

ارزیابی غلظت بیومارکر Pro-brain natriuretic peptide در بیماری دریچه‌ای قلبی و تعیین شدت بیماری براساس آن در سگ

یارا تمبرچی^۱ داریوش شیرانی^{۱*} مجید مسعودی فرد^۲ زهره خاکی^۳ سولماز چگینی^۲ محمد طاهری^۴

۱) بخش داخلی دام‌های کوچک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

۲) بخش رادیولوژی و سونوگرافی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

۳) بخش کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

۴) آزمایشگاه دکتر رستگار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

(دریافت مقاله: ۱۷ بهمن ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۳۰ فروردین ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: در طی سالیان گذشته ارزیابی عملکرد قلب با استفاده از معاینه بالینی، الکتروکاردیوگرافی (electrocardiography)، رادیوگرافی (radiography) و اکوکاردیوگرافی (echocardiography) انجام می‌گرفته است. در طی پانزده سال گذشته استفاده از بیومارکرهای قلبی (cardiac biomarker) از جمله تروپونین (troponin) و ناتریورتیک پپتیدها (natriuretic peptide) نقش مهمی را در تشخیص و پیگیری بیماری‌های قلبی در طب انسانی بر عهده داشته است. در طب حیوانات کوچک نیز استفاده از این بیومارکرها می‌تواند کمک شایانی در تشخیص بیماری‌های قلبی کند. **هدف:** هدف از این مطالعه ارزیابی غلظت بیومارکر pro-brain natriuretic peptide (NT-pro BNP) در بیماری دریچه‌ای قلبی (valvular disease) و تعیین شدت بیماری براساس آن می‌باشد. **روش کار:** این مطالعه بروی ۲۰ قلاده سگ مبتلا به بیماری مزمن دریچه‌ای (chronic valvular disease) انجام شد. سگ‌های ارجاعی به بیمارستان حیوانات کوچک را ابتدا مورد معاینه بالینی قرار داده و در صورت تشخیص بیماری قلبی، نمونه خون بیمار جهت سنجش NT-pro BNP گرفته شد. سپس بیمار را جهت انجام رادیوگرافی و اکوکاردیوگرافی به بخش رادیولوژی ارجاع داده پس از ثبت کلیه یافته‌ها و سنجش مثبت غلظت‌های به دست آمده NT-pro BNP، اقدام به تفسیر و بررسی نتایج گردید. **نتایج:** سطح سرمی بیومارکر NT-pro BNP در سگ‌های بیمار نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده از طرفی این اختلاف سطح در سگ‌های گروه B2 نسبت به گروه C نیز معنی‌دار می‌باشد. سه گروه مورد مطالعه با سطح اطمینان ۹۵٪ اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر در سطح متغیر «NT-pro BNP» دارند ($p < 0.001$). سطح سرمی این بیومارکر با نسبت دهلیز چپ به آئورت (Left Atrium/Aorta) نیز بررسی شد و مشخص گردید که در گروه B2 و C، دو متغیر «نسبت دهلیز چپ به آئورت» و «NT-pro BNP» در سطح خطای کوچک‌تر از ۰/۰۵ و اطمینان ۹۵٪، با یکدیگر همبستگی مثبت و معنی‌دار دارند. نتیجه گیری نهایی: با توجه به غلظت‌های به دست آمده از بیومارکر NT-pro BNP و اختلاف معنی‌دار میزان این بیومارکر بین گروه بیمار و شاهد و ارتباط معنی‌دار آن با نسبت دهلیز چپ به آئورت (LA/AO) استفاده از این بیومارکر می‌تواند در تشخیص بیماری و همچنین تعیین شدت آن کمک کننده باشد.

واژه‌های کلیدی: بیومارکر NT-pro BNP، بیماری مزمن دریچه‌ای، سگ

مقدمه

۷۵٪ موارد ابتلا به این بیماری به نارسایی احتقانی قلب منجر می‌شود.

علت اصلی ایجاد کننده این بیماری به خوبی مشخص نیست اما نقش وراثت را در ایجاد این عارضه از عوامل مهم می‌دانند (۳، ۷، ۱۲).

اطلاعات کمی در مورد پاتوژنز این بیماری در دست است اما بر طبق یک تئوری قدیمی ایجاد ضایعاتی بروی لتهای دریچه‌ای منجر به ضخیم شدن آنها و در نهایت باعث اختلال در حرکت لتهای دریچه‌ها می‌گردد که این روند خود منجر به پرولاپس دریچه می‌شود. بسته شدن مناسب دریچه میترا و وابسته به ساختار آناتومیک مناسب دریچه می‌باشد. هرگونه تغییر در لتهای دریچه، بسط حلقه‌های دهلیزی-بطنی، پارگی طناب‌های وتری و یا انقباض نامناسب عضلات پاییلاری می‌تواند منجر به عارضه برگشت خون از میترا گردد (۳).

