

ارزیابی برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرمی کبد در تشخیص گاوهای مبتلا به کلانژیت و کلانژیوپاتیت

مژگان احمدی^۱، شهاب‌الدین صافی^{۲*}، پژمان مرتضوی^۳، نوردهر رکنی^۴

چکیده

کلانژیت و کلانژیوپاتیت می‌توانند منجر به نارسایی کبد در نشخوارکنندگان گردند و بیوسی کبد مطمئن‌ترین راه تشخیص آنهاست که روشی تهاجمی و پرهزینه می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی شاخص‌های بیوشیمی کبد در گاوهای مبتلا به کلانژیت و کلانژیوپاتیت، مقایسه حساسیت و ویژگی آنها با بیوسی و تخمین احتمال وقوع این بیماری‌ها با استفاده از رگرسیون لجستیک بیزین است.

تعداد ۹۰ نمونه سرم و کبد از دو کشتارگاه استان تهران جمع‌آوری شد که بعد از بررسی آسیب شناسی مقاطع کبد، مجموعاً ۱۴ نمونه مبتلا شامل کلانژیت (۷ مورد) و کلانژیوپاتیت (۷ مورد) و ۱۹ عدد سالم و بقیه مبتلا به سایر جراحات ارزیابی شدند. سپس میزان فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی مانند AST, ALT, ALP, GGT, PON1 و PKC و نیز غلظت سرمی NEFA و BHB اندازه‌گیری گردیدند. درستی تشخیصی هر پارامتر ارزیابی شد و نهایتاً رگرسیون لجستیک بیزین برای آنالیز تغییرات این متغیرها در گاوهای مبتلا و براساس مدل استفاده از بهترین متغیرها استفاده گردید.

در این مطالعه، میزان PON1 در گروه مبتلا به کلانژیت تغییری نداشت و در کلانژیوپاتیت نسبت به گروه کنترل افزایش غیرمعنی دار نشان داد ($P > 0.05$). میزان فعالیت سرمی PKC نیز در گروه مبتلا به کلانژیت و کلانژیوپاتیت نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ولی این کاهش معنی دار نبود ($P > 0.05$). NEFA در گروه مبتلا به کلانژیت افزایش غیرمعنی دار ($P > 0.05$) و BHB در گروه مبتلا به کلانژیوپاتیت کاهش معنی دار را نشان داد ($P < 0.05$). براساس مدل رگرسیون لجستیک، ALT, ALP, GGT, NEFA, BHB و PON1 متغیرهایی هستند که می‌توانند برای محاسبه احتمال کلانژیوپاتیت استفاده شوند.

واژگان کلیدی: پارامترهای بیوشیمیایی کبد، کلانژیت، کلانژیوپاتیت، گاو

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۱۹

مقدمه

در نشخوارکنندگان، بیماری کبدی - صفراوی همراه با لیپیدوز کبد، آبسه‌های کبدی، آندوتوکسمی، مسمومیت‌های گیاهی از

جمله مسمومیت با آلکالوئیدهای پیرولیزیدین، برخی بیماری‌های کلستریدیایی، فلوک‌های کبدی، مسمومیت با مایکوتوکسین‌ها و مواد معدنی (مس، آهن، روی) یا کمبود کبالت (کبالت) دیده می‌شود (۳).

کلانژیوپاتیت، التهاب شدید مجاری صفراوی و بافت کبد مجاور آن است که بندرت منجر به نارسایی کبد در اسب و نشخوارکنندگان می‌شود و می‌تواند اولیه یا ثانویه باشد که بطور ثانویه بدنبال سنگ مجاری صفراوی (cholelithiasis)، التهاب دئودنوم (duodenitis)، انسداد روده، نئوپلازی، آلودگی انگلی و برخی سموم‌ها در اسب‌ها اتفاق می‌افتد. توکسین‌های قارچی مانند Sporidesmin از Pithomyces chartarum نیز می‌توانند منجر به کلانژیوپاتیت در گوسفند و گاو شوند.

کلانژیوپاتیت، اغلب یک بیماری تحت حاد و مزمن است و دام‌های بیمار علائم بالینی مثل کاهش وزن، بی‌اشتهایی، تب متناوب یا پیوسته و دل‌درد (colic) را نشان می‌دهند (۱۱ و ۳). انسداد مجاری صفراوی (Cholestasis) و عفونت‌های بالارونده ناشی از کلانژیوپاتیت در اسب‌های مبتلا به بیماری‌های اولیه روده نظیر التهاب روده قدامی (proximal enteritis)، جابجایی پشتی-راستی کلون بزرگ (right dorsal displacement of large colon) و به میزان کمتر جابجایی پشتی-چپی کلون بزرگ (left dorsal displacement of large colon) دیده می‌شود (۱۱) علائم بالینی ناشی از کلانژیت و کلانژیوپاتیت در اسب‌ها شامل بی‌اشتهایی، تب، تغییرات رفتاری، کاهش وزن

۱- دستیار بخش کلیتیکال پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲* - دستیار گروه کلیتیکال پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. safishahab@yahoo.com
۳- دستیار گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴- استاد گروه بهداشت و موادغذایی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

