

بررسی تغییرات NGAL در مقایسه با برخی بیومارکرهای معمول آسیب

حاد کلیه متعاقب تجویز سیسپلاتین در سگ

بهنام پدرام^۱، پژمان مرتضوی^{۲*}، مهرداد عامری^۳، ایرج سهرابی حقدوست^۲

چکیده

مطالعه حاضر جهت بررسی تغییرات پلاسمایی و ادراری NGAL در سگ‌های با آسیب حاد کلیوی بدنال تجویز سیسپلاتین و مقایسه آن با اوره و کراتینین سرم خون صورت گرفت. به منظور انجام این مطالعه، از ۱۰ قلابه سگ نر بالغ نژاد مخلوط در دو گروه آزمایش (۷ قلابه) و کنترل (۳ قلابه) استفاده گردید. به حیوانات گروه آزمایش، سیسپلاتین با دوز ۰/۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای ۵ روز متوالی به صورت داخل وریدی تزریق گردید. ادرار و خون هر دو گروه در روزهای صفر (قبل از تزریق)، ۱، (ساعات ۲، ۴ و ۸ پس از تزریق) ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۱۰، ۱۴ و ۲۸ جمع آوری شدند. در حیوانات آزمایش و کنترل میانگین سطوح کراتینین سرم در روز صفر به ترتیب ۰/۶۶ و ۰/۹۴ میلی گرم به ازای هر دسی لیتر سرم بود. از روز ۲ به بعد کراتینین سرم در حیوانات گروه آزمایش تغییرات معنی داری یافت و در روز پایانی مطالعه میانگین آن در گروه‌های آزمایش و کنترل به ترتیب ۱/۳۵ و ۱/۰۰ میلی گرم به ازای هر دسی لیتر سرم بود. NGAL پلاسمایی و ادراری ۲ ساعت پس از اولین تزریق سیسپلاتین افزایش یافتند که در مورد NGAL پلاسمایی میزان آن پس از ۲۴ ساعت کاهش یافت و به مقدار اولیه خود در روز صفر نزدیک شد ولی NGAL ادراری ۲۴ ساعت پس از تزریق اول، کاهش نیافت. نتایج این مطالعه نشان داد که متعاقب تجویز سیسپلاتین در سگ، میزان NGAL پلاسمایی و ادراری در زمانی خیلی سریعتر نسبت به اوره و کراتینین بالا رفته و ارزش تشخیصی بهتری جهت ارزیابی عملکرد کلیه‌ها دارد.

واژگان کلیدی: آسیب حاد کلیه، اوره، کراتینین، NGAL، سگ

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۲۰

مقدمه

کلیه‌ها نقش مهمی در نگهداری تعادل فیزیولوژیکی در بدن دارند بنابراین در صورت آسیب دیدگی می‌توانند بسیار زیان‌آور باشند. در آسیب دیدگی حاد کلیوی تشخیص زود هنگام برای یک درمان موفق، ضروری است. بیومارکرهای قدیمی برای تشخیص آسیب کلیوی (بعنوان مثال سطح کراتینین سرم) غیر اختصاصی و تنها قابل تشخیص بعد از حداقل ۲۴ ساعت پس

از شروع آسیب کلیوی می‌باشند (۱۷ و ۱۳، ۱۰).

بیومارکرهای جدید برای مقاصد بالینی و پژوهشی، در حال پیشرفت هستند (۹). یک بیومارکر ایده‌آل بایستی غیر تهاجمی بوده، سریع و آسان انجام شود و از حساسیت (sensitivity) و ویژگی (specificity) تشخیصی بالایی نیز برخوردار باشد. بیومارکرهای متعددی برای شناسایی آسیب حاد کلیوی در درمانگاه و پژوهش وجود دارند مانند اوره (BUN) کراتینین، کلیرانس کراتینین و میزان ادرار خروجی که مدت‌هاست از آنها استفاده می‌شود، اما ممکن است منعکس کننده تغییرات واقعی در میزان تصفیه گلوMERولی نباشند و نتوانند بیماری حاد کلیه را تشخیص دهند (۱۷).