فاکتورهای بسیاری در روند این بیماری تعیین کننده هستند از جمله میزان کاهش فشار خون پمپ شده به بدن، شدت جریان و حجم خون

بیماری میکزوماتوز دریچه (myxomatous valve disease) در سگ‌ها یک عارضه دژنراتیو پیشرونده دریچه‌های دهلیزی-بطنی می‌باشد. در منابع دامپزشکی این بیماری را با نام‌های دیگری همچون اندوکاردیوزیس (endocardiosis) و یا بیماری مزمن دریچه‌ای نیز یاد می‌کنند (۳، ۷، ۱۲).

این بیماری ۷۵ تا ۸۰٪ بیماری‌های قلبی در سگ‌ها را شامل می‌شود. از عوامل مستعد کننده پیشرفت این بیماری می‌توان از سن، جنس و نژاد نام برد. این بیماری در نرها به نسبت ماده‌ها بیشتر شایع می‌باشد. شیوع این بیماری با افزایش سن بیشتر شده به طوری که در سگ‌های بالای ۱۶ سال بیش از ۷۵٪ را شامل می‌شود. نژادهای کوچک تا متوسط مانند پودل، داشهوند، چی هواهو و چارلز اسپنیل بیشتر مستعد این بیماری هستند (۳، ۱۲).



D: بیمارانی را توصیف می‌کند که مرحله انتهایی بیماری را سپری کرده و علائم نارسایی قلبی ناشی از بیماری مزمن دریچه‌ای را نشان می‌دهند و به طور اورژانسی به درمان و بستری شدن نیاز دارند (۲).

در طی سالیان گذشته ارزیابی عملکرد قلب با استفاده از معاینه بالینی، الکتروکاردیوگرافی، رادیوگرافی و اکوکاردیوگرافی انجام می‌گرفته است. در طی سال‌های گذشته استفاده از بیومارکرهای قلبی از جمله تروپونین و ناتریورتیک پپتیدها نقش مهمی را در تشخیص و پیگیری بیماری‌های قلبی در طب انسانی بر عهده داشته است استفاده از این بیومارکرها در تحقیقات دامپزشکی به منظور تشخیص این بیماری‌ها به تازگی مورد توجه قرار گرفته است (۹).

به گفته انیستیتو ملی سلامت (national institutes of health)، بیومارکر یک نشانگر است که قابل اندازه‌گیری بوده و براساس آن پاسخ بافت‌های مختلف بدن را نسبت به عوارض پاتولوژیک و یا عملکرد طبیعی و فیزیولوژیک بدن را می‌سنجند. سه مشخصه اصلی برای بیومارکرها تعریف شده که مزایای استفاده از این روش را به اثبات می‌رساند:

اول اینکه دقیق بوده و به طور مرتب می‌توان آن را اندازه‌گیری کرد. دوم اینکه اطلاعاتی را به کلینیسین می‌دهد که از روش‌های دیگر کلینیکی نمی‌توان آن را به دست آورد و سوم اینکه با شناخت سطح اندازه‌گیری و پیشبرد آن کمک به تصمیم‌گیری‌های پزشکی می‌کند (۴).

اگرچه نزدیک به ۴۰ بیومارکر قلبی تا به امروز شناسایی شده اما از این تعداد ۲ یا ۳ بیومارکر تا به امروز بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند از جمله B-type natriuretic peptide (BNP)، troponin.

میزان B-type natriuretic peptide در جریان خون متعاقب بالارفتن استرس دیواره قلبی افزایش می‌یابد. BNP بر اثر استرس وارده و کشیده شدن سلول‌های قلبی دهلیزها و بطن‌ها ترشح می‌شود. BNP به صورت یک مولکول واحد، آزاد شده ولی در جریان خون در اثر پروتئازها به inactive N-terminal و C-terminal fragment (C-BNP) شکسته می‌شود (۴، ۹).

نیمه عمر NT-Pro BNP به نسبت C-BNP بیشتر بوده و برای فعالیت‌های کلینیکی مناسب‌تر می‌باشد. تست‌های الایزای اختصاصی برای تشخیص و اندازه‌گیری این بیومارکر موجود می‌باشد (۹).

بسیاری از بیماری‌های قلبی در حیوانات کوچک در کلینیک‌ها و مراکز درمانی پنهان می‌ماند و در بسیاری از آن‌ها تفریق مشکلات ریوی اولیه از مشکلات ریوی با منشأ قلبی دشوار می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی غلظت NT-pro BNP در بیماری مزمن دریچه‌ای و تعیین شدت عارضه قلبی براساس آن می‌باشد.

مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۲۰ قلاده سگ مبتلا به بیماری دریچه‌ای قلبی و ۲۰

برگشتی، میزان اتساع دهلیز چپ، ترومبوآمبولی و پیشرفت تاکی کاردی و آریتمی.

