و بیلی روبین هایی که از قبل کانژوگه شده اند نیز به دلیل عدم ترشح دوباره به خون برمیگردند (مشکل در سه فعالیت جذب

کانژوگه کردن و ترشح). بنابراین هم میزان بیلی روبین کانژوگه و هم غیر کانژوگه در خون زیاد می شود. کاهش اوروبیلینوژن و استرکوبیلین داریم. از نظر

تئوری در مراحل اولیه بیماری کبدی اوروبیلینوژن **ادرار** افزایش می یابد و وقتی پیشرفت کرد کاهش پیدا می کند (مسیر عروق پرتال که 10 درصد

اوروبیلینوژن را برمی دارد سالم است و سهم اوروبیلینوژن خود را حتی بیشتر از حالت عادی بر می دارد)

بیلی روبین غیر کانژوگه و کانژوگه افزایش - اوروبیلینوژن ادرار افزایش - استرکوبیلین کاهش (مدفوع کم رنگ و خاکستری).

3) Post Hepatic: مشکل در مسیر خروج بعد از کبد است (انسداد یا کلستاز داریم) درواقع بیلی روبین کانژوگه از کبد به درون مجاری صفراوی ترشح می

شوند ولی به دلیل وجود کلستاز در مجاری صفراوی که می تواند به دلایل مختلفی از جمله انگل ها یا التهاب ها یا تومور ها باشد دوباره به خون بر می گردند.

بنابراین افزایش بیلی روبین کانژوگه در خون را داریم، اوروبیلینوژن در ادرار کاهش می یابد، و استرکوبیلین در مدفوع هم کاهش می یابد. بیلی روبینوری

داریم زیرا بیلی روبین کانژوگه در خون بالا می رود.

روش اندازه گیری بیلی روبین در سرم

دو روش است:

- تست واندربگ: کیت ها یک سری محلول دارند که در کاتالوگ مراحل انجام آن را نوشته است. محلول اسید سولفانیدریک دی ازته با بیلی روبینی که در سرم خون وجود دارد آزوبیلی روبین ایجاد می کند که در محیط اسیدی و قلیایی آبی و در خنثی بنفش رنگ است، با توجه به شدت رنگ می توان غلظت بیلی روبین را اندازه گرفت. با دستگاه اسپکوفتومتر میزان بیلی روبین را تخمین می زنیم

- رنگ زرد سرم سنجیده می شود. سرم خون را با سرم فیزیولوژی رقیق می کنند تا هم رنگ محلول استاندارد دی کرومات پتاسیم 0.01 درصد شود.

تعداد دفعات رقت اندیس زردی است. یعنی در یرقان هایی که بیلی روبین افزایش یافته و سرم زرد رنگ است، تعداد دفعات رقت افزایش می یابد و

اصطلاحاً به تعداد دفعات رقت را اصطلاحاً **icterus index** می گویند.



تفسیر تغییرات بیلی روبین خون

در سگ: حد آستانه کلیوی بیلی روبین بسیار پایین است و به محض اینکه بیلی روبین کانژوگه به حدی زیاد می شود وارد ادرار می شود. بنابراین در انسداد مجاری صفراوی خیلی احتمالش زیاد است که افزایش بیلی روبین کانژوگه را در سگ نبینیم چراکه وقتی بالا می رود وارد ادرار شده و خود را نشان نمی دهد. پس اندازه گیری بیلی روبین سرم در سگ آزمایش حساسی نیست. البته بیلی روبین ادرار تست مفیدی در تشخیص سریع بیماری های کبدی و انسداد مجاری صفراویست.

در اسب: غیر از بیماری های کبدی یکسری بیماری های دیگر داریم که بیلی روبین غیر کانژوگه را افزایش می دهند. برای مثال: نارسایی های قلبی، گرسنگی، یبوست، کمخونی عفونی اسب، سندرم کولیک، پنومونی قانقاریایی، در همه ی این ها بیلی روبین کانژوگه افزایش می یابد. بنابراین در اندازه گیری بیلی روبین سرم، هایپر بیلیروبینمی خون در اسب به تنهایی بدون انجام دیگر تست های کبدی ارزشی در دیگر بیماری های اسب ندارد.

گاو گوسفند و بز: در بیماری های شدیدشان بیلی روبین سرم افزایش می یابد و اگر بیماری های کبدی در مراحل اول باشد افزایش در بیلی روبین دیده نخواهد شد.

نتیجه گیری کلی: اندازه گیری بیلی روبین سرم به تنهایی برای تشخیص بیماری کبدی در همه ی حیوانات ارزش تشخیصی ندارد و حتما باید آنزیم های کبدی نیز چک شود.

• انواع هایپر بیلی روبینمی غیر کانژوگه

A. یرقان فیزیولوژیکی نوزادان (Newborn Jaundice):

نوزادان در حالت طبیعی به صورت فیزیولوژیک همگی درجاتی از یرقان را می گیرند. در واقع کبد این نوزادان هنوز فعال نیست و توانایی جذب و دفع بیلی روبین ها را ندارد. تعداد گلبول قرمز در نوزادان بیش از بالغین است و تولید بیلی روبینشان بیشتر است و غلظت آلبومین کمتری نیز دارند و تمامی این عوامل ایجاد یرقان در نوزادان می کند که اگر از 20mg/dl بالاتر رود ممکن است در مغز و نخاع نفوذ کند و نوعی انسفالوپاتی به نام (Kernicterus) ایجاد کند.

برای درمان نوزادان را زیر نور مهتابی می گذارند که بیلی روبین غیر کانژوگه را به کانژوگه تبدیل می کند. در واقع با شکستن پیوند های هیدروژنی فرم ترانس را به فرم سیس تبدیل کرده و کانژوگه می شود و از طریق ادرار دفع می شود.

B. سندرم کریگلر نجار (Crigler-Najjar): بیماری ارثی است و دو تیپ است:

- تیپ یک: آنزیم UDPGT اصلا وجود ندارد که در **دیالوستای؟** اول نوزادان می میرند.
 - تیپ دو: آنزیم UDPGT وجود دارد ولی فعالیت آن کم است و با فنوباربیتال بهبود می یابد (فرم ترانس را به سیس تبدیل می کند)
- #### C. بیماری گیلبرت Gilbert: بیماری ارثی است که کبد نمی تواند بیلی روبین ها را به راحتی از خون بردارد.

مسمومیت ها:

مصرف زیاد استامینوفین یا سموم کبدی که باعث افزایش بیلی روبین غیر کانژوگه می شود.

• انواع هایپر بیلی روبینمی کانژوگه:

- A. کلستاز یا انسداد مجاری صفراوی
- B. سندروم دوبین جانسون (Dubin-Johnson syndrome): بیلی روبین هایی که کانژوگه شده دفع نمی شوند و کبد در دفع این ها دچار مشکل است. بیماری ارثی است و ممکن است در بلوغ ظهور پیدا کند.

اسید های صفراوی:

یکی دیگر از وظایف کبد این است که اسید های صفراوی را بگیرد کانژوگه و سپس دفع کند. پس با اندازه گیری اسید های صفراوی نیز می توانیم میزان سلامت کبد را بررسی کنیم



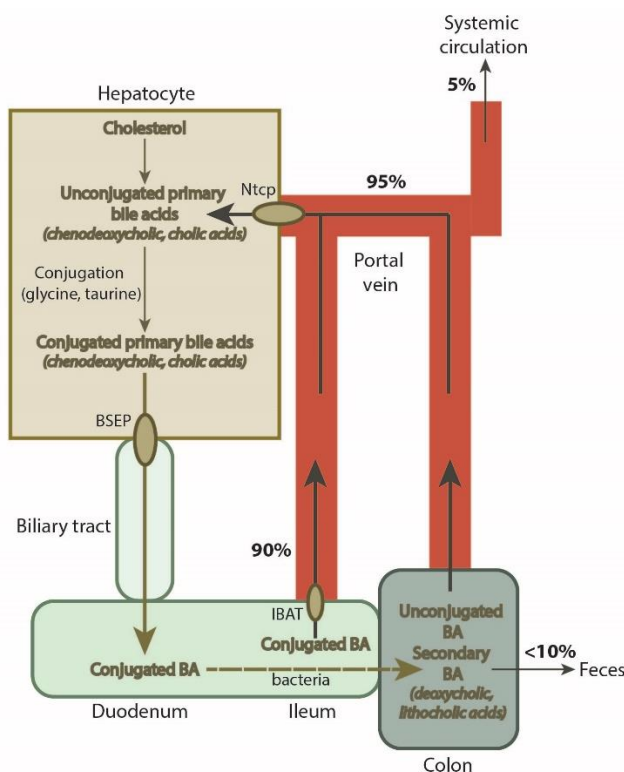
• ثانویه

• اولیه

کولیک اسید و کنوداکسی کولیک اسید، اسید های صفراوی اولیه هستند. کولیک اسید توسط باکتری ها به دئوکسی کولیک اسید تبدیل می شود که ثانویه است و کنوداکسی به لیتوکولیک اسید تبدیل شده که ثانویه است
متابولیسم اسید های صفراوی: برای دفعشان باید کنژوگه شوند.

در کبد کلسترول به اسید های صفراوی تبدیل می شوند. اسید های صفراوی در کبد توسط تورین یا گلاپسین کنژوگه می شوند. تبدیل کلسترول به اسید های صفراوی به واسطه ی هورمون های تیروئید انجام می شود. اسید صفراوی که کنژوگه می شود در کیسه صفراوی ذخیره می شود و در صورت نیاز هورمون ها کیسه صفرا را منقبض کرده و به دئودنوم ریخته می شود و به هضم و جذب چربی و مواد غذایی کمک می کند.

این اسید صفراوی که وارد دئودنوم می شود 10 درصد آن وارد مدفوع و 90 درصد آن وارد عروق پرتال می شود. از این 90 درصد حدود 95 درصد دوباره وارد کبد می شود و 5 درصد باقی وارد عروق سیستمیک می شود و ما همیشه مقداری اسید صفراوی در خون خواهیم داشت.



Bile Acids Circulation

چرا افرادی که هایپوتیروئیدیسم دارد کلسترول بالایی دارند؟ زیرا هورمون های تیروئید کمی دارند و کلسترول در حضور هورمون های تیروئید تبدیل به اسید های صفراوی می شوند.

در چه شرایطی اسید های صفراوی افزایش می یابند؟ در خون؟

A. چند ساعت پس از خوردن غذا اسید های صفراوی افزایش می یابند که عادی است.

B. در بیماری های مزمن کبدی و سیروز کبدی اسید های صفراوی با سه مکانیسم افزایش می یابد

- توده فعال کبد توسط سیروز کم می شوند و بافت فیبروز جایگزین می شود بنابراین اسید های صفراوی توسط کبد گرفته نمی شود و وارد خون می شوند



- ممکن است مشکل کبد در کنژوگه کردن باشد و اسید های صفراوی دفع نمی شوند و از کبد به خون بر می گردند.
- اگر کلستاز داشته باشیم اسید های صفراوی کنژوگه شده وارد خون می شوند.
- شانت های پورتوسپستمیک: شانت به معنی مسیر فرعیست. مسیر های فرعی از عروق پرتال به عروق سیستمیک وجود دارد که معمولا اکتسابی نیستند (هرچند که یکی دو مورد اکتسابیست) که از این مسیر ها اسید های صفراوی بدون عبور از کبد وارد عروق سیستمیک می شوند.