مواد و روش کار

این تحقیق، یک مطالعه case-control می‌باشد و نمونه‌های خون و کبد از ۹۰ گاو هلستاین که علائمی نظیر بی‌اشتهایی و کاهش وزن را داشتند از دو کشتارگاه صنعتی در تهران گرفته شدند، چراکه امکان انجام بیوپسی کبد بعنوان استاندارد طلایی در دامداری‌ها، بدلیل خطرات احتمالی آن از جمله خونریزی، عفونت و مرگ دام و نیز پرهزینه بودن وجود نداشت. خونگیری قبل از کشتار و از سیاهرگ و داج گردن (Jugular Vein) و با استفاده از سوزن شماره ۱۸ به میزان ۵ ml و با ونوجکت‌های بدون ضدانعقاد انجام شد. همه نمونه‌های خون طی چند ساعت در مجاورت یخ به آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات واقع در شهریار منتقل شدند. سرم نمونه‌ها بلافاصله با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Hettich, EBA21 Germany) با دور ۳۰۰۰ - ۲۰۰۰ rpm جدا شده و تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد گردیدند. همچنین بعد از کشتار و بازرسی ماکروسکوپی کبد، قطعه‌ای ۲×۲ سانتیمتری از کبدها (بخصوص از قسمت‌های مجاری صفراوی ملتهب شده در صورت مشاهده)، برداشت شده و در ظروف پلاستیکی جداگانه حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد و جهت گرفتن مقاطع بافتی به آزمایشگاه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی ارسال گردیدند. مقاطع آسیب شناسی تهیه و با استفاده از رنگ هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شد و با میکروسکوپ نوری مشاهده گردید.

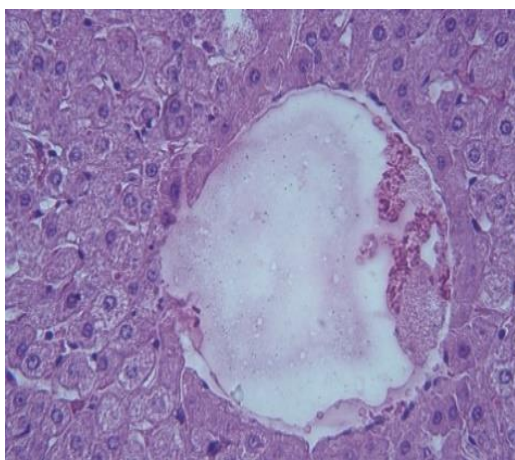
برای تشخیص لیپیدوز کبدی معمولاً فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) اندازه‌گیری می‌شوند. فعالیت‌های سرمی پاراکسوناز ۱ (PON1) و پروتئین کیناز C

مزمین، دل‌درد و زردی می‌باشد (۱۱). تغییر فعالیت آنزیم‌های کبدی در اثر آسیب سلول‌های پارانشیم کبد، انسداد مجاری صفراوی یا هر دو دیده می‌شود و بررسی آسیب شناسی بافتی و کشت باکتریایی جهت شناسایی عامل ایجادکننده انجام می‌گردد (۱). در مواردی که سبب شناسی بیماری عوامل باکتریایی باشد، آنتی‌بیوتیک درمانی طولانی‌مدت انجام می‌شود و انتخاب آنتی‌بیوتیک براساس حساسیت باکتری است ولی زمانی که عامل باکتریایی شناسایی نشود، انتخاب آنتی‌بیوتیکی که در صفرا ترشح و آزاد شود، ضروری می‌باشد (۱۱). در صورت عدم درمان، این جراحات کاهش تولید و خسارات اقتصادی را بدنبال خواهند داشت و از آنجا که علائم بالینی مختص این بیماریها نبوده و تشخیص قطعی تنها با بیوپسی کبد امکان‌پذیر است که یک روش تهاجمی و پرهزینه بوده و با احتمال خونریزی، عفونت و مرگ دام همراه می‌باشد، یافتن روشی مطمئن، ساده و ارزان کمک شایانی به صنعت دامداری و دامپزشکی خواهد نمود.

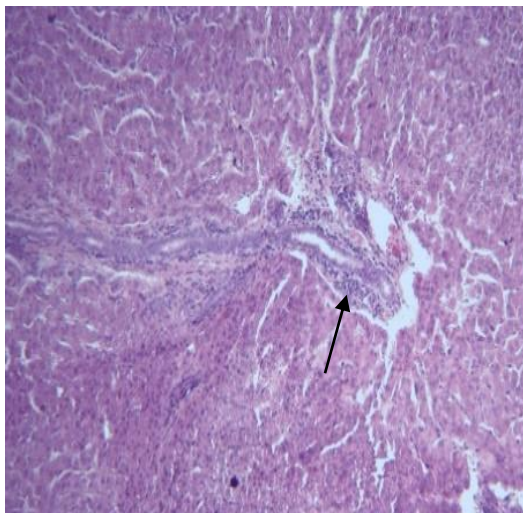
هدف مطالعه حاضر، ارزیابی برخی پارامترهای بیوشیمیایی کبد مثل آسپاراتات آمینو ترانسفراز (Aspartate aminotransferase: AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (Alanine aminotransferase: ALT)، فسفاتاز قلیایی (Alkaline phosphatase: ALP) و گاما گلوتامیل ترانسفراز (Gamma-glutamyl transferase: GGT)، پاراواکسوناز ۱ (Paraoxonase 1: PON1) و پروتئین کیناز C (Protein Kinase C: PKC) و نیز غلظت اسیدهای چرب غیراشباع (Non-esterified fatty acids: NEFA) و بتاهدروکسی بوتیرات (Beta-hydroxybutyrate: BHB) در گاوهای مبتلا به کلانژیت و کلانژیوهپاتیت و ارزیابی درستی تشخیصی آنهاست تا قابلیت استفاده آنها برای تعیین احتمال وقوع این بیماری‌ها با استفاده از روش بیژین لجستیک رگرسیون، به منظور تشخیص و جلوگیری از خسارات اقتصادی ناشی از بیماری‌های مورد مطالعه می‌باشد.