شدت بیماری براساس یکسری از عوامل پاتوفیزیولوژی مرتبط می‌باشد: ۱- میزان افزایش فشار خون دهلیز چپ و عروق ششی که می‌تواند منجر به ناکارآمدی تنفس و یا ادم ریوی گردد. ۲- کاهش فشار خون پمپ شده از بطن راست یا چپ که می‌تواند منجر به ضعف بیمار شود. ۳- نارسایی طرف راست قلب که منجر به آسیت و آب آوردگی پرده جنب می‌شود ۴- ادم ریوی و فیبریلاسیون بطنی که می‌تواند منجر به مرگ بیمار شود. اندوکاردیویس ملایم تا متوسط معمولاً با علائم بالینی همراه نمی‌باشد. سرفه جزو معمولترین علائم این بیماری می‌باشد (۳).

یافته‌های حاصل از رادیولوژی و اکوکاردیوگرافی در امر تشخیص و تعیین شدت بیماری کمک کننده و ضروری می‌باشد. رادیولوژی قفسه سینه برای بررسی بزرگی قلب و یا ادم ریوی احتمالی ناشی از این بیماری کمک کننده است. اما رادیولوژی به تنهایی همیشه نمی‌تواند کمک کننده باشد چرا که در بسیاری از موارد ادم ریوی و یا الگوی برونشپال و آلوئولار ریه ناشی از یک مشکل مزمن اولیه ریوی است. اندازه دهلیز چپ در ارزیابی شدت بیماری با اهمیت می‌باشد. برای بررسی سایز دهلیز چپ، از نسبت این حفره به آئورت (L/A/O) استفاده می‌کنند. این نسبت در نژادهای مختلف متفاوت است اما در کل در هیچ نژادی از ۱/۵ بیشتر نمی‌باشد (۳). یافته‌های آزمایشگاهی هماتولوژی و بیوشیمی معمولاً در شدت‌های ملایم بیماری تفاوتی نمی‌کنند اما ممکن است در شدت‌های بیشتر بیماری مقداری آنزیم‌های کبدی و کلیوی افزایش یابد (۳). نارسایی قلبی ناشی از بیماری مزمن دریچه‌ای توسط انجمن قلب نیویورک (New York Heart Association) به چهار گروه عمده تقسیم شده است که شامل گروه A، B، C و D می‌باشد (۲).

گروه A: بیمارانی را توصیف می‌کند که در ریسک بالای پیشرفت بیماری قلبی هستند اما هنوز عارضه قابل تشخیصی از جمله سوفل را نشان نمی‌دهند. گروه B: بیمارانی را توصیف می‌کند که عارضه قابل تشخیص از قبیل سوفل و برگشت خون از دریچه میترا را به وضوح نشان می‌دهند اما علائم بالینی مربوط به نارسایی قلبی را ندارند.

به منظور اهمیت تعیین پیش آگهی بیماری و نحوه درمان، این گروه به دو زیر گروه تقسیم بندی شده است: B۱ و B۲

زیر گروه B۱: بیمارانی بدون علائم بالینی که در رادیوگرافی و اکوکاردیوگرافی نیز شواهدی دال بر نارسایی و بزرگی قلب را نشان نمی‌دهند. زیر گروه B۲: بیمارانی بدون علائم بالینی که در اثر برگشت خون مشخص از میترا، رادیوگرافی و اکوکاردیوگرافی علائم این برگشت خون و بزرگ شدن قلب را نشان می‌دهند.

گروه C: بیمارانی را توصیف می‌کند که همزمان با بیماری قلبی، علائم بالینی ناشی از نارسایی قلبی (Heart Failure) را نیز نشان می‌دهند. گروه



NT-pro BNP بدست آمده از بیماران را پس از تفسیر، با غلظت آن در سگ‌های سالم مقایسه کردیم، این غلظت‌ها، در گروه بیمار نیز با توجه به شدت عارضه (براساس گروه بندی NYHA) با یکدیگر مقایسه شد.

نتایج

براساس مطالعه انجام شده بروی ۲۰ بیمار مبتلا به بیماری مزمن دریچه‌ای بعد از انجام معاینه بالینی و تشخیص بیماری، اخذ نمونه خون بیماران (جهت بررسی بیوشیمیایی و اندازه‌گیری NT pro BNP) و انجام رادیولوژی و اکوکاردیوگرافی نتایج زیر حاصل شد:

بر این اساس از این ۲۰ بیمار، ۱۰ بیمار در گروه B۲ و ۱۰ بیمار در گروه C قرار گرفتند. کلیه آنزیم‌های کلیوی و کبدی در این بیماران در رنج نرمال قرار داشتند.

براساس اندازه‌گیری NT pro BNP مشخص گردید که سطح سرمی این بیومارکر به طور معنی‌داری در این بیماران افزایش یافته است. اختلاف سطح سرمی NT pro BNP بین گروه B۲ و گروه شاهد و همچنین بین گروه B۲ و C از نظر آماری معنی‌دار بوده است.

با آنالیز و مقایسه میانگین مارکر «NT-pro BNP» در سه گروه مورد مطالعه (B۲، C، و گروه شاهد) نتایج زیر به دست آمد (جدول ۱).

در مقایسه دو به دو گروه‌های مذکور مشخص گردید که سطح این مارکر در گروه C با گروه B۲ ($p=0/001$) و با گروه کنترل ($p<0/001$) و سطح این مارکر در گروه B۲ با گروه کنترل ($p<0/001$) دارای اختلاف آماری معنی‌دار است.