تست برم سولفتالئین

غیر از بیلی روبین و اسید های صفراوی، BSP (Brom Sulphthalein) به صورت سنتتیک است و وریدی تزریق می شود نیز می تواند مارا در تشخیص بیماری های کبدی کمک کند. میزان دفع برم سولفتالئین غیر از اینکه به میزان سلامت کبد مربوط است، جریان خون کبدی نیز مرتبط است. اگر جریان خون کبدی به دلیل دیهایدریشن کاهش یابد میزان دفع برم سولفتالئین کاهش می یابد. حضور آلبومین هم مهم است زیرا باید متصل به آلبومین متصل و دفع شود.

- روش اول (Retention): میزان رنگی که در خون باقی مانده اندازه گیری می شود. معمولا در سگ و گربه انجام می شود، برم سولفتالئین را تزریق داخل وریدی می کنند (2mg/kg) نیم ساعت بعد خونگیری کرده و میزان برم سولفتالئین را اندازه گیری می کنند در حالت سلامت نیم ساعت بعد، 5 تا 10 درصد رنگ باید مانده باشد و اگر مقدار بیشتری مانده باشد نشانگر بیماری کبدی است که اصطلاحا به آن احتباس طولانی می گویند.
- روش دوم (Clearance): میزان دفع رنگ اندازه گیری می شود. معمولا در دام های بزرگ انجام می شود. 1g داخل وریدی تزریق می شود و دو مرحله خونگیری با فاصله 15 دقیقه انجام می دهند و T1/2 را محاسبه می کنند (مدت زمانی که طول می کشد که غلظت رنگ برم سولفتالئین در خون نصف شود). در حالت سلامت در اسب T1/2 برابر 2.8 دقیقه است و در گوسفند 2 دقیقه است. و در بیماری کبدی این میزان افزایش می یابد. اصطلاحا به این حالت کلیرانس تاخیری داریم.

آنزیم ها

در ارتباط با کبد آنزیم های سرم دو دسته هستند:

- اختصاصی: افزایششان صد در صد مربوط به کبد هستند چرا که فقط در کبد سنتز می شوند.
- غیر اختصاصی: در بافت های دیگر هم تولید می شوند و در صورت افزایش آن ها نمی توان با قاطعیت گفت مشکل از کبد است.

(a) آنزیم SGPT (Serum glutamic pyruvic transaminase) یا ALT (Alanine Amino transferase):

انسان، سگ، گربه: اختصاصی است. فعالیت این آنزیم در بافت های کبد زیاد است و افزایشش مربوط به بیماری کبدیست. نوشخوار کنندگان: فعالیتش در بافت های ماهیچه ای فعالیتش زیاد است. و افزایشش مربوط به آسیب های عضلانیست.

(b) آنزیم SGOT (serum glutamic-oxaloacetic transaminase) یا AST (Aspartate trasminase):

غیر اختصاصی است که در بافت های کبد، عضلانی و قلبی هم وجود دارد.

نوشخوار کنندگان: در بیماری های کبدی نوشخوار کنندگان از این آنزیم استفاده می شود. چون فعالیت این آنزیم در کبد نوشخوار کنندگان بالاست.

(c) آنزیم Arginase:

آنزیمیست اختصاصی کبد در همه ی گونه هاست. اما چون متصل به میتوکندری است آسیب وارد شده به کبد باید خیلی زیاد باشد تا افزایش یابد.

(d) آنزیم Alkaline phosphatase (ALP) یا فسفاتاز قلیایی:

غیر اختصاصی است ایزوآنزیم های مختلفی دارد: روده ای، کلیوی، جفتی، القایی، لوکوسیتی، استخوانی، کبدی و مجاری صفراوی.



در دو دسته ی استخوانی و کبدی و مجاری صفراوی اهمیت زیادی در فرایند تشخیص دارد.

ایزوآنزیم استخوانی این آنزیم در حیوانات جوان نسبت به بالغین بیشتر است زیرا از استئوبلاست ها منشا می گیرد و در جوان ها استئوبلاست ها در حال تقسیم اند میزانشان بیشتر است. بنابراین در بررسی آنزیم آلکالین فسفاتاز باید به سن حیوان توجه کرد.

آلکالین فسفاتاز یک ایزوآنزیم استروئیدی یا القایی دارد که فقط در سگ در پی مصرف گلیکوکورتیکوئیدها و کورتون ها افزایش می یابد. بنابراین اگر سگی را به کلینیک آوردند باید تاریخچه ی دارویی آن چک شود. کورتون ها اگر تک دوز در سگ استفاده شود تا چند روز یا حتی بیشتر می تواند میزان ALP را بالا نگه دارد.

انسان، اسب، سگ و گربه: آلکالین فسفاتاز در انسداد مجاری صفراوی افزایش می یابد. (یک آنزیم انسدادی است).

نوشخوار کنندگان: دامنه ی طبیعی فعالیت ALP خیلی وسیع است و هرگونه افزایش در ALP می تواند عادی باشد و ارزش تشخیصی ندارد.

(e) آنزیم Sorbitol Dehydrogenase:

اسب و سگ: اختصاصی کبد

(f) آنزیم Glutamate Dehydrogenase:

نوشخوار کنندگان: اختصاصی کبد

(g) آنزیم OCT (Ornithine carbamoyl transferase):

در تمام گونه ها اختصاصیست

(h) آنزیم Lactate Dehydrogenase:

در بافت های مختلف وجود دارد پس غیر اختصاصیست و در دامپزشکی ارزشی ندارد.

(i) آنزیم GGT (Gamma glutamic transferase):

هم در بیماری های کبدی و هم انسداد مجاری صفراوی افزایش می یابد و مربوط به همه ی حیوانات است و در اینگونه بیماری های میزان آن در سرم زیاد می شود. ولی در حالت طبیعی مقداری آنزیم GGT در ادرار داریم چون این آنزیم مقداری در سلول های توبولی کلیه وجود دارد و در حالت طبیعی مقداری از این سلول ها اتولیز می شود و این آنزیم وارد توبول های کلیه می شود و در نهایت در ادرار همیشه مشاهده می شود. اگر میزان آن در ادرار نسبت به حالت عادی افزایش یابد آسیب کلیوی را نشان می دهد.

نکته: آنزیم های انسدادی ALP و GGT هستند که ALP در انسان سگ و گربه ارزش تشخیصی دارد و GGT در تمام گونه ها.

نکته: بیلی روبین کانژوگه در کولیک و گرسنگی ها افزایش می یابد و اختصاصی کبد نیست.

جلسه دوم:

بیماری های کلیوی

به سه دسته تقسیم می شوند:

- **Pre renal**: مربوط به قبل از کلیه است. هر عاملی که باعث کم شدن آب بدن شود خون رسانی را کاهش می دهد و فعالیت روزانه ی کلیه ها را کم می کند. مثل اسهال طولانی، دهیدریشن، از دست رفتن مقدار زیادی خون.
- **Renal**: مربوط به خود کلیه و قسمت های مختلف آن است

فیلتراسیون گومرولی (GFR): بهترین روش برای اندازه گیری عملکرد کلیه هاست.



مهم ترین تستی که استفاده می کنیم BUN/Creatinine است. این آزمایش ساده ترین تست برای ارزیابی عملکرد کلیویست و در خون ناشتا اندازه گیری می شود.

آزمایش های کلیرانس:

چند نوع آزمایش دارد، کلیرانس کراتینین (برای بررسی میزان تصفیه است و از همه مناسب تر است البته زمان بر است)، کلیرانس فنول سولفوفتالئین (بررسی فعالیت توپول ها)، کلیرانس اوره (بررسی فعالیت توپول ها، بررسی میزان تصفیه). (اوره هم تصفیه می شود و هم از توپول ها بازجذب و هم جذب می شود)، (کراتینین وقتی فیلتر شد نه بازجذب می شود و نه ترشح می شود).

کراتینین محصول دفعی حاصل از متابولیسم عضلات است. گلیسین آرژنین و متیونین در کبد و لوزالمعده و در عضلات تبدیل به کراتین فسفات می شوند و دفسفات می شود و به کراتین تبدیل شده و در نهایت به کراتینین تبدیل می شود. (کراتینین ماده ی مورد نظر ما در آزمایش است ، نه کراتین)

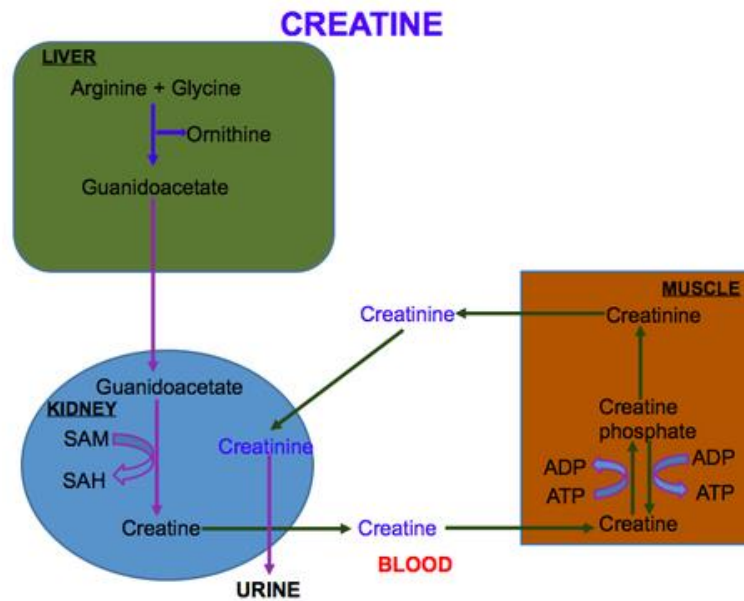


Figure1 . Creatinine synthesis

فعالیت های توپول های کلیوی: کلیرانس فنول سولفوفتالئین و اندازه گیری وزن مخصوص ادرار. فنول سولفوفتالئین یک ماده رنگی خارجیست که قسمت اعظم آن از توپول ها دفع می شود.

وزن مخصوص ادرار:

ادرار با عبور از توپول ها اصلاح می شود و عملیات بازجذب و ترشح روی آن انجام می شود و غلظت آن تنظیم می شود و هرگونه تغییر در وزن مخصوص مربوط به توپول های کلیه است

جریان خون در اطراف توپول ها:

آزمایش های تجزیه کامل ادرار:

- تجزیه فیزیکی
- تجزیه شیمیایی
- آزمایش های رسوب ادرار
- **Post Renal**: بیماری هایی که بر خروج ادرار تاثیر می گذارند مثل سنگ های مجاری ادراری و مثانه، بزرگ شدن پروستات.