نتایج

بعد از بررسی‌های آسیب شناسی، ۱۹ نمونه سالم و ۱۴ نمونه مبتلا به کلانژیت و کلانژیوپهپاتیت (هر یک ۷ مورد) تشخیص داده شدند. بقیه نمونه‌ها، دیگر جراحات بافتی از جمله ۱۸ نمونه مبتلا به درجات مختلف کبدچرب، ۲۰ نمونه پهپاتیت چندکانونی، ۱۵ مورد پهپاتیت کانونی، ۳ مورد سیروز و یک مورد پهپاتیت ناحیه میانی را نشان دادند (نگاره‌های ۱-۳).



نگاره ۱- کبد سالم، پهپاتوسیت‌ها، دیواره رگ‌های خونی و مجاری صفراوی از نظر شکل و اندازه سلول‌ها، موقعیت هسته و سیتوپلاسم نرمال می‌باشند (H&E×40).



نگاره ۲: کلانژیت، نفوذ سلول‌های التهابی در اطراف مجاری صفراوی فضای پورتال دیده می‌شود (H&E×10).

(PKC) و نیز غلظت متابولیت‌های خونی مثل اسیدهای چرب غیراشباع (NEFA) و بتاهیدروکسی بوتیرات (BHB) نیز در مطالعه حاضر اندازه‌گیری شدند چرا که ثابت شده است که فعالیت سرمی و نیز غلظت این پارامترها می‌تواند طی لیبیدوز کبدی تغییر کند و همانطور که در بالا ذکر شد، بیماری‌های کبدی - صفراوی می‌توانند همراه با لیبیدوز کبدی در نشخوارکنندگان دیده شوند.

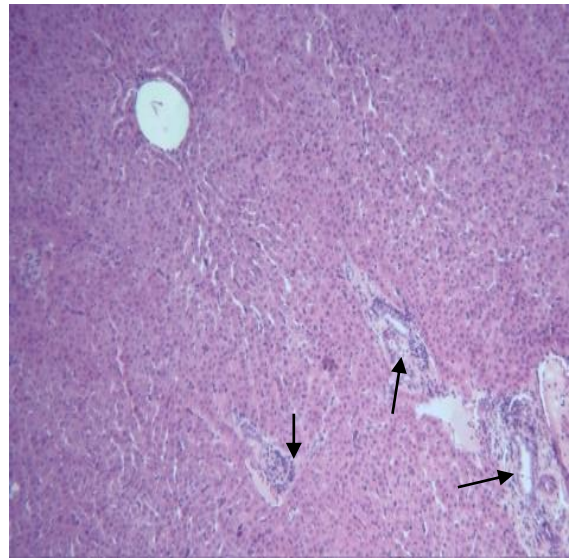
بنابراین فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) و نیز فعالیت سرمی آنزیم‌های پاراکسوناز ۱ (PON1) و پروتئین کیناز C (PKC) و نیز غلظت متابولیت‌های خونی مثل اسیدهای چرب غیراشباع (NEFA) و بتاهیدروکسی بوتیرات (BHB) اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری غلظت متابولیت‌های NEFA و BHB و میزان فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی ALT، AST، ALP و GGT به ترتیب از کیت‌های Randox انگلیس و Bionik کانادا و دستگاه اتوآنالایزر BT1500 واقع در محل آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی، کلینیک تخصصی دام‌های کوچک، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی واقع در تهران و جهت اندازه‌گیری فعالیت سرمی آنزیم‌های PON1 و PKC به ترتیب از کیت‌های الایزای Bovine Paraoxonase-1 (PON1) ELISA Kit و Bovine Protein Kinase C (PKC) ELISA Kit ساخت کمپانی East Biopharm آمریکا، استفاده شد.

تحلیل آماری

داده‌ها بصورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شدند. از تطابق پیرسون برای تعیین ضریب تطابق بین متغیرها استفاده شد. درستی بالینی PON1، PKC و دیگر آنزیم‌های کبدی با استفاده از منحنی Receiver Operating Characteristics (ROC) با سطح اطمینان ۹۵٪ (CI = ۹۵٪)، با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 20) محاسبه گردید. همچنین، از رگرسیون لجستیک بیزین برای تخمین احتمال وقوع کلانژیت و کلانژیوپهپاتیت براساس بهترین مدل استفاده شد.