نمونه زیر میانگین متغیر مذکور را در سه گروه نشان می‌دهد (نمودار ۱). همچنین سطح سرمی این مارکر در گروه B۲ و C جهت بررسی شدت بیماری، با نسبت دهلیز چپ به آئورت (LA/AO) نیز بررسی گردید:

گروه B۲: این گروه متشکل از ۱۰ بیمار با علائم مشابه بود. در این گروه نیز دو متغیر «LA/AO» و «NT-pro BNP» مورد سنجش و اندازه‌گیری قرار گرفت که میانگین آن‌ها به ترتیب $1/2020$ و $454/020$ و انحراف معیار آن‌ها به ترتیب $0/15426$ و $66/02925$ بوده است.

در بررسی همبستگی دو متغیر مذکور در این گروه، مشخص گردید که دو متغیر «LA/AO» و «NT-pro BNP» در سطح خطای کوچک‌تر از $0/05$ و اطمینان 95% ، با یکدیگر همبستگی مثبت و معنی‌دار دارند ($p=0/028$ ، $r=0/698$).

گروه C: این گروه متشکل از ۱۰ بیمار با علائم مشابه بود. در این گروه دو متغیر «LA/AO» و «NT-pro BNP» مورد سنجش و اندازه‌گیری قرار گرفت که میانگین آن‌ها به ترتیب $1/4210$ و $1101/610$ و انحراف معیار آن‌ها به ترتیب $0/09026$ و $379/15096$ بوده است.

در بررسی همبستگی دو متغیر مذکور در این گروه، مشخص گردید که بین دو متغیر «LA/AO» و «NT-pro BNP» در سطح خطای کوچک‌تر

قلاده سگ سالم انجام شد. سگ‌های ارجاع داده شده به بیمارستان به دو گروه سالم (شاهد) و بیمار تقسیم بندی شدند. سگ‌های مورد مطالعه همگی نژاد کوچک و تریر یا تریر مخلوط بودند.

از صاحبان سگ‌های ارجاع داده شده به بخش داخلی، ابتدا تاریخچه کامل اخذ شده سپس این بیماران مورد معاینه دقیق قرار گرفتند. این معاینات شامل سمع قلب (مناطق میترال، تری کاسپید، آئورت و پولمونری) و سمع ریه بوده پس از انجام معاینات و ثبت تعداد ضربان قلب و همچنین سوفل (murmur) و آریتمی‌های احتمالی و ثبت تعداد تنفس و صداهای غیر طبیعی تنفسی (در صورت وجود) اقدام به گرفتن اکوکاردیوگرافی از این حیوانات گردید. پس از انجام موارد فوق در صورت تشخیص عارضه قلبی، اقدام به خون‌گیری از بیمار نموده و آن را جهت بررسی شمارش سلولی (CBC) و بیوشیمیایی به منظور اندازه‌گیری اوره، کراتینین (Cr) و سایر فاکتورهای بیوشیمیایی در جهت آگاهی از مشکلات احتمالی کلیوی، کبدی و عفونت و یا التهاب به آزمایشگاه ارسال نموده همچنین سرم این بیماران را جدا کرده و با استفاده از کیت تحقیقاتی الایزا اقدام به سنجش غلظت سرمی NTproBNP گردید.

پس از آن، بیمار جهت انجام رادیوگرافی و اکوکاردیوگرافی به بخش رادیولوژی ارجاع شده، رادیوگرافی از قفسه سینه به منظور ارزیابی اندازه قلب و تعیین میزان VHS (vertebral heart size) و همچنین بررسی ریه جهت درگیری احتمالی ناشی از نارسایی قلبی انجام گرفت. سپس اکوکاردیوگرافی جهت بررسی قلب از جمله ضایعات دریچه‌ای، سایز اتاقک‌های قلب و سایر فاکتورها انجام شد. برای این منظور ابتدا نواحی فضای بین دنده‌ای سوم تا پنجم در دو سمت راست و چپ (در محل اتصال ناحیه غضروفی-دنده‌ای) تراشیده شد سپس انجام اکوکاردیوگرافی بدون استفاده از مقید سازی شیمیایی، و با خواباندن بیمار روی میز مخصوص اکوکاردیوگرافی صورت گرفت. نماهای استاندارد ابتدا از سمت راست (نمای پاراسترنال چهار حفره‌ای و پاراسترنال مجرای خروجی بطن چپ) و سپس از سمت چپ با گرفتن نماهای قدامی قلب (اپیکال و پنج حفره‌ای) انجام پذیرفت.

اندازه‌گیری سطح سرمی NT-pro BNP توسط کیت تحقیقاتی الایزا ساخت شرکت Shanghai Crystal Day Biotech و اکوکاردیوگرافی بوسیله دستگاه Vivid ۷ و با پراب multi frequency ۹ تا ۱۱MHz انجام شد.