بیماری های کلیوی معمولاً بیماری های حاد هستند، در واقع تشخیص ناگهانیست و باید 50 درصد یا بیشتر فعالیت توده فعال کلیه از بین رود تا بتواند خودش را در تست ها نشان دهد. بنابراین این نوع تست ها فاقد حساسیت هستند.

آزمایش های کلیرانس:

کلیرانس کراتینین، کلیرانس اوره، کلیرانس فنول سولفوفتالئین

Clearance: (U/P)xV

V: حجم ادرار در یک دقیقه

P: غلظت ماده در پلاسما

U: غلظت ماده ای که کلیرانسش را می خواهیم

در ادرار به دست بیاوریم

روش انجام:

اول به حیوان آب داده می شود، مثانه اش را خالی می کنند، آزمایش از زمانی که مثانه خالی شد شروع می شود، در ابتدا یک نمونه خون گرفته شده و نمونه خون دوم را می توان 2 ساعت 4 ساعت 12 تا 24 بعد گرفت، در این مدت ادراری که تشکیل شده جمع آوری می شود بر روی حجم ادرار، غلظت ادرار در ابتدا و انتهای آزمایش محاسبات را انجام می دهیم.

نکته : آلبومین هم در ادرار و هم در خون اندازه گیری می شود اگر پروتئین در ادرار باشد و هاپیو آلبومینمی باشد، مشکل در تصفیه گلوبولین داریم.

کلیرانس سهمی (Fractional Clearance)

همان کلیرانس است ولی مربوط به الکترولیت است.

$$FE_{Na} = \frac{Urine_{Na}}{Plasma_{Na}} / \frac{Urine_{Cr}}{Plasma_{Cr}} \times 100$$

فرمولش نسبت به کلیرانس کراتینین سنجیده می شود.

BUN (Blood urea nitrogen):

ازت اوره ی خون، محصول دفعی حاصل متابولیسم پروتئین هاست . پروتئین ها شکسته می شوند و آمونیاک در روده تولید می کنند، آمونیاک به کبد رسیده و در سیکل اوره شرکت می کند سپس به اوره تبدیل شده و از طریق کلیه ها دفع می شود. میزان جذب اوره با میزان جریان ادرار نسبت معکوس دارد و به همین خاطر سفارش می شود که آب زیاد تری بخوریم تا میزان دفع اوره بیشتر شود. در حالت معمولی اگر بیشترین میزان جریان ادرار را داشته باشیم 40 درصد اوره باز جذب می شود و وقتی بدن دهیدره باشد و جریان ادرار کاهش یابد تا 70 درصد اوره باز جذب می شود.

BUN و اوره از نظر عددی به هم قابل تبدیل هستند و در تست های آزمایشگاهی هر دو را اندازه نمی گیرند. چون BUN یک قسمت از اوره است.

Urea=BUN X 2.14

2.14 وزن مولکولی اوره است.

• نقش دستگاه گوارش نوشخوارکنندگان و اسب در دفع اوره:

در نوشخوار کنندگان اوره توسط باکتری های اوره آز مثبت در شکمبه به آمونیاک تبدیل می شود و این آمونیاک در شکمبه به مصرف سنتز پروتئین ها و اسید های آمینه می رسد. نوشخوارکننده ای که در مناطقی که فقیر از ازت باشد زندگی کند برای سنتز پروتئین خود می تواند از همین آمونیاک استفاده کند



ممکن است یک نوشخوار کننده ای مشکل کلیوی داشته باشد، انتظار داریم که میزان اوره بالا رود ولی اگر این نوشخوارکننده جیره فقیر از ازت داشته باشد و برای سنتز پروتئین از آمونیاک استفاده کرده باشد. در این صورت اوره ی این نوشخوار کننده از دستگاه گوارش دفع می شود و اوره پایین یا نرمال است و نمی توان گفت مشکل کلیوی ندارد. **بنابراین اندازه گیری BUN در نوشخوارکنندگان برای تشخیص بیماری کلیوی آزمایش حساسی نیست و کراتینین نسبت به BUN حساس تر است.**

به طور کلی BUN و کراتینین تست های حساسی نبودند (در همه ی حیوانات) در واقع باید دو سوم توده فعال کلیه از بین رود تا بیماری در آزمایش نشان داده شود ولی در **نوشخوار کنندگان و اسب** کراتینین نسبت به BUN شاخص حساس تری برای بررسی عملکرد کلیه هاست.

ازوتمی (Azotemia)

افزایش ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی مثل اوره کراتینین آمونیاک اسید های آمینه و اسید اوریک را ازوتمی می گویند که به طور روتین افزایش اوره و کراتینین اندازه گیری می شود.

دلایل ازوتمی:

1 Pre Renal

مشکل کلیوی نداریم. افزایش تولید اوره. کاتابولیسم پروتئین ها زیاد شود، خونریزی در محوطه شکمی، نکروز بافتی، تب، عفونت، گرسنگی ها، تمرینات طولانی. این ها همگی مواردی هستند که کاتابولیسم پروتئین ها را زیاد می کنند و در نهایت تولید اوره زیاد می شود و ازوتمی ایجاد می شود. کاهش دفع اوره: زمانی که خونرسانی به کلیه ها کاهش پیدا کند مثل مواقعی که شاهد شوک، دهیدریشن، خونریزی های شدید هستیم.

2 Renal

وقتی سه چهارم یا دو سوم توپول ها از بین رود کلیه ها مشکل پیدا می کنند و BUN/Creatinine افزایش می یابد.

مثل ایسکمی هایی مربوط به مشکلات دارو هاست (دارو های نفروتوکسیک)

افزایش هموگلوبین و میوگلوبین از مواردیست که ازوتمی های کلیوی ایجاد می کند. این ها پروتئین های ریزی هستند که اگر میزانشان بیش از حد آستانه ی کلیوی باشد روی نفوذ پذیری کلیه ها اثر بگذارند و مشکلات کلیوی ایجاد کنند.

3 Post renal

انسداد در مجاری ادراری مثل سنگ، تومور و التهاب باعث عدم دفع اوره شده ، اوره به خون برگردد و شاهد ازوتمی باشیم.

• تفاوت اورمی با ازوتمی:

ازوتمی یک اصطلاح آزمایشگاهیست و اورمی یک اصطلاح بالینی است.

ازوتمی: افزایش ترکیبات NPN در خون است که به طور کلی افزایش کراتینین و BUN را اندازه می گیرند و اگر افزایش یافته باشد میگوییم این حیوان ازوتمی شده.

اورمی: زمانی که علائم بالینی ازوتمی را ببینیم می گوئیم این حیوان اورمیک شده.

فنول سولفتالئین: یک ماده رنگیست که ده درصدش از طریق کبد دفع می شود و یک ماده تزریقیست که از خارج وارد بدن می شود ، اگر وزن است، 90 درصد این ماده از طریق کلیه ها دفع می شود، از این 90 درصد، 5 درصد از طریق گومرول ها و 85 درصد باقیمانده از توپول ها دفع می شود. بنابراین این آزمایش برای بررسی فعالیت توپول ها به کار می رود.



وزن مخصوص ادرار: یکی دیگر از مهمترین آزمایش هایی که برای عملکرد توبول ها استفاده می شود، آزمایش وزن مخصوص ادرار است. برای تفریق ازوتمی های Prerenal و Renal هم استفاده می شود. اگر هم BUN و هم Creatinine زیاد باشد مشکوک به ازوتمی می شویم، اگر وزن مخصوص ادرار کاهش یافته بود بیماری Renal یا کلیوی است و اگر وزن مخصوص افزایش یافته بود Prerenal یا پیش کلیوی است.

وقتی بدن دهیدره باشد و مشکلات Prerenal داشته باشد، در قست دیستال توبول ها بازجذب آب در اثر کاهش ترشح هورمون آنتی دیوریتیک آب بازجذب می شود و وزن مخصوص ادرار بالا می رود و ادرار غلیظ می شود.

اگر کلیه ها مشکل داشته باشند: یکی از وظایف کلیه ها تغلیظ ادرار است، اگر کلیه مشکلی داشته باشد وزن مخصوص ادرار کاهش می یابد.

:(UA) Urinalysis

آزمایشات تجزیه ادرار است. برروی ادرار ناشتا انجام می شود و نباید و تاخیر در انجام آزمایش نباشد. تمامی پروسه ها باید بر روی ادرار تازه انجام شود. در صورت تاخیر اجازه تکثیر باکتری ها را می دهیم که اکثرا اوره از مثبت اند که اوره را به آمونیاک تبدیل می کنند و باعث قلیایی شدن ادرار می شوند و در این شرایط اگر سلولی در ادرار باشد اتولیز می شوند، کست ها یا کریستال هایی که در ادرار هستند ممکن است از بین روند و کریستال های جدید تشکیل شود.

اگر در شرایطی مجبور شدیم که پس از زمانی آزمایش را انجام دهیم می توان ادرار را در 4 درجه نگهداری کرد. از تولوئن یا تیمول یا از فرمالین 40 درصد می توان استفاده کرد. البته باز هم ترجیح داده می شود که نمونه ی ادرار تازه را برای آزمایش استفاده کرد.

آزمایشات فیزیکی ادرار مربوط به رنگ، حجم، شفافیت و کدورت و حضور کف در ادرار و وزن مخصوص (Specific Gravity) می شود

رنگ ادرار :

در حالت طبیعی زرد تا کهربایی رنگ است البته در اسب سالم ادرار تازه زرد است ولی اگر بماند، قهوه ای تا سیاه می شود. دلیل این تغییر رنگ پیروکاتشین است که اکسید می شود و رنگ قهوه ای تا سیاه را به وجود می آورد.

علل تغییر رنگ ادرار

- خون در ادرار یا هماچوری
- حضور هموگلوبین در ادرار
- مواد صفراوی مثل بیلی روبین کانژوگه (در مشکلات کبدی)
- حضور برخی از دارو ها مثل فنول فتالین.

کدورت یا شفافیت: ادرار سالم و طبیعی شفاف است و اگر بماند به دلیل تشکیل کریستال توسط املاح ادرار کدر می شود. ادرار تازه و طبیعی اسب سالم کدر است چراکه کریستال های کربنات کلسیم دارد و همیشه حضور موکوز یا مخاط در ادرار اسب باعث کدورت ادرار می شود.

دلایل کدورت ادرار:

- ماندن ادرار
- حضور کریستال ها و کست ها
- مخاط و موکوس

کف در ادرار:

- اگر ادرار را در لوله آزمایش بریزیم و شدید تکان دهیم کف سفیدی ایجاد می شود.
- اگر کف دیرتر محو شود نشان دهنده حضور پروتئین در ادرار است.
- اگر کف قرمز/ قهوه ای ایجاد شود ، هموگلوبین داریم
- کف زرد / قهوه ای یا سبز حضور بیلی روبین یا املاح صفراوی را نشان می دهد.