جدول ۱، میانگین \pm انحراف معیار پارامترهای مورد مطالعه را در گروه های کنترل و مبتلا به کلانژیست و کلانژیوپاتیت نشان می‌دهد. براساس جدول ۱، میزان فعالیت سرمی آنزیم‌های ALT، AST، ALP، GGT، PON1 و PKC به ترتیب $18/4 \pm 6/9$ U/L، $77/6 \pm 29/03$ U/L، $104/3 \pm 42/4$ U/L، $20/2 \pm 8/1$ U/L، $104/3 \pm 22/3$ ng/ml و $28/9 \pm 11/8$ ng/ml و نیز میزان غلظت سرمی NEFA و BHB به ترتیب برابر با $0/51 \pm 0/2$ mmol/L و $0/36 \pm 0/2$ mmol/L می باشند و تغییرات آنها در گاوهای مبتلا به کلانژیست و کلانژیوپاتیت مشخص شده که این تغییرات جز در مورد BHB که در کلانژیوپاتیت کاهش معنی دار را نشان می‌دهد ($P < 0/05$)، در سایر موارد معنی دار نمی باشند ($P > 0/05$).



نگاره ۳: کلانژیوپاتیت، نفوذ سلول‌های التهابی در اطراف مجاری و نیز در بخش‌های مختلف پارانشیم کبد دیده می‌شود ($H&E \times 10$).

جدول ۱- میانگین \pm انحراف معیار پارامترهای اندازه‌گیری شده در گروه‌های کنترل و مبتلا

| P value | میانگین \pm انحراف معیار | | P value | پارامتر | |
|---------|----------------------------|-------------------------|---------|------------------|--------------|
| | کلانژیست (تعداد: ۷) | کلانژیوپاتیت (تعداد: ۷) | | سالم (تعداد: ۱۹) | |
| 0/82 | 25/00 \pm 21/7 | 15/4 \pm 8/0 | 0/38 | 18/4 \pm 6/9 | ALT (U/L) |
| 0/98 | 178/4 \pm 210/1 | 63/0 \pm 37/6 | 0/33 | 77/6 \pm 29/03 | AST(U/L) |
| 0/66 | 100/4 \pm 48/7 | 171/0 \pm 87/6 | 0/12 | 104/3 \pm 42/4 | ALP(U/L) |
| 0/93 | 20/1 \pm 13/9 | 26/6 \pm 14/5 | 0/26 | 20/2 \pm 8/1 | GGT(U/L) |
| 0/93 | 0/58 \pm 0/4 | 0/51 \pm 0/32 | 0/49 | 0/51 \pm 0/2 | NEFA(mmol/L) |
| 0/17 | 0/23 \pm 0/1 | 0/13 \pm 0/04 | 0/002 | 0/36 \pm 0/2 | BHB (mmol/L) |
| 0/84 | 104/8 \pm 34/2 | 120/9 \pm 53/8 | 0/88 | 104/6 \pm 22/3 | PON1 (ng/ml) |
| 0/09 | 19/96 \pm 13/1 | 22/5 \pm 18/3 | 0/14 | 28/9 \pm 11/8 | PKC (ng/ml) |

قدرت تشخیصی هر پارامتر با محاسبه سطح زیر منحنی Receiver Operating Characteristics (ROC) محاسبه شد. سطح زیر منحنی (AUC) برای PON1، PKC، NEFA و BHB در گروه مبتلا به کلانژیوپاتیت به ترتیب 0/52، 0/69، 0/59 و 0/90 است، درحالیکه در گروه مبتلا به کلانژیست به ترتیب 0/53، 0/72، 0/51 و 0/68 می‌باشد.

جدول ۲، آزمایش تطابق پیرسون، تطابق بین متغیرها را در گروه کنترل و گاوهای مبتلا به کلانژیست و کلانژیوپاتیت نشان می‌دهد. در این جدول میزان تطابق پارامترهای اندازه‌گیری شده بصورت دو به دو و در سه گروه سالم، گاوهای مبتلا به کلانژیست و گاوهای مبتلا به کلانژیوپاتیت بررسی و نشان داده شده است.

جدول ۲- تطابق پارامترهای اندازه گیری شده در گروه‌های کنترل و تست

| تطابق پیرسون | | | | | | | | نتیجه مطالعه پاتولوژی |
|--------------|---------|----------|------------|---------|----------|---------|---------|-----------------------|
| PKC | PON1 | BHB | NEFA | GGT | ALP | AST | ALT | |
| ۰/۰۹۰ | ۱ | ۰/۱۱۱ | - ۰/۱۰۸ | - ۰/۲۰۶ | - ۰/۳۲۴ | - ۰/۱۸۸ | ۰/۳۲۶ | PON1 |
| ۱ | ۰/۰۹۰ | - ۰/۰۶۰* | - ۰/۰۵۷۸** | - ۰/۰۳۲ | - ۰/۰۳۲۰ | - ۰/۰۵۶ | ۰/۱۸۹ | PKC |
| ۰/۹۶۸** | ۱ | - ۰/۲۶۳ | - ۰/۰۸۶ | - ۰/۲۵۷ | ۰/۵۱۲ | ۰/۵۷۲ | ۰/۶۰۸ | PON1 |
| ۱ | ۰/۹۶۸** | - ۰/۳۰۳ | - ۰/۲۳۴ | - ۰/۳۲۸ | ۰/۵۴۹ | ۰/۶۰۲ | ۰/۵۹۰ | PKC |
| ۰/۸۹۹** | ۱ | ۰/۲۶۶ | - ۰/۶۱۸ | - ۰/۰۳۷ | - ۰/۲۳۱ | - ۰/۶۱۰ | - ۰/۴۵۱ | PON1 |
| ۱ | ۰/۸۹۹** | ۰/۰۸۰ | - ۰/۳۸۱ | - ۰/۲۷۵ | - ۰/۲۳۷ | - ۰/۲۹۱ | - ۰/۱۵۷ | PKC |

*تطابق معنی دار در سطح ۰/۰۵

**تطابق معنی دار در سطح ۰/۰۱

همچنین، رگرسیون لجستیک بیزین جهت تخمین احتمال کلانژیت و کلانژیوپاتیت در مقایسه با گاوهای سالم براساس استفاده از بهترین متغیرها (جدول ۳) استفاده گردید. براساس این مدل آماری ALT, AST, ALP, GGT, NEFA, BHB و PON1 بهترین متغیرها برای کلانژیوپاتیت و AST, GGT, NEFA, BHB و PKC بهترین متغیرها برای کلانژیت در نظر گرفته شدند.