یکی از بیومارکرهای جدید در تشخیص آسیب کلیوی Neutrophil gelatinase associated lipocaline (NGAL) می‌باشد (۱۲ و ۹). NGAL یک پروتئین ۲۵ کیلو دالتونی باند شده به نوتروفیل‌ها است که توسط نوتروفیل‌ها و انواع سلول‌های پوششی تولید می‌گردد و در سطوح متغیری در معده، کولون، کلیه‌ها، نای، ریه‌ها، رحم، پروستات و غدد بزاقی هم یافت می‌شود (۱۲). NGAL به صورت سریع در آسیب ایسکمیک یا نفروتوکسیک کلیه بالا می‌رود (۹). منشأ آن توبول‌های پیچیده پروکسیمال می‌باشد (۱۲ و ۹) اما همچنین از لوپ هنله و مجاری جمع کننده در کلیه هم ترشح می‌گردد (۱۲). NGAL ۲ ساعت پس از آسیب کلیوی در پلاسمای، سرم و ادرار به روش‌های قابل اندازه‌گیری بوده (۱۳) و ۱۰، ۱ و یک بیومارکر زود هنگام، حساس و غیر تهاجمی می‌باشد (۹).

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشجوی گروه پاتوبیولوژی دامپزشکی، تهران، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه پاتوبیولوژی دامپزشکی، تهران، ایران

sp.mortazavi@gmail.com

۳- گروه پاتوبیولوژی، بیولوژی مقایسه‌ای و علوم ایمنی، موسسه امگن، کالیفرنیا، آمریکا

مواد و روش کار

حیوانات مورد استفاده

در یک مطالعه ۲۸ روزه و در موسسه تحقیقاتی سرم و واکسن سازی رازی اهواز و با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات، از ۱۰ قلابه سگ نر ۱ ساله از نژاد آمیخته ایرانی با میانگین وزنی ۲۴ کیلو گرم استفاده گردید. سگها به دو گروه آزمایش با ۷ قلابه و گروه کنترل با ۳ قلابه تقسیم شدند. سگها از دانشکده دامپزشکی اهواز خریداری و در قفس های فلزی بطور انفرادی نگهداری شدند. مراقبت و تغذیه از حیوانات توسط کارگران آموزش دیده صورت گرفت و روزانه ۲ بار به آنها غذا داده می شد. آب بصورت دائم در اختیار آنها بود. به حیوانات گروه آزمایش برای ۵ روز متوالی سیسپلاتین بصورت خالص با دوز ۰/۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن (mg/kg) به صورت داخل وریدی (iv) از طریق ورید سفالیک به آهستگی و در طی ۱ دقیقه تزریق شد (۸).

مشاهدات بالینی

معاینات بالینی از همه سگها در روز قبل از آزمایش شروع شد و تا پایان دوره ادامه داشت. معاینات روزی ۲ بار صورت گرفت، یکبار صبح، ساعت ۱۰ و یک بار بعد از ظهر ساعت ۵. نشانه های مسمومیت از قبیل کاهش غذا خوردن و آشامیدن، تغییر در رفتار و تحرک، کم آبی، زخم های دهانی، استفراغ و مرگ و میر مورد بررسی قرار می گرفتند. در این پژوهش به جهت کنترل مرگ و میر به خاطر کم بودن تعداد نمونه ها، اقدامات درمانی غیر مداخله گر هم صورت گرفت که این کار منجر به زنده ماندن تمامی سگها تا پایان دوره تحقیق شد.