بوی ادرار:

- بوی آمونیاک نشان دهنده تکثیر باکتری ها.
- بوی گندیدگی نشان دهنده حضور پروتئین در ادرار.
- بوی استون نشان دهنده حضور اجسام کتونیکست.



وزن مخصوص ادرار (Specific Gravity)

با حجم ادرار رابطه معکوس دارد.

در چه مواردی وزن مخصوص کاهش می یابد:

- نوشیدن آب فراوان
- دیابت بی مزه
- بیماری های کلیوی (ادرار به خوبی ؟؟؟ می شود و وزن مخصوص ادرار پایین می آید)

افزایش وزن مخصوص ادرار

وقتی بدن دهیدره می شود آب باز جذب می شود و وزن مخصوص ادرار افزایش می یابد.

استثنا : 1) در دیابت قندی هم حجم ادرار زیاد می شود و هم وزن مخصوص ادرار زیاد می شود، 2) در بیماری های حاد کلیوی و انتهای بیماری های مزمن هم حجم و هم وزن مخصوص ادرار کاهش می یابد.

PH ادرار در علف خواران قلیایی است و در گوشتخواران و نوزاد علف خواران (به خاطر اینکه شیر می خورند) اسیدی است.

موارد تاثیر گذار روی PH ادرار:

- نوع غذایی که خورده می شود
- فعالیت های شدید
- التهاب مثانه (باعث عدم خروج ادرار می شود به این ترتیب باکتری های اوره آز مثبت در مثانه رشد می کنند و PH را قلیایی می کنند).
- گرسنگی
- تب
- درمان های دارویی

ادرار سالم فاقد پروتئین است. ساختار به صورتی است که پروتئین های درشت مثل آلبومین نمی توانند عبور کنند مقداری گلبولین های کوچک عبور می کنند البته تا حد زیادی باز جذب می شوند. پس در حالت طبیعی پروتئین در ادرار نداریم. ولی در شرایط فیزیولوژیک مثل شرایط زایمان؟؟؟ فعالیت شدید عضلانی ، استرس و هیجان و جیره غنی از پروتئین به طور موقت پروتئینوری داریم.

پروتئینوری های پاتولوژیک:

- پروتئین های Prerenal که اسم دیگر آن (؟؟؟) آملینل است: یک وضعیت پاتولوژیک باعث افزایش غلظت پلاسمایی پروتئین های کوچک می شود که به راحتی از سد فیلتراسیون عبور می کنند: هموگلوبینوری ، بیماری های همولایتیک و میوگلوبینوری.

در این شرایط وقتی میزان پروتئین بیش از توانایی باز جذب توپول های پروگزیمال باشد این پروتئین ها در ادرار دفع می شوند

- گلمرولار: این بیماری گلمرولی است که سد فیلتراسیون آسیب می بیند و نفوذ پذیری انتخابی کاهش می یابد و پروتئین های بزرگ نفوذ پذیر می شوند و وارد ادرار می شوند و در نهایت شاهد هایپوپروتئینمی هستیم
- توپولی: در این نوع توپول پروگزیمال مشکل پیدا می کند و وقتی که پروتئین های کوچکی که در حالت نرمال وارد الترا فیلتر شدند به دلیل مشکل توپول های پروگزیمال باز جذب نمی شوند و پروتئینوری داریم
- معمول ترین پروتئینوری ها هموراژیک یا التهابی هستند، هر شرایطی که باعث خونریزی ادراری شود پروتئینوری هموراژیک را در پی دارد و هر گونه التهاب در این مسیر می تواند پروتئینوری ایجاد کند

در پروتئینمی های التهابی گلبول های سفید در رسوب ادرار زیاد می شوند که اصطلاحاً پیوری به آن ها گفته می شود.

در پروتئینمی های هموراژیک گلبول های قرمز در رسوب ادرار افزایش می یابد که هماچوری گفته می شود

هماچوری یا پیوری از نشانه های پروتئینمی های هموراژیک یا التهابی است.



گلوکز در ادرار:

در حالت طبیعی گلوکز در ادرار نداریم زیرا گلوکز بعد از فیلتر شدن به راحتی بازجذب می شود.

هایپر گلاسمی ، پاتولوژیک گلوکوزوریا

هایپر گلاسمی باعث می شود گلوکز زیاد شود و اگر بیش از توانایی فیلتراسیون گلومرول ها باشد و گلوکز وارد ادرار شود ممکن است گلوکوزیوری ما رنال باشد و توبول های پروگزیمال مشکل داشته باشد و به این بیماری که مادرزادی باشد که به آن سندرم فانتا؟؟ گفته می شود

کتون در ادرار:

در حالت طبیعی ادرار سالم وجود ندارد و وجود آن در ادرار ناشی از افزایش متابولیسم چربیهاست که در کتوز اولیه و ثانویه ، گرسنگی های طولانی ، مسمومیت با ؟؟؟ در میش و در دیابت قندی این اتفاق می افتد.

آزمایش خون مخفی:

خیلی مواقع پیش می آید که یک نمونه ی ادرار کدر قرمز قهوه ای در آزمایشگاه می آورند و از آزمایشگاه میخواهند تا مشکل را بررسی کنند.

علت: هموگلوبین، گلبول قرمز، میوگلوبین.

آزمایشی که برای تشخیص داده می شود occult blood test یا آزمایش خون مخفی است.

در شرایطی که ادرار قرمز قهوه ای باشد این آزمایش مثبت می شود. و خون منفی داریم

برای تفریق بین هموگلوبین، گلبول قرمز، میوگلوبین:

اول سانتریفیوژ می کنیم ، اگر بعد از سانتریفیوژ گلبول های قرمز در ته لوله جمع شد و مایع رویی شفاف و زرد رنگ بود همچوری بوده

اگر همچنان قرمز قهوه ای بود و تغییر رنگ نداد یا میوگلوبینوری است یا هموگلوبینوریست و در این شرایط یک نمونه خون حاوی EDTA از حیوان می گیریم و نمونه خون را سانتریفیوژ می کنیم اگر پلاسما شفاف بود میوگلوبینوری است و اگر پلاسما قرمز بود هموگلوبینوری است.

BUN/CREATININE بالا باشد ازوتمی داریم

اگر SG پایین بود ازوتمی رنال است (کلیوی)

اگر فسفر بالا باشد یعنی مشکل کلیوی داریم زیرا یکی از راه های دفع فسفر کلیه ها هستند

در رسوب ادرار تا 5 تا گلبول قرمز در ادرار طبیعی است. HPF

آزمایشات رسوب ادرار

نمونه مستقیم:

برای آزمایشات رسوب ادرار، ادرار را با دور پایین (1500 rpm) سانتریفیوژ می کنیم و مایع رویی را دور می ریزیم و از رسوب روی لام می گذاریم و لامل را روی آن می گذاریم و زیر میکروسکوپ آن را بررسی می کنیم. می توانیم رسوب را با گیمسا رنگامیزی کنیم و سپس آن را مشاهده کنیم.

در زیر میکروسکوپ چه چیز هایی را می بینیم



- سلول ها: گلبول های سفید، RBC، سلول های اپیتلیال
- کست ها و کریستال ها
- عوامل عفونی مثل باکتری ها و قارچ ها

تاخیر در آزمایشات رسوبی

تاخیر در آزمایشات رسوبی باعث می شود سلول های غیر طبیعی و کست ها دجنره بشوند و کریستال های جدید تشکیل شود و یا کریستال های غیر طبیعی حل بشوند و حتی ممکن است باعث تکثیر باکتری ها شود.

در رسوب ادرار با لنز 40 یا (High power field)، (HPF) تا 5 گلبول سفید عادیست و بیشتر از این مقدار غیر طبیعی نیست و به آن پیوری می گویند.

سلول ها

گلبول های سفید اکثرا نوتروفیل هستند. قطرشان یک و نیم تا دو برابر گلبول های قرمز است و ظاهر گرانوله دارند. اگر در ادرار رقیق و قلیایی باشند به راحتی لایز می شوند. افزایش تعداد گلبول های سفید در ادرار را Pyuria گفته می شود و نشانه دهنده ی عفونت در دستگاه ادراری یا تناسلی می باشد.

گلبول های قرمز هم تا 5 عدد در HPF میکروسکوپ طبیعیست. گلبول های قرمز اگر تازه باشند در نمونه های گرفته شده زرد یا قرمز رنگ هستند و اگر مدتی بماند و بعد نمونه گیری شود به دلیل آزاد شدن هموگلوبین ممکن است بی رنگ شود.

در نمونه ی ادرار تازه ای که SPG آن 1.010 تا 1.020 باشد وزن مخصوص RBC ها حالت مقعر دیسکی شکلشان را شکل می کنند و اگر وزن مخصوص بالا باشد و ادرار غلیظ باشد RBC چروکیده می شود و حالت Crenated پیدا می کند. اگر نمونه خیلی رقیق باشد گلبول قرمز باد می کند و حتی ممکن است بترکد. در وزن مخصوص کمتر از 1.008 یا PH های خیلی قلیایی گلبول قرمز باد می کند

افزایش RBC در ادرار را هماچوری می گویند. التهاب، خوریزی و تروما باعث آن می شود.

Squamous cell: سلول های اپیتلیالی هستند که از دیگر سلول های اپیتلیال بزرگ تر هستند و هسته ی گرد دارد و اضلاع آن نا مساوی است.

Transitional cell: این سلول ها گرد و کوچک اند و به صورت کلاستر یا دسته جات کنار هم قرار می گیرند.

باکتری ها: باکتری یوری پاتولوژی معمولا با افزایش تعداد گلبول های سفید در ادرار همراه است. در مواقعی دیده شده باکتری در رسوب ادرار بسیار زیاد است ولی گلبول سفید آن طبیعیست و در این موارد احتمال عفونت ثانویه می دهیم و آزمایش را تکرار می کنیم. در جایی که باکتری وجود دارد حتما گلبول سفید هم افزایش می یابد. در این مورد چند موضوع را باید برای تفسیر حضور باکتری در ادرار در نظر بگیریم.

1. تعداد گلبول سفید
2. متود جمع آوری ادرار
3. تعداد و نوع باکتری جدا شده

تفسیر نتایج

- اگر تعداد کمی باکتری در نمونه ادراری که در نمونه ادرار voided (نمونه ادراری که حیوان به صورت خود به خودی ادرار کرده باشد که طبیعتا استریل نیست) وجود داشته باشد، و حضور پیوری را شاهد نباشیم اصلا اهمیت پاتولوژی ندارد
- اگر تعداد زیادی باکتری از یک نوع در هر نمونه ادراری اهمیت پاتولوژیک دارد (چه در نمونه ی voided و چه در سیستمستریز)
- هر باکتری که در نمونه ی سیستمستریز وجود داشته باشد، حتی اگر گلبول سفید نبینیم اهمیت پاتولوژیک دارد



حضور کریستال ها در ادرار نشاندهنده ی ایجاد سنگ های ادراری است و یا می تواند مقدمه ی تشکیل سنگ های ادراری باشد. معمول ترین و مهم ترین کریستال ها:

- **Struvite:**

کریستال های بی رنگ، سه بعدی، شبیه منشور یا تیغ ریش تراش. نشاندهنده ی عفونت دستگاه ادراری با باکتری های اویره آز مثبت هستند.