تنها مقدار BHB در تشخیص کلانژیوپاتیت بطور معنی داری ($P < 0.05$) کاهش پیدا کرده بود و اختلاف سایر پارامترها بین دو گروه معنی دار نبودند ($P > 0.05$). AUCs برای ALT, AST, ALT, GGT در گروه‌های مبتلا به کلانژیوپاتیت و کلانژیت به ترتیب ۰/۶۱، ۰/۶۳، ۰/۷۰، ۰/۶۵ و ۰/۵۳، ۰/۵۰، ۰/۵۶، ۰/۵۱ محاسبه شد و هیچ‌یک از آنها در مقایسه با گروه سالم معنی دار نبودند ($P > 0.05$).

جدول ۳- مقایسه گاوهای مبتلا به کلانژیت و کلانژیوپاتیت با گاوهای سالم با رگرسیون لجستیک بیزین براساس بهترین متغیرها. OR میزان احتمال

وقوع هر بیماری

| کلانژیت | | کلانژیوپاتیت | | |
|---------|----------------------|--------------|-----------------------|------|
| P value | OR (% ۲/۵ - % ۹۷/۵) | P value | OR (% ۲/۵ - % ۹۷/۵) | |
| - | - | ۰/۰۶ | ۰/۹۸ (۰/۹۶ - ۱/۰۰) | ALT |
| ۰/۰۲ | ۱/۰۰۲ (۱/۰۰ - ۱/۰۰۴) | - | - | AST |
| - | - | ۰/۰۰۳ | ۱/۰۰۴ (۱/۰۰۲ - ۱/۰۰۶) | ALP |
| ۰/۱۹ | ۱/۰۱ (۰/۹۹ - ۱/۰۳) | ۰/۰۸ | ۱/۰۱ (۱/۰۰ - ۱/۰۳) | GGT |
| ۰/۲۰ | ۰/۵۹ (۰/۲۷ - ۱/۲۸) | ۰/۱۵ | ۱/۴۳ (۰/۹۰ - ۲/۲۸) | NEFA |
| ۰/۰۷ | ۰/۵۳ (۰/۲۸ - ۱/۰۱) | ۰/۰۰ | ۰/۴۲ (۰/۲۴ - ۰/۷۳) | BHB |
| - | - | ۰/۰۴ | ۱/۰۰۴ (۱/۰۰۰ - ۱/۰۰۸) | PON1 |
| ۰/۰۴ | ۰/۹۸ (۰/۹۷ - ۱/۰۰) | - | - | PKC |

بحث

نشخوارکنندگان می‌شود (۳). علائم آزمایشگاهی کلانژیت و کلانژیوپاتیت معمولاً شامل نوتروفیلی با شیفت به چپ است که شمار گلبول‌های سفید خون بسته به درجه اندوتوکسمی و

کلانژیوپاتیت، التهاب شدید مجاری صفراوی و بافت کبد مجاور آن است که گاهی باعث نارسایی کبد در اسب‌ها و

فعالیت‌های سرمی ALP و GGT در گروه مبتلا به کلانژیوپاتیت افزایش داشت، اما این افزایش معنی دار نبود ($P > 0.05$).

براساس گزارش Stojevic و همکاران (۲۰۰۵)، AST و GGT طی آغاز دوره شیرواری تا دوره خشکی کاهش و ALT افزایش می‌یابد که کاهش AST در گروه مبتلا به کلانژیوپاتیت، افزایش ALT و عدم تغییر GGT در گروه کلانژیت ممکن است بدلیل قرارداشتن این گاوها در اواخر شیرواری یا دوره خشکی بوده باشد. در واقع GGT در اثر کلانژیت افزایش پیدا کرده است ولی بدلیل فیزیولوژیک میزان طبیعی آن پایین آمده است که منجر می‌شود بدون تغییر بنظر برسد، ضمن اینکه میزان ALT بطورکلی در مشکلات کبدی افزایش می‌یابد (۱۲). همچنین، افزایش میزان ALP در گروه مبتلا به کلانژیوپاتیت می‌تواند ناشی از درگیری مجاری صفراوی و ترشح آن به درون خون باشد.