پس از بررسی تمامی نتایج به دست آمده از معاینات بالینی، رادیوگرافی و اکوکاردیوگرافی و با توجه به کلاس بندی بیماری و نارسایی قلبی که توسط انجمن قلب نیویورک صورت گرفته، بیماران را دسته بندی کردیم. در این مطالعه گروهی از سگ‌های ارجاعی به بیمارستان که فاقد هرگونه مشکل قلبی، التهابی و کلیوی هستند را به عنوان گروه شاهد قرار داده و غلظت NT-pro BNP در این سگ‌ها اندازه‌گیری شد. غلظت‌های



جدول ۱. گروه‌های مورد مطالعه با سطح اطمینان ۹۵٪ اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر در سطح متغیر «NT-pro BNP» دارند ($p < 0.001$).

میلگین	انحراف معیار	۹۵٪ فاصله اطمینان میانگین		حداقل	حداکثر	تعداد	گروه
		کران بالا	کران پایین				
۱۱۰۱/۶۱۰۰	۳۷۹/۱۵۰۹۶	۸۳۰/۳۸۱۷	۱۳۷۲/۸۳۸۳	۷۹۶/۱۰	۱۷۸۲/۰۰	۱۰	C گروه
۴۵۴/۰۲۰۰	۶۶/۰۲۹۲۵	۴۰۶/۷۸۵۵	۵۰۱/۲۵۴۵	۳۵۱/۰۰	۵۳۹/۱۰	۱۰	B2 گروه
۳۲۰/۹۱۵۰	۵۱/۷۰۴۱۲	۲۹۶/۷۱۶۷	۳۴۵/۱۱۳۳	۲۲۵/۴۰	۳۹۹/۰۰	۲۰	کنترل
۵۴۹/۳۶۵۰	۳۷۷/۸۵۷۳۵	۴۲۸/۵۲۰۴	۶۷۰/۲۰۹۶	۲۲۵/۴۰	۱۷۸۲/۰۰	۴۰	مجموع

در سگ‌های مبتلا به ازتمیا که فاقد بیماری قلبی اند مورد بررسی قرار گرفته است. این تحقیق بر روی چهار گروه سالم، ازتمیک، بیماری قلبی و نارسایی قلبی انجام گرفته است. میانگین غلظت کراتینین به ترتیب ۱/۴۷، ۴/۳۶، ۱/۲۲ و ۱/۴۵ بوده و میانگین NT-Pro BNP به ترتیب ۱۱۸ pmol/l، ۵۵۶، ۹۲۹ و ۳۱۴۴ بوده است. با توجه به افزایش NT-Pro BNP در بیماران‌های ازتمیک، توجه به ازتمیک بودن یا نبودن حیوان در حین تفسیر نتایج NT-Pro BNP در بیماران قلبی ضروری می‌باشد (۱۳).

در مطالعه دیگری که توسط Tarnow و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شده است، از NT-Pro BNP به عنوان شاخصی برای سنجش شدت عارضه در سگ‌های Cavalier King Charles Spaniel استفاده شده است. در سه گروه سگ‌های سالم، سگ‌های مبتلا فاقد علائم و سگ‌های دارای علائم نارسایی قلبی این غلظت مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد سگ‌های با عارضه شدید برگشت خون از دریچه میترال (mitral regurgitation) NT-pro BNP، بالاتری نسبت به گروه شاهد و سگ‌های با mitral regurgitation ضعیف‌تر دارند و گروهی که دچار نارسایی قلبی بودند نیز به نسبت بقیه سگ‌ها، غلظت بالاتری را نشان دادند (۱۵).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۹ توسط Oyama و همکاران انجام گرفته، از اندازه‌گیری NT-Pro BNP به منظور تفریق مشکلات تنفسی ناشی از بیماری‌های قلبی و بیماری‌های اولیه ریوی استفاده شده است که پس از انجام معاینات بالینی، رادیوگرافی و اکوکاردیوگرافی تعیین شد که آیا علت مشکلات تنفسی با منشاء قلبی است یا خیر و اندازه‌گیری NT-Pro BNP نیز انجام شده و براساس نتایج به دست آمده غلظت این مارکر در سگ‌های مبتلا به مشکلات قلبی به مراتب بالاتر بوده است (۱۱).

در مطالعه‌ای که توسط Reynolds و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام گرفته بیان گردید که با توجه به غلظت NT-pro BNP می‌توان روند بیماری قلبی به سمت نارسایی را پیش بینی کرد (۱۴).

در مطالعه‌ای که توسط Fine و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شده است، سگ‌های با علائم تنفسی، مورد ارزیابی قرار گرفتند و آن‌هایی که علائم تنفسی مربوط به بیماری و نارسایی قلبی را داشته‌اند، غلظت NT-Pro BNP به مراتب بالاتر از سگ‌هایی بوده است که عارضه تنفسی با علت اولیه ریوی داشته‌اند (به ترتیب ۲۵۵۴ pmol/l و ۳۵۷ pmol/l) (۵). در مطالعه دیگری که توسط Oyama و همکاران در سال ۲۰۰۸

از ۰/۰۵ و اطمینان ۹۵٪ رابطه وجود دارد. از طرفی مقدار این رابطه که برابر با ۰/۷۵۵ است، به صورت مستقیم (مثبت) و در حد قوی می‌باشد. بدین معنی که با بالا رفتن «LA/AO»، مقدار «NT-pro BNP» نیز بالا خواهد بود. به عبارت ساده‌تر این دو متغیر با یکدیگر همبستگی مثبت و معنی‌دار دارند ($p = 0.012$ ، $r = 0.755$).