- **Bilirubin:**

به دو صورت وجود دارند. بعضی سوزنی شکل هستند که روی سلول زمینه ای رسوب می کنند و برخی سیلندری هستند که روی قطرات چربی قرار می گیرند و حالت چراغ قوه را ایجاد می کنند. این کریستال ها نشاندهنده ی پروسه های کلستاتیک (انسداد مجاری صفراوی) هستند. در انسداد مجاری صفراوی یرقان های Post hepatic داریم که بیلی روبین کانژوگه زیاد می شد و به راحتی وارد ادرار می شود چون محلول در آب است.

- **Ca carbonate:**

این کریستال ها در ادرار اسب در حالت طبیعی وجود دارند. کریستال های کروی بیضی کروی دمبلی شکل یا حتی با خطوط شعاعی هستند که به راحتی دیده می شوند

- **Ca oxalate Dihydrate:**

شبیه پاکت نامه و بی رنگ هستند. در اختلالات متابولیسم کلسیم دیده می شوند. در مسمومیت با اتیلن گلایکول دیده می شوند.

سوال امتحان به صورت Case report: حضور تعداد زیادی کریستال های کلسیم اگزالات دهیدرات در ادرار سگ یا گربه ی مبتلا به نارسایی کلیوی مسمومیت با اتیلن گلایکول است. BUN CREATININ بالا وزن مخصوص نیز بالاست.

کست ها:

ساختار های سیلندری از جنس موکوپروتئین تام-هورسفال هستند که در ادرار غلیظ و اسیدی تشکیل می شوند

این موکوپروتئین توسط لوپ هنله، توپول دیستال به مجاری جمع کننده ادرار ترشح می شود. در PH قلیایی محلول هستند و در PH های اسیدی نا محلول می باشند. تشکیل کست ها می تواند در حضور یا عدم حضور سلول ها باشد.

- **Hyaline casts**

از جنس موکوپروتئین تام-هورسفال هستند و بدون حضور سلول تشکیل می شوند. بافت صاف و اضلاع موازی دارند. شاخص انکساری نزدیک به محیط اطرافشان است و دیدن آن ها بسیار سخت است و در مواردی که دبری های ادرار و قطرات چربی روی آن ها بچسبند و همچنین روشنایی میکروسکوپ را کم کنیم ممکن است آن ها را ببینیم. در حالت طبیعی ادرار اگر غلیظ و اسیدی باشد، تا حدود 1 تا 2 عدد از این کست ها را در LPF میکروسکوپ (لنز 10X) می توانیم ببینیم. زمانی که پروتئینوری داشته باشیم این کست ها زیاد می شوند زیرا پروتئین های اضافی خودشان باعث تغییر ماهیت و رسوب این پروتئین ها می شوند و آن ها افزایش می یابند.

- **Cellular, Granular, Waxy Cast**

این سه نوع کست در حضور سلول ها ایجاد می شوند. مراحل مختلف دجنریشن سلول را نشان می دهند.

حضور هر کدام از آن ها به چه چیزی بستگی دارد؟

- مدت زمانی که کست قبل از دفع در توپول مانده باشد
- محل تشکیل کست در توپول



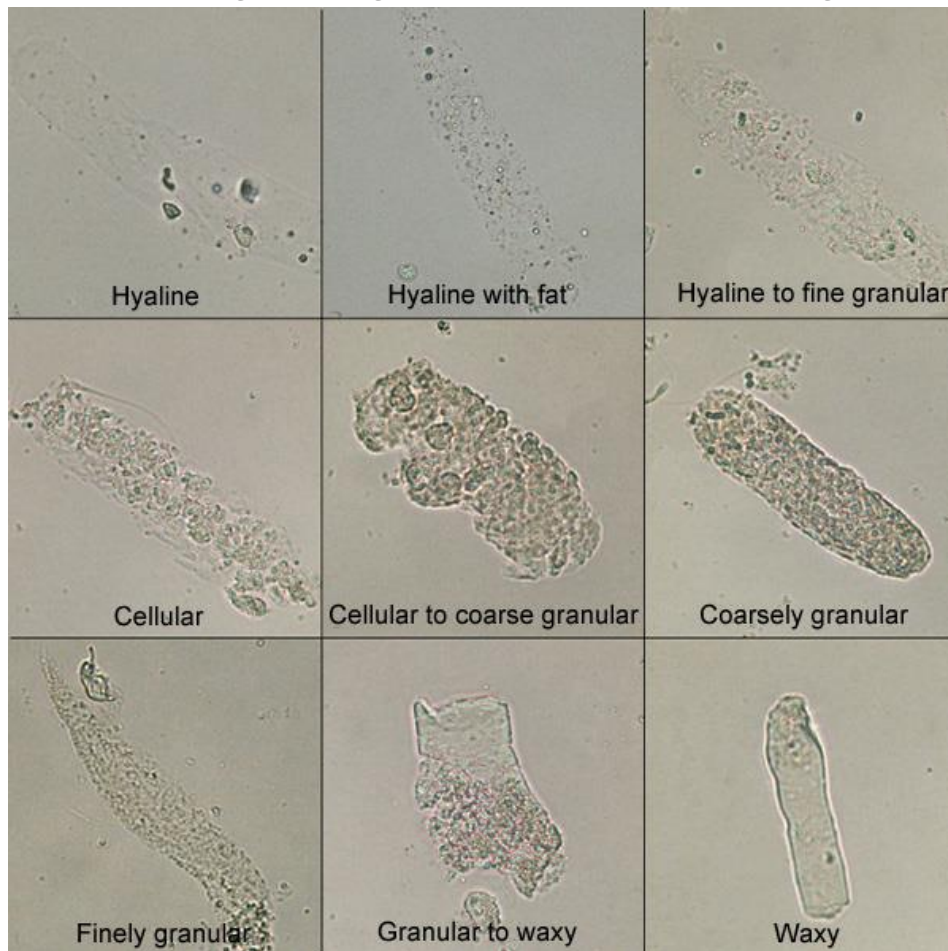
وقتی آسیب سلولی به توپول ها وارد شود، سلول های توپولی کنده می شوند و داخل ماتریکس موکوپروتئینی ل می افتند و کست سلولی را ایجاد می کنند. اگر جایی تشکیل شوند که در قسمت های اولیه دستگاه ادراری باشند به مرور زمان دجنره می شوند و حالت گرانوله پیدا می کنند (فقط هسته هایشان می ماند) و اگر زمان بیشتری در توپول بماند یکدست می شود و حالت واکسی یا مومی پیدا می کند.

کست های مومی نشانگر بیماری های مزمن توپولی هستند ولی کست های سلولی بیماری های حاد توپولی را نشان می دهند.

- شمارش گلبول های سفید و قرمز: Cell/HPF(40)
- شمارش دیگر سلول ها: Few, Moderate, Many
- شمارش کست ها: Type of the cast, 5-10/LPF(10)

تفسیر کست ها

- در حالت طبیعی کست وجود ندارد یا خیلی کم است و عدم وجود کست، وجود بیماری کلیوی را رد نمی کند.
- تعداد کست ربطی به شدت بیماری ندارد.
- دفع کست متناوب و دوره ای است.
- کست ها ناپایدارند و بعد از مدتی ممکن است در ادرار از بین بروند خصوصا در زمانی که ادرار قلیایی یا رقیق باشد کست ها حل می شوند.



جلسه سوم

انسولین مسئول ورود گلوکز به داخل سلول هاست ولی نه همه ی سلول ها.

سلول های هدف انسولین سه بافت اصلی بدن هستند:

- بافت چربی
- عضلات
- کبد

سلول های این بافت ها برای اینکه بتوانند از گلوکز استفاده کنند باید از انسولین کمک بگیرند تا گلوکز اجازه ورود به سلول ها را پیدا کند
یک تعدادی از سلول ها هستند که مستقل از انسولین عمل می کنند و برای استفاده از گلوکز و صرف انرژی نیاز به وجود حتمی انسولین ندارند و
گلوکز آزادانه وارد سلول ها می شود.

مثال: (سوال امتحان)

- RBC
- سلول های توپولی کلیه
- نوروں های عصبی

چگونه انسولین قند خون را پایین می آورد؟

زمانی که غذا خورده می شود، گلوکز وارد خون می شود و قند خون بالا می رود و هایپرگلیسمی باعث ارسال پیامی به سلول های بتا در جزایر لانگرهانس می شود، انسولین ترشح می شود و انسولین باعث ورود گلوکز به سلول ها می شود و قند خون کاهش می یابد.
انسولین علاوه بر ورود گلوکز به سلول ها وظیفه ی ورود اسید های آمینه به سلول ها را هم بر عهده دارد، بنابراین در عضلات حضور انسولین باعث می شود گیرنده های گلوکز و اسید های آمینه هر دو تحریک شوند و این مواد وارد سلول ها گردند.
در عضلات گلوکز وارد سلول می شود و تبدیل به گلیکوژن می شود که به عنوان منبع انرژی ذخیره می شود، علاوه بر این اسید های آمینه هم با حضور انسولین وارد عضلات می شوند و برای سنتز پروتئین استفاده می شوند.
در کبد انسولین باعث جذب گلوکز به سلول های کبدی می شود و گلوکز در کبد تبدیل به گلیکوژن می شود.
در بافت چربی هم افزایش جذب گلوکز به سلول های چربی را داریم که باعث می شود سلول های چربی برای منبع انرژی خود از گلوکز استفاده کرده و ذخایر چربی خود را استفاده نکند.
به این ترتیب به کمک انسولین بدن ذخایر انرژی خودش را پایدار نگه می دارد.

در دیابت وقتی انسولین نباشد همه ی این اتفاقات برعکس رخ می دهد:

گلوکاگون از سلول های آلفا در جزایر لانگرهانس ترشح می شود و عملش برعکس انسولین است و قند خون را افزایش می دهد. با به تحرک درآوردن منابع انرژی ذخیره ای، توسط عمل گلائیکوژنولیز، انرژی را آزاد می کند.