پارا اوکسوناز ۱ (PON1)، آنزیمی است که در سلول‌های کبدی نشخوارکنندگان تولید و ترشح می‌شود و با HDL همراه است و اثر حفاظتی در برابر اکسیداسیون لیپوپروتئین دارد (۷و۸)، که یک افزایش ملایم در کلانژیوپاتیت را نشان داد ($P > 0.05$)، اما در کلانژیت تغییری نداشت. PON1 در لپیدوز کبدی کاهش و در بیماری‌های کبدی افزایش می‌یابد اما تا کنون مطالعه‌ای در خصوص اندازه‌گیری PON1 و PKC در کلانژیت و کلانژیوپاتیت در گاوها انجام نشده است. پروتئین کیناز C (PKC)، خانواده‌ای از آنزیم‌های پروتئین‌کیناز بوده که در هیپاتوسیت‌ها یافت می‌شوند و عملکرد پروتئین‌ها را از طریق گروه هیدروکسیل اسید آمینه‌های سرین و ترئونین کنترل می‌کنند (۵، ۱ PKC در هر دو کلانژیت و کلانژیوپاتیت بطور غیرمعنی دار کاهش یافت ($P > 0.05$) که می‌تواند ناشی از لپیدوز ملایم همزمان باشد.

طی بررسی‌های انجام شده، مطالعات بخصوصی در مورد کلانژیت و کلانژیوپاتیت گاو صورت نگرفته و بیشتر

التهاب، آنمی تجدیدنناپذیر، افزایش بیلی‌روبین سرم، افزایش متوسط تا شدید فعالیت‌های سرمی ALT، AST و ALP و افزایش ملایم تا متوسط GGT، افزایش اسیدهای صفراوی سرم مخصوصا بعد از غذا، بیلی‌روبینوری و افزایش گلوبولین و فیبرینوژن سرم متغیر است (۹ و ۱۴). در دام‌های بزرگ، فعالیت‌های سرمی AST، SDH، GGT، غلظت بیلی‌روبین کونژوگه و اسیدهای صفراوی تام معمولا افزایش می‌یابد (۳). در گاوهای شیری، اندازه‌گیری اسیدهای صفراوی سرم ارزش کمی در تشخیص کبدچرب یا نارسایی کبد دارد که بدلیل تعییرات معنی دار ساعت به ساعت است. در گاوهای تازه‌زا، غلظت اسیدهای صفراوی تام سرم بطور معنی داری بالاتر از گاوهای در اواسط شیرواری یا تلسیه‌های ۶ ماهه است (۴ و ۳).

لازم بذکر است که یافته‌های اولتراسونوگرافی در گاوهای مبتلا به کلستاز خارج کبدی شامل اتساع شدید کیسه‌صفرا و دیگر مجاری صفراوی مهم داخل کبدی است که اتساع کیسه صفرا اختصاصی نبوده و در تمام گاوهای بی‌اشتها، کیسه صفرا ممکن است متسع شود (۵). بنابراین، تشخیص قطعی کلانژیت و کلانژیوپاتیت تنها با بیوپسی کبد امکان‌پذیر بوده (۱۴) که یک روش تهاجمی و پرهزینه بوده و می‌تواند با عفونت، خونریزی و مرگ دام همراه باشد. همانطور که در بخش مقدمه ذکر شد بیماری‌های کبدی - صفراوی معمولا همراه با سایر جراحات کبدی نظیر لپیدوز کبدی در نشخوارکنندگان دیده می‌شوند (۶)، از این‌رو در این مطالعه میزان NEFA، BHB، PON1، PKC نیز که تاثیرپذیری آنها از لپیدوز کبد مشخص شده است، علاوه بر سایر آنزیم‌های کبدی نظیر GGT، اندازه‌گیری و بررسی شد.

براساس این مطالعه، فعالیت سرمی ALT و AST در گروه‌های مبتلا به کلانژیوپاتیت و کلانژیت در مقایسه با گروه‌های سالم به ترتیب کاهش و افزایش می‌یابد، که این تغییرات از نظر آماری معنی دار نمی‌باشد ($P > 0.05$).

و بی‌هوازی و تشخیص تفریقی کلانژیت و کلانژیوهپاتیت گرفته شوند که فقط با بیوپسی کبد امکان‌پذیر است (۱۴). تشخیص تفریقی از دیگر فاکتورها که باعث بیماری‌های کبدی حاد تا مزمن، کاهش وزن، دل‌درد (colic) یا عفونت می‌شوند باید انجام شود (۳).

کلانژیوهپاتیت چرکی حاد ممکن است منجر به سپتی‌سمی شدید و مرگ شود. در موارد حاد، کبد متورم، نرم و رنگ‌پریده است. کانون‌های چرک ممکن است زیر کپسول بوده یا روی سطح کبد قابل مشاهده باشند. در این شرایط، نوتروفیل‌ها در مثلث پورت حاضرند و می‌توانند پارانشیم را دژنره کنند. اکسودای چرکی در مجاری دیده می‌شود. در کلانژیوهپاتیت تحت حاد یا مزمن، تورم پرولیفراتیو بوده و تکثیر مجاری صفراوی دیده می‌شود. نواحی آتروفی‌شده، هایپرپلازی تجدیدپذیر و فیروز اطراف پورت ممکن است دیده شود (۳). بنابراین، تغییرات آسیب شناسی بافتی شامل انتشار التهابی نوتروفیل‌ها در پارانشیم کبد و مجاری صفراوی، نکروز اطراف ورید باب کبدی، هایپرپلازی مجاری صفراوی و فیروز است (۹). آزمایشات بافت‌شناسی و کشت باکتریایی، بیشتر برای شناسایی عامل بیماری انجام می‌گیرد (۵).