دو گروه C و B2: پس از محاسبه ضریب همبستگی تک تک گروه‌ها، جمع دو گروه نیز مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که میانگین «NT-pro BNP» ۷۷۷/۸۱۵ و «LA/AO» ۱/۳۱۱۵ بوده است. همچنین انحراف معیار آن‌ها به ترتیب ۴۲۴/۸۷۷۸۱ و ۰/۰۹۰۳۶ بوده است.

در بررسی همبستگی دو متغیر «LA/AO» و «NT-pro BNP» در این دو گروه مشخص گردید که این دو متغیر در سطح خطای کوچک‌تر از ۰/۰۱ و اطمینان ۹۹٪، با یکدیگر همبستگی مثبت و معنی‌دار دارند ($p < 0.001$ ، $r = 0.747$).

نمودار ۲ نشان دهنده پراکندگی داده‌ها در این دو گروه می‌باشد.

بحث

در مطالعه‌ای که توسط Wess و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شده است، ارزیابی NT-Pro BNP در سگ‌های مبتلا به کاردیومیوپاتی صورت گرفته است. براساس معاینات بالینی، ثبت ۲۴ ساعته وضعیت قلب توسط هالتر و یافته‌های اکوکاردیوگرافیک، شدت کاردیومیوپاتی اتساعی را مشخص کرده و سپس اقدام به اندازه‌گیری NT-Pro BNP کرده‌اند. پس از آن با گروه کنترل مقایسه گردیده و نتایج بر این اساس بوده است که غلظت این مارکر در سگ‌های مبتلا، به مراتب بالاتر از گروه کنترل بوده است (۱۶).

در مطالعه‌ای که توسط Kellihan و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شده است، در سگ‌های سالم به صورت هفتگی تغییرات NT-Pro BNP را مورد بررسی قرار داده‌اند که در طی سه هفته بررسی، ۴۲٪ سگ‌های مورد مطالعه حداقل یک بار غلظت بالای ۵۰۰ pmol/l را نشان داده‌اند. تفاوت میان بیشترین و کمترین غلظت NT-Pro BNP در ۴۰٪ سگ‌ها کمتر از ۱۰۰، ۴۰٪ بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ و در ۲۰٪ بیشتر از ۲۰۰ pmol/l بوده است (۶).

در مطالعه دیگری که توسط Raffan و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام گرفته است، افزایش غلظت NT-Pro BNP با توجه به غلظت کراتینین



که این غلظت در بیمارانی که دچار اندوکاردیوزیس و کاردیومیوپاتی اتساعی بوده‌اند افزایش یافته که نتیجه آن حاکی از آن است که از این غلظت می‌توان به منظور تشخیص بیماری‌های قلبی استفاده کرد (۱۰).

در مطالعه دیگری که توسط Boswood در سال ۲۰۰۸ انجام شده است، میزان دقت NT-Pro BNP در تشخیص عارضه قلبی و همچنین اثر متغیرهای دیگر بر روی غلظت آن مورد بررسی قرار گرفته است (سن، جنس و شاخص‌های فعالیت کلیوی). نتیجه این تحقیق بر این اساس بوده که غلظت NT-Pro BNP هم در سرم و هم در پلاسمای سگ‌های مبتلا به بیماری قلبی به مراتب بیشتر از بیماری‌های اولیه تنفسی است. سن و جنس تأثیر بارزی را روی این مارکر نشان نداده است اما افزایش غلظت کراتینین با افزایش غلظت NT-Pro BNP همراه بوده است (۱).

در مطالعه‌ای که توسط Oyama در سال ۲۰۰۷ بر روی نژاد گریت دین، دوبرمن و باکسر انجام شده است، میزان NT-Pro BNP در حیوانات مبتلا به کاردیومیوپاتی پنهان به طور مشخص بیشتر و متفاوت نسبت به سگ‌های سالم بوده است (۸).