سنجش اوره و کراتینین سرم

سطوح سرمی کراتینین و اوره که از شاخص های سنجش میزان تصفیه گلوبولی و بیان کننده آسیب کلیوی بودند، اندازه گیری شدند. این پارامترها در روز صفر (قبل از تزریق) و در روزهای (۱، ۲ و ۴ ساعت پس از تزریق) ۲، ۳، ۴، ۷، ۱۰، ۱۴ و ۲۸ اندازه گیری شدند. نمونه های ادراری از طریق کاتتر داخل اورترایی و با استفاده از نلاتون سایز ۸ جمع آوری

در یک مدل تجربی در موش بدنبال آسیب نفروتوکسیک القاء شده با سیسپلاتین NGAL به آسانی در ادرار پس از ۳ ساعت از تجویز سیسپلاتین افزایش یافت (۵). اما تغییرات قابل قبولی در کراتینین سرم تا ۹۶ ساعت پس از آسیب مشاهده نشد. بنابراین بر اساس نتایج تجربی در مدل های حیوانی مسموم شده با سیسپلاتین و شواهد بالینی در دیگر زمینه های آسیب حاد کلیوی، NGAL می تواند یک بیومارکر تشخیصی مطلوب باشد (۵). نقش سیسپلاتین در نفروتوکسیسته ایجاد شده با سیسپلاتین در موش (۸) و سگ (۸) قبلاً گزارش شده است. در سگها انفوزیون سیسپلاتین (۵ mg/kg) باعث نارسایی کلیوی پلی اوریک حاد، همراه با تغییرات بافتی کلیوی از قبیل اتساع لوله های ادراری، تشکیل واکوئول، دژنراسیون، نوزایش و التهاب می گردد. تقریباً ۷۲-۴۸ ساعت بعد از تجویز سیسپلاتین اختلال عملکرد کلیوی در سگها بدنبال آسیب لوله های ادراری دور و نزدیک در بازجذب، همراه با افزایش مقاومت عروق کلیوی ایجاد شد (۸).

هدف ما از این تحقیق، مقایسه حساسیت بیومارکرهای اوره و کراتینین سرم به عنوان قدیمترین شاخص های ارزیابی عملکرد کلیه با NGAL پلاسمایی و ادراری به عنوان یک بیومارکر جدید در تشخیص آسیب حاد کلیه و بیان تغییرات NGAL پلاسمایی و ادراری بدنبال آسیب حاد کلیه القا شده با سیسپلاتین در سگ می باشد. از آنجا که تمامی تحقیقات انجام شده تا کنون بر روی انسان و موش و در خارج از کشور صورت گرفته و تا کنون مطالعه ای بر روی NGAL در سگ بدنبال مسمومیت با سیسپلاتین انجام نگرفته است، لازم دانستیم که این تحقیق را برای اولین بار بر روی سگ انجام داده و بتوانیم به یک آزمایش معمول و قابل دسترس جهت تشخیص زود هنگام آسیب حاد کلیه دست یابیم. امید است که نتایج این پژوهش بتواند در گسترش دیگر تحقیقات و همچنین احراز صلاحیت جهت استفاده بالینی NGAL به کار گرفته شود.

شدند. نمونه‌های خون و ادرار به صورت تازه برای اندازه‌گیری پارامترهای مذکور بکار برده شد و نمونه‌ها توسط دستگاه اتوآنالایزر (Prestige 24 i) ساخت کارخانه Boeki Medical System (و محصول کشور ژاپن) بررسی شدند.

سنجش NGAL پلاسمایی و ادراری

NGAL در ادرار و پلازما با استفاده از تکنیک الایزا اندازه‌گیری شد. برای این منظور از ۲ سی سی خون و ادرار استفاده شد. نمونه‌های خون در EDTA قرار گرفتند و در ۱۰۰۰ دور برای ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. نمونه‌های ادراری در آزمایشگاه به منظور جدا کردن مخروبیه‌های سلولی در ۱۰۰۰ دور برای ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. نمونه‌ها بلافاصله پس از سانتریفوژ در ۸۰- درجه سانتیگراد به مدت ۱ ماه نگهداری شدند. برای سنجش نمونه‌ها از Dog NGAL Eliza Kit استفاده شد. کیت مذکور از شرکت BIOPORTO کشور دانمارک خریداری گردید. و روش الایزا بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده با دستگاه الایزا ریدرمدل (ELX 800 Bio-TEK) انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از روش آنالیز واریانس مقادیر تکراری و همچنین روش تی تست زوجی و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد. سطح احتمال معنی‌دار کوچکتر از ۵ درصد مورد قبول قرار گرفت. تمام میانگین‌ها با انحراف معیار و تعداد نمونه مورد بررسی قرار گرفتند. در روش تی تست زوجی، بررسی تغییرات متغیرها در حیوانات آزمایش و کنترل بصورت جداگانه و نسبت به روز صفر در نظر گرفته شد.