ضریب تطابق پیرسون بصورت مقداری بین $1 \pm$ نشان داده می‌شود و میزان تطابق بین دو متغیر را بیان می‌کند. در این مطالعه نیز، تطابق بین متغیرها با استفاده از آزمون تطابق پیرسون (Pearson Correlation) بررسی شد و در جدول ۲ نشان داده شده است. براساس این جدول رابطه بین PON1 و PKC در کلانژیوهپاتیت ($P < 0/01$, $0/968$) و کلانژیت ($P < 0/01$, $0/899$) معنی دار و مثبت است، درحالی‌که در حال سلامت، رابطه بین NEFA و PKC ($P < 0/01$, $0/578$) و نیز BHB و PKC ($P < 0/05$, $0/560$) معکوس و معنی دار می‌باشد، به این معنی که با افزایش یکی دیگری کاهش می‌یابد و برعکس، و این اختلاف معنی دار می‌باشد.

بررسی‌ها در این زمینه روی سگ و گربه انجام شده است. کلانژیوهپاتیت بیشتر در گربه گزارش شده ولی در سگ و گاو نادر می‌باشد که بنظر می‌رسد این تفاوت بین گونه‌ها بدلیل تفاوت در آناتومی مجاری صفراوی و پانکراتیک آنها باشد (۹). براساس مطالعات کلانژیت / کلانژیوهپاتیت $30\% - 20\%$ موارد بیماری‌های کبدی در گربه را شامل می‌شود (۱۰).

در سال ۲۰۱۲، یک مورد کلانژیت حاد به‌همراه *Taenia saginata* توسط Uygun Bayramicli و همکاران گزارش شده است (۱۳).

در مطالعه‌ای که توسط O'Neill EJ و همکاران (۲۰۰۶) بر روی چهار قلاده سگ مبتلا به کلانژیت / کلانژیوهپاتیت انجام شد، سطح آنزیم‌های ALP، ALT و AST افزایش پیدا کرده بود و در کشت، باکتری‌های اشرشیاکولی، گونه‌های کلستریدیوم و استرپتوکوکوس جدا شدند (۸).

طبق گزارش Daniel AG و همکاران در مطالعه‌ای روی یک گربه مبتلا به سندرم شکنندگی پوست به‌همراه کلانژیوهپاتیت و کبدچرب، میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین سرم بالاتر از حد نرمال بود (۲).

Ramery و همکاران در مطالعه‌ای بر روی یک قلاده سگ تریر با علائم اسهال و استفراغ، بی‌اشتهایی و کاهش وزن که افزایش میزان فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی ALT، LDH، ALP و GGT را نیز نشان می‌داد، حضور تعداد زیادی باسیل بزرگ از گونه‌های کلستریدیوم را در آسپیره صفرا نشان دادند و در آزمایش میکروسکوپی بیوپسی کبد، حضور ماکروفازها، پلاسماسل‌ها، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها در مناطق اطراف سیاهرگ باب کبد (periportal area)، هایپرپلازی مجاری صفراوی و تورم ملایم هپاتوسیت‌ها که حاوی گرانول‌های زرد تیره (صفرا) بودند، تشخیص هپاتوپری‌کلانژیت تحت حاد را تایید نمودند (۹).

برای تایید تشخیص این جراحات در دام‌های کوچک نیز، بیوپسی کبد باید انجام شود و نمونه‌ها باید برای کشت هوازی

همچنین AST، GGT، NEFA، BHB و PKC باید برای پیش‌بینی احتمال وقوع کلانژیت اندازه‌گیری شوند. فرمول محاسبه احتمال:

$$p=1/(1+\exp[-(0.6496+0.0021AST+0.0114GGT-0.5248NEFA-0.6348BHB+0.0148PKC)])$$

با استفاده از پارامترهای بیوشیمیایی کبد و این توابع، احتمال وقوع کلانژیوپاتیت و کلانژیت را می‌توان برای گرفتن بهترین تصمیم جهت درمان و بهبود شرایط سلامت گله گاوها و درنهایت برای جلوگیری از خسارات اقتصادی آینده بدلیل بد کارکردن کبد، محاسبه کرد. برای مثال، اگر مقادیر سرمی AST، GGT، NEFA، BHB و PKC به ترتیب ۱۷۰، ۲۰/۱، ۰/۶، ۲۵/۲ و ۲۲/۲ باشد، با جایگزینی این مقادیر در معادله بالا، احتمال وقوع کلانژیت قابل محاسبه خواهد بود.

رگرسیون لجستیک بیزین تغییرات پارامترها را در گاوهای مبتلا به کلانژیت و کلانژیوپاتیت را در مقایسه با شرایط سلامت و براساس دو مدل استفاده از تمام متغیرها و بهترین متغیرها ارزیابی نمود. براساس جدول ۳، احتمال وقوع کلانژیوپاتیت با افزایش یک واحدی ALP، BHB و PON1 به ترتیب به میزان ۱/۰۰۴ (P<۰/۰۱)، ۰/۴۲ (P<۰/۰۱) و ۱/۰۰۴ (P<۰/۰۵) افزایش می‌یابد. در کلانژیت نیز افزایش یک واحدی AST و PKC، احتمال وقوع بیماری را به ترتیب به میزان ۱/۰۰۲ (P<۰/۰۵) و ۰/۹۸ (P<۰/۰۵) افزایش خواهد داد. براساس مدل بهترین متغیر، ALT، ALP، GGT، NEFA، BHB و PON1 متغیرهایی هستند که می‌توانند برای محاسبه احتمال کلانژیوپاتیت استفاده شوند. فرمول محاسبه احتمال:

$$p=1/(1+\exp[-(-0.4587+0.0194ALT+0.0037ALP+0.0133GGT+0.3611NEFA+0.8635BHB+0.0041PON1)])$$

$$p=1/(1+\exp[-(0.6496+0.0021(170)+0.0114(20.1)-0.5248(0.60)-0.6348(25.2)+0.0148(22.2))])=1/(1+\exp[-(-15.75414)])=1/1+\exp(15.75414)=1/1+e^{15.75414}=1/1+2.71^{15.75414}=1.51$$