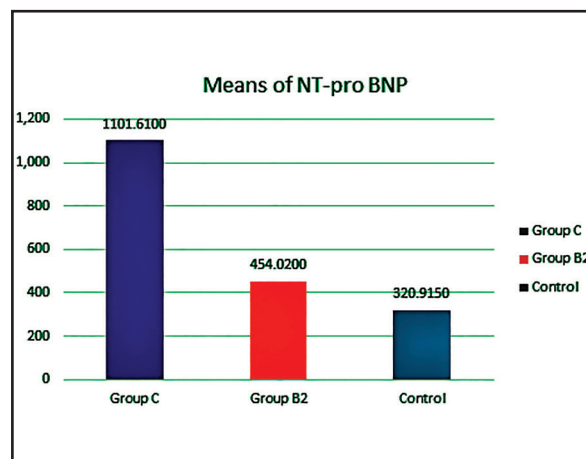
استفاده از بیومارکرهای قلبی از روش‌های جدید و کاربردی در تشخیص بیماری‌های قلبی در طب حیوانات کوچک می‌باشد. با توجه به نتایج مطالعات انجام گرفته تا به امروز و همچنین نتیجه مطالعه حاضر، استفاده از این روش و بیومارکر NT-pro BNP می‌تواند در کنار سایر روش‌های تشخیصی در تعیین بیماری دریچه‌ای قلبی به خصوص مرحله‌ای از بیماری که قلب دچار نارسایی شده است و همچنین تعیین شدت بیماری، کمک کننده باشد. با انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه و کاربردی شدن این بیومارکر در معاینات قلبی می‌توان از این روش برای پیگیری کردن بیماری و همچنین پیش آگهی دادن در مورد عارضه قلبی نیز بهره‌مند گردید.

تشکر و قدردانی

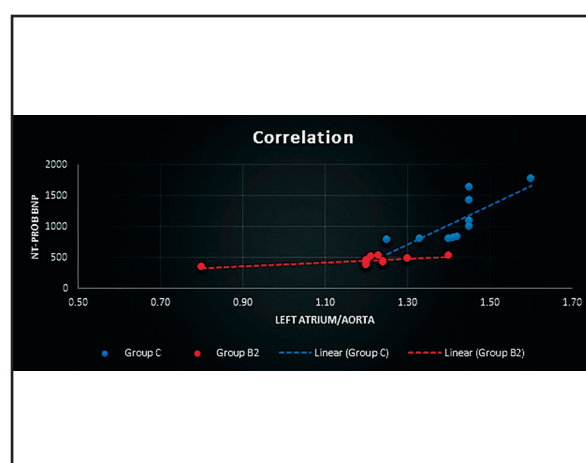
در انتها از کلیه همکارانی که ما را در انجام این مطالعه یاری کردند به خصوص پرسنل محترم بیمارستان دام‌های کوچک دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و آزمایشگاه مرکزی دکتر رستگار کمال تشکر را می‌نماییم.

References

1. Boswood, A., Dakes-Mc Ewan J., Loureiro J., James RA., Martin M., Stafford-Johnson M. Smith P. Little C. Attree S. (2008) The diagnosis accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease. *J Small Anim Pract.* 49: 26-39.
2. Ettinger, S.J., Feldmen, E.C. (2009) *Text Book of Veterinary Internal Medicine*, (7th ed.) Saunders co. Missouri, USA.



نمودار ۱. میانگین متغیر مذکور در سه گروه B2، C و شاهد.



نمودار ۲. پراکندگی داده‌های متغیر «LA/AO» و NT-pro BNP در گروه‌های C و B2 انجام شده است، از میان سگ‌های ارجاعی به بیمارستان که علائم تنفسی از قبیل سرفه، دیس پنه (dyspnea) و صدای ویز (wheezing sound) داشتند، غلظت سرمی NT-Pro BNP اندازه‌گیری شده در بیماران قلبی به مراتب بیشتر از بیماران با مشکل اولیه ریوی بوده است (بیشتر از ۱۲۰۰ pmol/l) (۹).

نقش NT-Pro BNP در تشخیص بیماری‌های قلبی پنهان قابل توجه می‌باشد به طوری که در سگ‌هایی که مبتلا به کاردیومیوپاتی اتساعی (dilated cardiomyopathy) پنهان و بدون علائم هستند، تنها اکوکاردیوگرافی و هالتر مانیتورینگ، در تشخیص کمک کننده بوده که تکنیکی‌هایی گران می‌باشند و در همه جا قابل دسترس نیست و اندازه‌گیری این بیومارکر در تشخیص این بیماری‌ها بسیار کمک کننده می‌باشد (۹). باید توجه داشت که یک سری از فاکتورها و بیماری‌های دیگر از قبیل ازوتیمیا روی آن تأثیر گذاشته و باعث افزایش غلظت NT-Pro BNP می‌شود (۹).

در مطالعه دیگری که توسط Oyama و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شده است، از سنجش غلظت NT-Pro BNP به منظور تشخیص بیماری قلبی و تعیین میزان شدت آن در سگ‌های بیمار استفاده شده است