نتایج

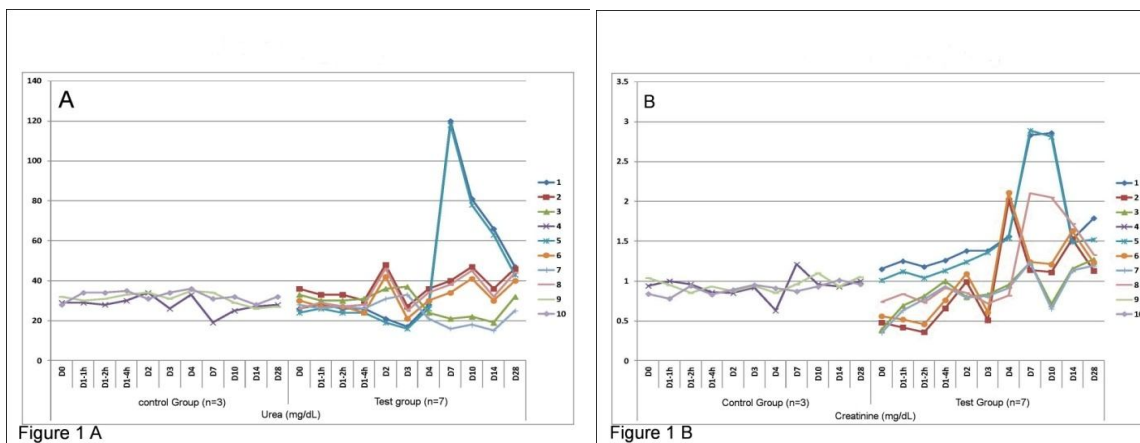
جهت بررسی بهتر عملکرد کلیه‌ها اقدام به اخذ معاینه بالینی جهت تفسیر بهتر نتایج گردید. لذا نشانه‌های مسمومیت با سیس پلاتین بصورت بالینی مورد بررسی قرار گرفت. خلاصه نتایج بالینی ۱۰ قلابه سگ آزمایش (۷-۱) و کنترل (۱۰-۸) در جدول و نمودار ۱ آمده است.

جدول ۱- علائم بالینی مشاهده شده ۱۰ قلابه سگ در طی ۲۸ روز

گروه	شماره سگ	کاهش غذا خوردن	کاهش آشامیدن	تغییر در رفتار و تحرک	کم‌آبی	زخم‌های دهانی	استفراغ	مرگ و میر
آزمایش	۱	+	+	+	+	+	+	-
	۲	+	+	-	-	-	+	-
	۳	+	+	-	+	-	-	-
	۴	+	+	+	+	+	+	-
	۵	+	+	-	-	-	+	-
	۶	+	+	-	+	-	-	-
	۷	+	+	+	+	+	+	-
کنترل	۸	-	-	-	-	-	-	-
	۹	-	-	-	-	-	-	-
	۱۰	-	-	-	-	-	-	-

تمامی سگ‌های گروه آزمایش دارای علائم بالینی مسمومیت با سیسپلاتین شده‌اند. در این پژوهش به جهت کنترل مرگ و میر

از نتایج بدست آمده مشخص گردید که در گروه آزمایش تغییرات بالینی رخ داده است. همانطوری که مشاهده می‌گردد



نمودار ۱- تغییرات اوره (A) و کراتینین سرم (B) در سگ‌های گروه آزمایش (تعداد = ۷) بدنبال تجویز سیسپلاتین با دوز ۰/۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم برای ۵ روز متوالی و سگ‌های گروه کنترل (تعداد = ۳)

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، سطوح افزایش یافته از بیومارکرهای قدیمی که مشخص کننده کاهش میزان تصفیه گلومرولی (GFR) و آسیب حاد کلیه می‌باشد، کراتینین سرم بود که در روز ۷ در این مطالعه به معنی میانگین ۳۹/۵ رسید.