گلوکاگون:

- لیپولایتیک: چربی ها را لیز می کند و برای کسب انرژی می سوزاند.
- گلائیکوژنولایتیک است یعنی گلیکوژن را لیز می کند و تبدیل به گلوکز می کند.
- کتوژنیک: تولید کتون بادی ها که در اثر متابولیسم چربی ها اتفاق می افتد.
- گلائیکوژنوژنیک: اسید های آمینه را تبدیل به گلوکز می کند



سوماتوستاتین هورمون دیگری است که از سلول های دلتا از جزایر لانگرهانس ترشح می شود و وظیفه ی آن مهار ترشح انسولین و در برخی موارد مهار ترشح گلوکاگون است. یک پلی پپتید پانکراسی هم داریم که توسط سلول های F ترشح می شوند این سلول ها کمترین تعداد را در جزایر لانگرهانس هستند و نقش مشخصی برای آن ها یافت نشده.

بیماری متابولیک دیابت ملیتوس (دیابت شیرین):

نکته: خود دیابت به معنای پراداری است. دیابت شیرین هایپرگلیسمی داریم و قند خون بالاست، گلوکز وارد ادرار می شود، فشار اسمزی بالا می رود و جلوی بازجذب آب را می گیرد که در نهایت موجب پر ادراری می شود. که پر ادراری و دفع گلوکز در ادرار را داریم.

در دیابت بی مزه آنتی دیورتیک هورمون نقش دارد. این هورمون در حالت طبیعی از هیپوفیز ترشح می شود (در هنگام کم آبی بدن) و بازجذب آب را زیاد می کند و از دفع آب جلوگیری می کند و وزن مخصوص ادرار را بالا می برد. زمانی که آنتی دیورتیک هورمون توسط مشکلات هیپوفیز ترشح نشود یا گیرنده های آن که در سلول های توبول دیستال قرار دارند، مشکل پیدا کنند و جلوی عمل آن را بگیرند پر ادراری داریم.

هایپر گلیسمی فیزیولوژیک:

هایپر گلیسمی فیزیولوژیک موقتی است و در شرایط فیزیولوژیک مثل ترس اضطراب هیجان به وجود می آید، در استرس گلوکوکورتیکوئید ها ترشح می شوند که باعث ترشح گلوکاگون و گلوکونولیز می شوند و قند خون را بالا می برند.

در شرایط دایستروس هم به خاطر حضور پروژسترون آزاد شده از جسم زرد هورمون رشد آزاد می شود که وظیفه ی آن تداخل در جذب گلوکز در سلول های چربی است و موجب بالا رفتن قند خون می شود.

هایپر گلیسمی پاتولوژیک:

همان دیابت ملیتوس (دیابت شیرین، دیابت قندی)

- نوع یک: نام دیگر آن دیابت جوانیل (juvenile diabetes) است. Insulin dependent diabetes mellitus است و این جا سلول های بتا از بین رفته اند و اصلا انسولین ترشح نمی شود. این اتفاق می تواند در اثر ویروس اوریون، یا بیماری های autoimmune سلول های بتا از بین رفته و انسولین وجود ندارد.
- نوع دو: مربوط به فرم بالغین است، None dependent diabetes mellitus در این نوع انسولین وجود دارد ولی نمی تواند عمل کند، این اتفاق می تواند توسط مشکلاتی در گیرنده های انسولین باشد یا حتی ترشح آنتی بادی علیه انسولین می تواند موجب این اتفاق شود. چاقی و ژنتیک می تواند.

دیابت ثانویه:

در این نوع دیابت، مشکل در جای دیگری است، مربوط به پانکراس نیست و به طور ثانویه آثار خود را نشان می دهد. برای مثال تومور تیروئید، هایپر تیروئیدسم (هورمون های تیروئیدی خودشان یک مقاومت انسولینی ایجاد می کنند و نمی گذارند انسولین کار خود را انجام دهد). تومور سلول های آلفا (باعث ترشح میزان زیادی از گلوکاگون می شود).

مهم ترین علائم کلینیکی دیابت:

• پراداری

• پرنوشی

• پرخوری

دلیل لاغری این است که منابع انرژی آن ها که چربی و پروتئین ها هستند سوزانده می شوند.

در نهایت لاغری، حساسیت به عفونت های جلدی، افزایش فشار خون، از کارافتادن کلیه ها، خونریزی شبکیه، تضعیف بینایی، تاثیر روی اعصاب و افزایش فشار خون را در این بیماران شاهد هستیم.



علائم آزمایشگاهی:

- هایپرگلیسمی
- ازوتمی های پیش کلیوی (ناشی از دهیدریشن)
- افزایش BUN/Creatinine که اول Prerenal است و کم کم از نوع Renal می شود. کتون بادی ها در خون افزایش می یابد.
- متابولیسم چربی ها مختل می شود و آنزیم های کبد ALT و AST افزایش می یابد.
- تابلوی خونی استرس، نوتروفیلی، لنفوپنی و ائوزینوفنی داری
- وزن مخصوص ادرار افزایش می یابد.
- گلوکزوری
- کتون یوری

روش های مانیتورینگ دیابت:

- برای مانیتورینگ نحوه ی پیشرفت دیابت از کلستروال می توان استفاده کرد. میزان کلستروال نشان دهنده ی مزمن بودن این بیماری است. در واقع در اثر دیابت متابولیسم چربی ها به هم می خورد و کلستروال افزایش می یابد.
- علاوه بر این یک فاکتور دیگر به نام هموگلوبین a1c که برای افرادی که مشکوک به دیابت هستند علاوه بر گلوکز ناشتا هموگلوبین a1c هم تست می شود. یک قسمتی از هموگلوبین ما هموگلوبین گلیکوزیلیتد (glycosylated) یا همان هموگلوبین a1c است. گلبول های قرمز برای استفاده از گلوکز مستقل از انسولین هستند و زمانی که قند خون بالا باشد RBC ها نیازی به انسولین ندارند و گلوکز آزادانه وارد گلبول قرمز می شود و در افراد دیابتی ، هموگلوبین a1c یا همان هموگلوبین گلیکوزیلیتد یا هموگلوبین قندی شده در افراد دیابتی افزایش می یابد.

ساده ترین تست برای تشخیص دیابت: قند خون ناشتا (Fasting blood sugar)

تست تحمل گلوکز خوراکی: گاهی اوقات به شخص مشکوک یک محلول قندی استاندارد می دهند یا می گویند صبحانه بخورد و بعد هر 15 دقیقه خون گیری می کنیم در حالت طبیعی 15 دقیقه بعد از خوردن محلول گلوکز بالا می رود، 30 دقیقه طول می کشد تا گلوکز به بالا ترین میزان خود برسد، دو تا سه ساعت بعد میزان گلوکز به حد طبیعی می رسد. در دیابت قند خون ناشتا بالاتر از حد معمول است و بعد از خوردن صبحانه یا محلول استاندارد در یک فاصله زمانی کوتاهی، قند خون شدیداً بالا می شود، چون انسولین یا وجود ندارد یا نمی تواند عمل کند و با شیب ملایم تری کاهش می یابد چون انسولین نمی تواند کارش را به خوبی انجام دهد و زمان بیشتری طول می کشد تا قند خون پایین بیاید و حتی بعد از سه ساعت نیز به حد اولیه خود نمی رسد و اصطلاحاً در دیابت می گوئیم که کاهش تحمل گلوکز را داریم.

ممکن است که آشفتگی و اختلال در جذب روده ای داشته باشیم و وقتی محلول استاندارد گلوکز خورده می شود، دیابت وجود ندارد ولی اصلاً گلوکز وارد خون نشده. در این مورد حتی یک ساعت بعد از تجویز قند، میزان گلوکز افزایش پیدا نکرده.

تومور سلول های بتا: در این شرایط چون انسولین به میزان زیادی ترشح شده گلوکز خون نیم ساعت تا یک ساعت بعد از تجویز به کمتر از حد خودش می رسد. در این شرایط افت قند خون را در حد هایپوگلیسمی داریم.

تست وریدی تحمل گلوکز (IVGGT):

مثل تست قبلست و زمان هایش کوتاه تر است زیرا محلول گلوکز داخل ورید تزریق می شود و سریع تر انجام می گیرد. در این آزمایش 5 تا 10 دقیقه طول می کشد که قند خون به بالا ترین حد خود برسد و نیم ساعت طول می کشد تا به میزان طبیعی بازگردد.



تظاهرات دیابت ملیتوس بر حسب شدت بیماری:

مراحل دیابت به 4 مرحله تقسیم شده ولی الزاما اینطور نیست که همه ی این مراحل پشت سر هم و به ترتیب انجام شود:

- 1) مرحله ی Pre clinical : دیابت مخفی به آن می گویند و مرحله ای است که قند خون ناشتا طبیعی است و بالا نیست و اگر تست FPS داده شود نرمال است ولی در تست تحمل گلوکز خوراکی مشخص می شود که انسولین میزانش کم است و نتوانسته قند خون را در فاصله ی زمانی لازم پایین بیاورد
- 2) مرحله Hyper glycemia آشکار: زمانیست که قند خون ناشتا هم افزایش می یابد.
- 3) گلوکوزیوری زمانیست که گلوکز اضافی وارد ادرار شده و به طور آشکار گلوکز یوری داریم.
- 4) مرحله ی کتواسیدوز: مرحله ی آخر است و زمانیست که چربی ها متابولیسم می شوند و کتون ها تولید می شوند و کتونمی و کتون یوری داریم.

پانکراس اگزوکراین:

پانکراس برون ریز است و دارای سلول های آسینیست که آنزیم های لازم در هضم هر سه دسته مواد غذایی را ترشح می کنند. ترشحات برون ریز پانکراس دو قسمت هستند:

- 1) غلیظ و چسبنده که غنی از پروتئین هستند و آنزیم های هضم کننده مواد غذایی هستند
- 2) آبکی حاوی الکترولیت ها که مقدار زیادی یون بیکربنات دارد.

برای هر سه دسته ماده غذایی آنزیم های خاص خودش را دارد. آنزیم های پروتئولیتیک تریپسین کمو تریپسین کربوکسیل پپتیداز آنزیم ها آمیلولیتیک ، برای کربوهیدرات ها آمیلاز، آنزیم های لیپولیتیک

آنزیم های پروتئولیتیک به صورت پرو آنزیم غیر فعال ترشح می شوند، تریپسینوژن، کمو تریپسینوژن پروکربوکسی پپتیداز ، این ها باید فعال شوند.

تریپسینوژن به تریپسین تبدیل می شود که انتروپپتیداز یا ؟؟؟ که از مخاط دوازدهه ترشح می شود، تریپسینوژن را به تریپسین تبدیل می کند ، خود تریپسین وقتی فعال شد تعداد زیادی از آنزیم های غیر فعال را به فرم فعال تبدیل می کند. تریپسین خود می تواند در پاتونز پانکراتیت نقش داشته باشد.