3. Ettinger, S.J., Feldmen, E.C. (2009) Text Book of Veterinary Internal Medicine, (7th ed.) Saunders co. Missouri, USA.
4. Ettinger, S.J., Feldmen, E.C. (2009) Text Book of Veterinary Internal Medicine. (7th ed.) Saunders co. Missouri, USA.
5. Fine, D., Declue, A., Reinero, C. (2008) Evaluation of circulating amino terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration in dogs with respiratory distress attributable to congestive heart failure or primary pulmonary disease. *J Am Vet Med Assoc.* 232: 1674-1679.
6. Kellihan, H., Oyama, M., Reynolds, C., Stepien, R.L. (2009) Weekly variability of plasma and serum NT-proBNP measurements in normal dogs. *J Vet Cardiol.* 11: 93-97.
7. Maxi, M.G., Robinson, W.F. (2009) Myxomatous valvular degeneration (endocardiosis) in dogs, Jubb Kennedy and Palmer's The Pathology of Domestic Animals. Edinburgh, (5th ed.) Saunders Elsevier. Edinburgh, Scotland. p. 24-26.
8. Oyama, M., Sisson, D., Solter, P. (2007) Prospective screening for occult cardiomyopathy in dogs by measurement of plasma atrial natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide, and cardiac troponin-I concentrations. *Am J Vet Res.* 68: 42-47.
9. Oyama, M., Reynolds, C. (2008) Biomarkers in the diagnosis of heart disease. *Vet Focus.* 18: 1-4.
10. Oyama, M., Fox, P.R., Rush, J.E., Rozanski, E.A., Lesser, M. (2008) Clinical utility of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for identifying cardiac disease in dogs and assessing disease severity. *J Am Vet Med Assoc.* 232: 1496-1503.
11. Oyama, M., Rush, J.E., Rozanski, E.A., Fox, P.R., Reynolds, C., Gordon, S.G. (2009) Assessment of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for differentiation of congestive heart failure from primary respiratory tract disease as the cause of respiratory signs in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 235: 1319-1325.
12. Paige, C.F., Abbott, J.A., Elvinger, F., Pyle, R.L. (2009) Prevalence of cardiomyopathy in apparently healthy cats. *J Am Vet Med Assoc.* 234: 1398-1403.
13. Raffan, E., Loureiro, J., Dukes-McEwan, J., Fonfara, S., James, R., Swift, S., Bexfield, N., Herrtage, M.E., Archer, J. (2009) The Cardiac Biomarker NT-proBNP Is Increased in Dogs with Azotemia. *J Vet Intern Med.* 23: 1184-1189.
14. Reynolds, C., Brown, D.C., Oyama, M.A. (2008) Development of a multivariate statistical model to predict congestive heart failure in canine mitral valve disease. *J Vet Intern Med.* 22: 755.
15. Tarnow, I., Olsen, H., Kvort, C., Hoglund, K., Moesgaard, S.G., Kamstrup, T.S., Pederson, H.D., Haggstrom, J. (2009) Predictive value of natriuretic peptides in dogs with mitral valve disease. *Vet J.* 180: 195-201.
16. Wess, G., Mahling, M., Hartmann, K. (2011) Evaluation of Nterminal pro-B-type natriuretic peptide as a diagnostic marker of various stages of cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *Am J Vet Res.* 72: 642-649.



Evaluation of circulating amino terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration in cardiac valvular disease and assessing disease severity in dogs

Tambrchi, Y.¹, Shirani, D.^{1*}, Masoudifard, M.², Khaki, Z.³, Chegeni, S.³, Taheri, M.⁴

¹Department of Small Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

²Department of Radiology and Sonography, faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

³Department of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

⁴Dr Rastegar Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

(Received 6 February 2016, Accepted 18 April 2016)

Abstract:

BACKGROUND: One of the most important heart diseases in dogs is chronic valvular disease which can be evaluated by diagnostic ways such as physical examination, electrocardiography, echocardiography and.... Traditionally, the evaluation of heart function has been accomplished by electrocardiography, radiography, and echocardiography. Within the past 15 years, cardiac biomarkers, primarily cardiac troponin and natriuretic peptides, have become a mainstay for both the diagnosis and patient monitoring in human heart disease. Recently, veterinary research has provided insight into the utility of these blood-based cardiac biomarkers in canine and feline patients. **OBJECTIVES:** The purpose of the current study was to evaluate the chronic valvular disease and assess its severity via evaluation of circulating amino terminal-pro-B-type natriuretic peptide. **METHODS:** This survey was done on 20 dogs which had valvular disease and on 20 control dogs. Serum NT-pro BNP concentration was measured with an ELISA validated for use in dogs. Results of physical examination, thoracic radiography, echocardiography, and serum biochemical analysis were recorded for dogs with cardiac disease. **RESULTS:** Serum NT-pro BNP concentration was significantly higher in dogs with cardiac disease than in control dogs. Serum NT-pro BNP concentration in group B2 and C was correlated with left atrial to aortic ratio. **CONCLUSIONS:** According to this study, results suggested that serum NT-pro BNP concentration could be a useful adjunct clinical test for diagnosing chronic valvular disease and assessing the severity of disease in dogs.

Keyword: cardiac biomarker NT-pro BNP, chronic valvular disease, dog

Figure Legends and Table Captions

Table 1. There is Significant difference statistic between groups with 95% confidence interval for mean in variable (NT-pro BNP) ($p < 0.001$).

Graph 1. Mean of NT- pro BNP in three groups B2, C and control.

Graph 2. Correlation of two variables (Left Atrium/Aorta) and (NT-pro BNP) in groups B2 and C.



*Corresponding author's email: dshirani@ut.ac.ir, Tel: 021-61117078, Fax: 021-66438327

J. Vet. Res. 71, 3, 2016