با توجه به مطالعات بسیار محدود در این زمینه، پیشنهاد می‌گردد این مطالعه در ابعاد وسیعتر و بررسی پارامترهای بیشتر توسط محققین دیگر صورت پذیرد.

تشکر و سپاسگزاری

بدینوسیله از آقای دکتر احد علیزاده بخاطر همکاری ایشان در تحلیل آماری این مطالعه قدردانی می‌گردد.

استفاده از توابع پیشنهادی جهت تخمین میزان احتمال ابتلا به کلانژیت و کلانژیوپاتیت می‌تواند نیاز به انجام بیوپسی و یا استفاده همزمان سونوگرافی و بیوپسی را کم و یا محدود به موارد خاص نماید که ضمن صرفه‌جویی در هزینه‌های دامداری، امکان درمان بموقع و جلوگیری از حذف دام بدلیل کاهش اشتها و تولید و عدم بهبود دام بدلیل شناخته و درمان نشدن مشکلات کبدی را افزایش می‌دهد.

فهرست منابع

- 1- Considine, R.V., Nyce, M.R., Allen, L.E., Morales, L.M., Triester, S., Serrano, J., Colberg, J., Lanza-Jacoby, S., Caro, J.F. (1995): Protein Kinase C is increased in the liver of humans and rats with non-insulin-dependent diabetes mellitus: an alteration not

- 2938-2944.
- 2- Daniel, A.G., Lucas, S.R., Junior, A.R., Monteiro, P.R., Ramos, D., Pires, C.G., Sinhorini, I.L. (2010): Skin fragility syndrome in a cat with cholangiohepatitis and hepatic lipidosis. *J. Feline Med. Surg.* 2: 151-155.
 - 3- Foreman, J.H. (2014)a : Infectious hepatitis and hepatic abscesses in large animals. In: *Merck Veterinary Manual eBook*.
 - 4- Foreman, J.H. (2014)b: Overview of hepatic diseases in large animals. In: *Merck Veterinary Manual eBook*.
 - 5- Kato, M., Murakami, Y., Shimizu, M., Yamamoto, H., Yonemoto, Y., Ishii, K.I., Kira, Sh. (2005): Survey of cattle fascioliasis in Tsuyama Abattoir. *Environ. Health Prev. Med.* 10: 162-165.
 - 6- Katoh, N., Kimura, K. (1989): Decreased Protein Kinase C activity in fatty liver from cattle. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1489-1492.
 - 7- Miyamoto, T., Takahashi, Y., Oohashi, T., Sato, K., Oikawa, S. (2005): Bovine Paraoxonase 1 activities in serum and distribution in lipoproteins. *J. Vet. Med. Sci.* 67: 243-248.
 - 8- O'Neill, E.J., Day, M.J., Hall, E.J., Holden, D.J., Murphy, K.F., Barr, F.J., Pearson, G.R. (2006): Bacterial cholangitis/cholangiohepatitis with or without concurrent cholecystitis in four dogs. *J. Small Anim. Pract.* 47: 325-335.
 - 9- Ramery, E., Papakonstantinou, S., Pinilla, M., McAllister, H., Jahns, H., Gallagher, B., O'Brien, P.J. (2012): Bacterial cholangiohepatitis in a dog. *Can. Vet. J.* 53: 423-425.
 - 10- Savary-Bataille, K., Bunch, S.E., Spaulding, K.A., Jackson, M.W., Law, J.M., Stebbins, M.E. (2003): Percutaneous Ultrasound-Guided Cholecystocentesis in Healthy Cats. *J. Vet. Intern. Med.* 17: 298-303.
 - 11- Smith, G.W., Davis, J.L. (2015): Diseases of Hepatobiliary System. In: *Large Animal Internal Medicine*, 5nd edition (ed. Smith BP). ELSEVIER: California; 843- 872.
 - 12- Stojevic, Z., Pirslijin, J., Milinkovic-Tur, S., Zdelar-Tuk., M., Ljubic, B.B. (2005): Activities of AST, ALT and GGT in due to hyperglycemia. *J. Clin. Invest.* 95: clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *Vet. Arh.* 75: 67-73.
 - 13- Uygur-Bayramicli, O., AK, O., Dabak, R., Demirhan, G., Ozer, S. (2012): *Taenia saginata* a rare cause of acute cholangitis: a case report. *Acta Clin. Belg.* 67: 436-437.
 - 14- Van Metre, D.C., Tennant, B.C., Whitlock, R.H. (2008): Infectious diseases of the gastrointestinal tract. In: *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, 2nd edition (ed. Divers TJ, Peek SF). Saunders Elsevier: Missouri; 197-228.