تست های تشخیص بیماری های پانکراس برون ریز:

تست مدفوع برای تایید حضور لیپاز در شیر ی پانکراسی. در نارسایی بخش برون ریز پانکراس وقتی مشکل وجود داشته باشد یا وقتی لیپاز نباشد، چربی ها به طور کامل هضم و جذب نمی شوند و چربی ها وارد مدفوع شده، از نظر ماکروسکوپی مدفوع زرد کمرنگ یا خاکستری رنگ می شود. از نظر میکروسکوپی ما می توانیم حضور چربی در مدفوع را با رنگامیزی Sudan III ببینیم. یک قطره محلول سودان با اسید استیک و اندکی مدفوع را روی لام میگذاریم و لامل روی آن می گذاریم، با لنز 100 مدفوع را مشاهده می کنیم. در مدفوع انسان تا 10 قطره چربی طبیعی است. این قطرات به رنگ نارنجی دیده می شود و اگر تعداد آن ها با لنز 100 در هر فیلد بیش از 10 تا باشد نشانگر عدم وجود لیپاز در شیر ی پانکراسی است.

تست مدفوع برای تایید حضور تریپسین در شیر ی پانکراس:

تریپسین وظیفه ی هضم رشته های عضلانی دارد. تریپسین می تواند ژلاتین را هم هضم کند. بنابراین مدفوع را روی فیلم رادیولوژی با آب رقیق می کنیم، ژلاتین به مدفوع اضافه می کنیم و به مدت 1 ساعت در 37 درجه نگهداری می کنیم، رادیولوژی را زیر آب می شویم. در حالت طبیعی انتظار داریم در شیر ی پانکراس وجود داشته باشد و از طریق مدفوع دفع شود. این تریپسین ژلاتین را هضم می کند، بنابراین وقتی فیلم رادیولوژی را زیر آب می شویم هیچ لخته ژلاتینی وجود ندارد ولی اگر بیماری پانکراس برون ریز داشته باشیم و تریپسین در شیر ی پانکراسی وجود نداشته باشد، این ژلاتین هضم نمی شود و بعد از شستن فیلم رادیولوژی، لخته ژلاتینی وجود دارد.



اندازه گیری آمیلاز و لیپاز در سرم:

وقتی پانکراتیت داشته باشیم آمیلاز و لیپاز در سرم افزایش می یابند. این آنزیم ها توسط پانکراس ترشح می شوند. علاوه بر پانکراس در نارسایی های کلیوی نیز افزایش آمیلاز و لیپاز را داریم زیرا راه دفع آمیلاز و لیپاز کلیه ها هستند. همینطور علاوه بر پانکراتیت در نارسایی های کلیوی، تجویز دگزامتازون، افزایش لیپاز را شاهد هستیم.

تست های جذبی:

اساس این تست ها این است که ماده را (مخصوصا روغن) به حیوان می دهیم تا بخورد. انتظار داریم حیوان روغن را هضم و جذب کند و در خون وضعیت این چربی را بررسی می کنیم

یک نمونه خون ناشتا می گیریم و چربی را (روغن زیتون یا هر روغن دیگری) به حیوان می دهیم و دو ساعت بعد نمونه خون جدید می گیریم. در حالت طبیعی خون ناشتا پلاسما شفاف دارد ولی بعد از خوردن روغن وقتی خون میگیریم پلاسما باید شیری شده باشد زیرا روغن هضم و جذب می شود و پلاسما را شیری رنگ می کند. زمانی که اختلال در پانکراس برون ریز وجود داشته باشد و لیپاز در شیر پانکراسی وجود نداشته باشد این شیر شفاف می شود ولی غیر از نبود لیپاز در شیر پانکراسی ممکن است مشکل دیگری هم وجود داشته باشد و اختلال در جذب روده ها باشد و اصلا روغن جذب نشود. برای تفریق این دو از هم زمانی که پلاسما شفاف باشد باید همراه با روغن شیره ی پانکراسی حاوی لیپاز را به خورد حیوان بدهیم و اگر بعد از خوردن دوباره ی روغن پلاسما شیری شد مشکل از پانکراس است. ولی اگر همچنان شفاف ماند و تغییر رنگی ایجاد نکرد اختلال در جذب روده است.

نکته: پلاسما طبیعی گاهی رنگ است. و شیری رنگ شدن پلاسما الزاما غیر طبیعی نیست بلکه نشان دهنده حضور چربیست.

اندازه گیری چربی کل مدفوع:

مقدار طبیعی انواع چربی ها در مدفوع 24 ساعته در سگ باید بیشتر از 7 گرم باشد

نکته: افزایش چربی مدفوع را استئاتوره می گویند

بنزوئیل تیروزیل پارا آمینو بنزوئیک اسید (B.T. PABA):

B.T. PABA یک پپتید سنتزی است که کیموتریپسین باید آن را بشکند. در صورتی که در شیر پانکراسی کیمو تریپسین وجود داشته باشد، این ماده شکسته می شود و PABA ی آن آزاد می شود و آن از ادرار دفع می شود. میزان PABA در ادرار نشان دهنده عملکرد پانکراس برون ریز از نظر کیمو تریپسین است.

آزمایش تست تحمل نشاسته:

بعد از خوردن نشاسته انتظار داریم آمیلاز از پانکراس ترشح شود و نشاسته را هضم کند تا گلوکز تولید شود. قند خون بالا می رود. اگر بالا نرفت نشان دهنده ی عدم وجود آمیلاز در شیر پانکراسی است.

بیماری های پانکراس:

پانکراتیت: مهم ترین بیماری پانکراس است.

علائم کلینیکی: حمله ی حاد و ناگهانی، درد شدید و ناگهانی شکم مهم ترین علامت پانکراتیت است. ممکن است با شوک همراه شود. اگر حیوان چند روز زنده بماند پانکراتیت حاد به فرم مزمن تبدیل می شود. اشتها ی حریصانه دارد زیرا غذا هضم و جذب نمی شود. مدفوع خاکستری، پر حجم ، چرب دارد که بوی گندیدگی دارد زیرا پروتئین ها و رشته های عضلانی هضم نشده دارد.

علائم آزمایشگاهی:

• تابلوی خونی استرس را دارد.



• آمیلز افزایش می یابد،

- دهیدراتاسیون
- اسیدوز متابولیک
- کاهش خونرسانی به کلیه ها
- ازوتمی پیش کلیوی و افزایش BUN
- هایپرلیپیدی
- هایپرگلیسمی
- افزایش کلاسترول
- آسیب کبدی
- افزایش ALT

نکته: معمولاً سگ های چاق پانکراتیت دارند.

بیماری زایی: خود لوزالمعده پر از آنزیم های هاضم است ولی همه ی این ها غیر فعال هستند و قرار است در روده فعال شوند ولی گاهی به دلیلی ممکن است آنزیم ها فعال شوند و خود عضو را آزرده کنند. در نهایت باعث التهاب و نکروز می شوند. در شرایط برگشت صفرا یا محتویات دوازدهه به داخل پانکراس، بیماری های مجاری صفراوی، ضربه، جراحات عروقی، عفونت ها باعث فعال شدن تریپسین می شوند. تریپسین بقیه ی آنزیم ها را مثل الاستاز فعال می کند. وقتی الاستاز فعال شود به دلیل وجود رشته های الاستیکی در دیواره ی عروق ضایعات خونریزی و عروقی مشاهده می شود. کالی کینین و برادی کینین را فعال می کند. نفوذ پذیری عروق را زیاد می کند و باعث ایجاد ادم می شود. تریپسین فسفو لیپاز ها را فعال می کند و غشا های فسفولیپیدی را منهدم کند و خود باعث نکروز چربی شود و موجب آزاد شدن آنزیم های بیشتر از پانکراس شود.

فقدان لیپاز سبب Steatorrhea: حضور چربی های خنثی در مدفوع.

فقدان تریپسین سبب Creatorrhea: حضور رشته های عضلانی هضم نشده در مدفوع.

پانکراتیت مزمن اگر پیشرفته شود ممکن است التهاب قسمت اندوکراین را هم در پی داشته باشد و جزایر لانگرهانس درگیر شوند سپس سلول های بتا از بین روند و قند خون افزایش پیدا کند (دلیل ایجاد هایپرگلیسمی)

در پانکراتیت مزمن افزایش آمیلاز و لیپاز وجود دارد ولی در التهاب مزمن به جایی می رسد که التهاب از بین می رود و بافت فیبروزه می رود و در آنجا دیگر آمیلاز و لیپاز افزایش نمی یابد. بنابراین در پانکراتیت اندازه گیری آمیلاز و لیپاز برای تشخیص روند و بررسی فیبروزه شدن کمک کننده است.

بیماری Juvenile acinar atrophy:

علائم شبیه فیبروز پانکراس است.

نحوه ی تفریق: فیبروز در مراحل اولیه التهاب دارد و آمیلاز و لیپاز افزایش می یابد در آتروفی چون التهاب وجود ندارد امیلاز و لیپاز افزایشی ندارد.

جلسه ی چهارم

پروتئین ها

پروتئین های مختلفی در پلاسما وجود دارد که در شرایط پاتولوژی دچار تغییر می شوند و از آن ها می توان برای ارزیابی بیماری ها استفاده کرد.

بیشترین پروتئین آلبومین است که قسمت اعظم پروتئین های پلاسما را تشکیل می دهد و بعد از آن ها گلوبولین ها از نظر میزان در رده دوم هستند. غیر از این ها پروتئین های دیگری مثل فیبرینوژن و تعداد زیادی پروتئین وجود دارد که میزان کمتری از پروتئین ها را در پلاسما شامل می شوند.

برای اندازه گیری پروتئین ها روش بیوره یک روش رنگ سنجیست که اکثر آزمایشگاه ها از آن استفاده می کنند. این آزمایش متداولاً برای اندازه گیری Total protein استفاده می شوند

ایراد این روش: حساسیت آن 1-10 g/dl است که برای اندازه گیری محلول هایی که غلظت پروتئینی کمتر از یک گرم دارند مثل ماده مغزی نخاعی استفاده نمی شوند. و برای اندازه گیری این محلول ها از روش لوری استفاده می شوند.

روش لوری (Lowry) یا فنول-فولین سیوکالتو:

این روش بسیار حساس و دقیق است و غلظت های کمتر از 1g/dl را اندازه گیری می کند.



یکی از روش هایبست که برای اندازه گیری پروتئین ها استفاده می شود. در این روش پروتئین ها بر حسب بار خالص خودشان در نقطه ی ایزوالکتریک مربوطه رسوب می کنند و با استفاده از محلول هایی که رسوب دهنده آنیونی یا کاتیونی هستند می توانیم میزان پروتئین را اندازه بگیریم. برای مثال برای اندازه گیری پروتئین ادرار از تری کلرو استیک اسید یا اسید سولفوسالیسیلیک استفاده می شود. اسید پروتئین ها را منعقد می کند و کدورت ایجاد می شود و میزان این کدورت متناسب با غلظت پروتئین در محلول است و با استفاده از اسپکتروفتومتر پروتئین اندازه گیری می شود.

روش های فیزیکی

روش انکسار سنجی:

بر حسب غلظت پروتئین ها در محلول شاخص انکساری محلول تغییر می کند و با استفاده از محلول های استاندارد ی که غلظت پروتئین ها و شاخص انکسارشان مشخص است می توان غلظت پروتئین نمونه را اندازه گیری کرد.

برای اندازه گیری میزان فیبرینوژن در پلاسما از روش انکسار سنجی استفاده می شود. فیبرینوژن حدود 5 درصد پروتئین ها را شامل می شود و در 56 درجه رسوب می کند. بر این اساس یک روش انکسار سنجی رسوبی ابداع شده. به طوری که اول در یک نمونه پلاسما به روش انکسار سنجی پروتئین اندازه گیری می کنند و سپس پلاسما را به مدت 3 دقیقه در 56 درجه انکوبه می کنند و در این مدت فیبرینوژن رسوب می کند و سپس یک بار دیگر پروتئین با روش انکسار سنجی اندازه گیری می شود و اختلاف این دو عدد میزان فیبرینوژن در پلاسما است.

تفکیک و جداسازی پروتئین های پلاسما:

- الکتروفورز: دقیق ترین روش است. چند نوع الکتروفورز داریم که در نوع ماده نگهدارنده با هم متفاوت هستند.
 - (a) الکتروفورز استات سلولز (CAE)
 - (b) الکتروفورز ژل آگار، الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید، الکتروفورز ژل نشاسته
 - (c) الکتروفورز آگارز
 - (d) ایمنو الکتروفورز (جنبه پژوهشی دارد)

در این روش مولکول ها برادار می شوند و براساس میزان حرکتشان در میدان الکتریکی از هم جدا می شوند، یون های مثبت به طرف قطب منفی و یون های منفی به سمت قطب مثبت می روند. جهت و میزان مهاجرت پروتئین ها بیشتر بر اساس نوع بار پروتئین ها و اندازه ی آنهاست.

الکتروفورز استات سلولز (CAE): دو سر محیط نگهدارنده داخل یک تانک است که PH آن مشخص است و یک PH قلیایی 8.6 دارد و قدرت یونی 0.075 دارد و جریان برق را مستقیماً به بافر وصل می کنند تا از طریق بافر به محیط نگهدارنده برسد. در حضور بافری که PH قلیایی دارد پروتئین ها بار منفی پیدا می کنند و به سمت قطب مثبت حرکت می کنند. در بین پروتئین های پلاسما آلبومین بیشترین بار منفی و بیشترین حرکت را به سمت قطب مثبت دارد. گلوبولین ها آهسته ترین حرکت را دارند. پروتئین ها وقتی در محیط نگهدارنده از هم جدا شدند قابل دیدن نیستند و از رنگ های فیکساتیو برای تشخیص پروتئین ها استفاده می شوند و با استفاده از دنسیتومتری بر اساس غلظت رنگ هایی که ایجاد شده منحنی رسم می شود.

در روش CAE، گلوبولین ها به آلفا، بتا و گاما گلوبولین تقسیم می شوند. هر کدام از گلوبولین ها به قسمت 1 و 2 شکسته می شوند که البته در گونه های مختلف تفاوت هایی وجود دارد.

در الکتروفورز استات سلولز تیزی قله ی آلبومین نشاندهنده کیفیت خوب الکتروفورز است



Alb: سگ و گربه	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\beta 1$	$\beta 2$	$\gamma 1$	$\gamma 2$
Alb: اسب و خوک	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\beta 1$	$\beta 2$	γ	
Alb: گوسفند	α	$\beta 1$	$\beta 2$	$\gamma 1$	$\gamma 2$	
Alb: انسان و میمون	$\alpha 1$	$\alpha 2$	β	γ		
Alb: بز	α	$\beta 1$	$\beta 2$	γ		
Alb: گاو	α	β	γ			

در روش ایمونوالکتروفورز یک بخش کوچکی از آلبومین به نام Pre albumin جدا می شود (فقط در انسان).

منحنی آلبومین در نمودارها نوک تیز است و در ابتدای نمودار وجود دارد.

با استفاده از الکتروفورز ژل نشاسته تشخیص پلی مورفیسم ژنتیکی آلبومین مشخص می شود و در این روش منحنی آلبومین نوک تیز نیست.

- استفاده از نمک: نمک باعث دهیدره شدن و رسوب پروتئین می شود. معمولا غلظت نمک را جوری انتخاب می کنند که با مقادیر طبیعی پروتئین های پلاسما، کدورت یا فولیکولاسیون ایجاد نشود. اگر پروتئین های پلاسما میزانشان زیاد شود کدورت ایجاد می شود.

گلوبولین ها

به سه دسته تقسیم می شوند:

- α Globulins: $\alpha 1$ and $\alpha 2$
- β Globulins: $\beta 1$ and $\beta 2$
- γ Globulins: $\gamma 1$ and $\gamma 2$

در هر کدام از بخش ها یکسری پروتئین وجود دارد

$\alpha 1$ - گلوبولین ها:

- $\alpha 1$ - لیپوپروتئین ها (HDL): کلسترول
- $\alpha 1$ - اسید گلایکوپروتئین: هورمون های استروئیدی
- $\alpha 1$ - آنتی تریپسین و $\alpha 1$ - آنتی کیموتریپسین
- $\alpha 1$ - فیتوپروتئین
- سرم آمیلوئید A

$\alpha 2$ - گلوبولینها:

- $\alpha 2$ - ماکروگلوبولین مهارکننده پروتئاز
- $\alpha 2$ - لیپوپروتئین (VLDL)
- هاپتوگلوبین (Hb)
- سرولولوپلاسمین (Cu)

β - گلوبولین ها:

- β - لیپوپروتئین
- ترانسفرین و فریتین
- هموپکسین
- فیبرینوژن و پلاسمینوژن
- کمپلمان C3 و C4
- C_Reactive Protein

γ - گلوبولین ها

- ایمونوگلوبولین ها



دو مورد ملاک قرار داده می شود:

- نسبت آلبومین به گلوبولین
- منحنی الکتروفورز پروتئین های سرم

1. گروه اول: نسبت آلبومین به گلوبولین نرمال؛ منحنی الکتروفورز نرمال است:

آلبومین و گلوبولین با هم افزایش و یا با هم کاهش می یابند

- Hyper Proteinemia (only in dehydration)
- Hypo proteinemia (over Hydration, Acute hemorrhage, External plasma loss, Internal plasma loss)

External plasma loss: سوختگی، خراش، جراحات درماتوپاتی اگزوداتیو، انگل خارجی

Internal plasma loss: آسیب های معده ای-روده ای، انگل داخلی

2. گروه دوم: کاهش نسبت آلبومین به گلوبولین؛ منحنی الکتروفورز غیر طبیعی می شود

❖ کاهش آلبومین: سندرم نفروتیک، بیماریهای دستگاه گوارش، انگلهای خونخوار، بدی تغذیه، بیماری کبدی مزمن، بیماری التهابی مزمن

نکته: در بیماری های التهابی آلبومین کاهش می یابد زیرا آلبومین از پروتئین های فاز حاد منفی است.

❖ افزایش گلوبولین:

- افزایش α_1 -گلوبولین ها: افزایش این پروتئینها در حیوانات ارزش تشخیصی ندارد.
- افزایش α_2 -گلوبولینها :

- بیماری فعال کبدی α_2 -ماکروگلوبولین
- سندرم نفروتیک: α_2 -ماکروگلوبولین، α_2 -لیپوپروتئین
- بیماری التهابی حاد: α_2 -ماکروگلوبولین، هاپتوگلوبولین، سرولوپالسمین
- افزایش این پروتئینها نشانه مهم بیماری التهابی حاد می باشد (پروتئین های فاز حاد)

• افزایش β_1 -گلوبولین ها:

- بیماری های کبدی
- درماتوپاتی های چرکی
- سندروم نفروتیک

افزایش بتا گلوبولین ها می تواند پلی کلونال یا مونو کلونال باشد

• افزایش γ -گلوبولین ها:

- پلی کلونال: گاماپاتی به صورت منتشر، مربوط به کلون هایی از پلاسما سل هاست که مخلوطی از ایمونوگلوبولین ها را می تواند تولید کند. در بیماری های هیپاتیت مزمن، آبسه های کبدی، بیماری های چرکی، بیماری های **Auto immune**

پل بتا-گاما: مشخصه ایست در بیماری هیپاتیت مزمن فعال و گاهی در لنفوسارکوم دیده می شود و هیچ تفکیکی بین بخش بتا دو گاما یک وجود ندارد و هر دو با هم در نمودار افزایش می یابند

- مونو کلونال: مربوط به کلون هایی از پلاسما سل هاست که یک طبقه از ایمونوگلوبولین ها را تولید می کند و منحنی مونوکلونال ایجاد می شود و گاما گلوبولین ها قله نوک تیز هستند و ماهیتش همیشه غیر طبیعیست.

3. گروه سوم: افزایش نسبت آلبومین به گلوبولین، منحنی الکتروفورز غیر طبیعی باشد

❖ افزایش آلبومین: هر نوع افزایش آلبومین مربوط به دهیدریشن است

❖ کاهش گلوبولین ها: سندرم های کمبود ایمنی در کره اسب عرب، فقدان گاما ایمونوگلوبولین ها در سرم جنین یا نوزادان، قبل از خوردن آغوز



واکنش های متنوع میزبان در مقابل التهاب عفونت و صدمات مکانیکی را واکنش مرحله ی حاد می گویند. در جهت ترمیم بافت و حداقل رساندن آسیب بافتی ایجاد می شوند

مثال: تب، لوکوسیتوز، افزایش تولید گلوکوکورتیکوئید ها، تغییرات هورمونی،

در کنار همه ی این ها تعدادی از پروتئین های پلاسما که توسط کبد سنتز می شوند با دخالت سایتوکاین هایی مثل TNF_{α} و اینترلوکین ها تولیدشان در کبد تغییر می کند (افزایش یا کاهش می یابند) به این پروتئین ها پروتئین های فاز حاد می گویند

اگر در التهاب و عفونت افزایش یافتند، پروتئین های فاز حاد مثبت و اگر کاهش یافتند، پروتئین های فاز حاد منفی می گویند.

اگر عفونت مدتی طول بکشد برخلاف اسمشان که حاد است در شرایط مزمن هم می توانند وجود داشته باشند

• پروتئین های منفی مرحله حاد: آلبومین و ترانسفرین

• پروتئین های مثبت مرحله حاد: هاپتوگلوبین، سرولوپلاسمین، SAA سرم آمیلوئید A، CRP (C reactive protein)، فیبرینوژن، آلفا یک اسید

گلایکوپروتئین

برخی از این ها غلظتشان تا 50 برابر افزایش می یابد مثل کمپلمان ها و سرولوپلاسمین ها برخی تا 100 برابر افزایش می یابد مثل CRP و SAA و برخی تا 3 برابر افزایش می یابد مثل فیبرینوژن و هاپتوگلوبین و در کار های تحقیقاتی از این ها استفاده می شود.