جدول ۲- مقادیر پارامترهای سرمی و ادراری (میانگین \pm انحراف معیار) برای تعیین آسیب حاد کلیه در سگ‌های گروه آزمایش (تعداد = ۷) بدنبال تجویز سیسپلاتین با دوز ۰/۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم برای ۵ روز متوالی و سگ‌های گروه کنترل (تعداد = ۳)

مارکر ^a	گروه	روز های مطالعه ^b										
		روز ۰	روز ۱/۸	روز ۱/۲	روز ۱/۴	روز ۲	روز ۳	روز ۴	روز ۷	روز ۱۰	روز ۱۴	روز ۲۸
PNGAL (pg/mL)	آزمایش	۷۹/۱ \pm ۶/۴	۵۵/۷ \pm ۳/۸*	۱۲۱/۴ \pm ۱۲/۴*	۷۹/۷ \pm ۵/۹	۸۹/۷ \pm ۲۴/۸	۱۱۵/۱ \pm ۲۷/۶	۱۱۸/۵ \pm ۲۶	۱۱۱/۱ \pm ۳۷/۹*	۱۵۶ \pm ۸/۵*	۱۰۰/۸ \pm ۱۷/۲	۳۰۸/۷ \pm ۳۹/۲*
	کنترل	۷۸ \pm ۱۳/۶	۷۱/۳ \pm ۳/۷	۸۰ \pm ۳	۷۸/۶ \pm ۸/۱	۷۶/۳ \pm ۹/۷	۷۷/۲ \pm ۳۱/۸	۷۶/۶ \pm ۱۳/۶	۷۷ \pm ۱۴/۱	۷۵/۳ \pm ۱۴/۴	۸۰ \pm ۱۳/۱	۷۵/۶ \pm ۱۴/۷
UNGAL (pg/mL)	آزمایش	۴۳/۱ \pm ۴	۷۱/۸ \pm ۱/۸۷	۱۱۵/۴ \pm ۱۰/۲*	۱۳۳/۱ \pm ۱۲*	۱۱۴/۲ \pm ۴۱/۷	۱۵۷/۷ \pm ۴۹/۴	۱۰۷/۴ \pm ۱۹/۷*	۱۴۸/۵ \pm ۵۶/۶	۲۲۶ \pm ۷۴/۷*	۹۷/۷ \pm ۱۸/۱*	۳۷۵ \pm ۷۹/۲*
	کنترل	۴۸ \pm ۸/۷	۵۳/۳ \pm ۹/۶	۵۲/۶ \pm ۱/۰	۵۲ \pm ۱۴	۴۸ \pm ۱/۱	۵۶ \pm ۱۱	۵۸ \pm ۱۳/۱	۳۶/۶ \pm ۱۲/۲	۳۶ \pm ۱۱	۶۰ \pm ۱۵/۵	۵۷/۶ \pm ۱۸/۸
Cr (mg/dL)	آزمایش	۰/۶ \pm ۰/۱	۰/۷ \pm ۰/۱	۰/۷ \pm ۰/۱	۰/۹ \pm ۰*	۱/۰ \pm ۰*	۰/۸ \pm ۰/۱*	۱/۴ \pm ۰/۲*	۱/۸ \pm ۰/۲*	۱/۶ \pm ۰/۳*	۱/۴ \pm ۰*	۱/۳ \pm ۰*
	کنترل	۰/۹ \pm ۰	۰/۹ \pm ۰	۰/۹ \pm ۰	۰/۸ \pm ۰	۰/۸ \pm ۰	۰/۹ \pm ۰	۰/۷ \pm ۰	۱ \pm ۰/۱	۰/۹ \pm ۰	۰/۹ \pm ۰	۱ \pm ۰
UN (mg/dL)	آزمایش	۲۹ \pm ۱/۶	۲۸/۴ \pm ۰/۹	۲۷/۷ \pm ۱/۱	۲۷ \pm ۱	۳۴/۷ \pm ۴/۳	۲۵/۱ \pm ۲/۹	۲۸/۴ \pm ۲	۵۵/۲ \pm ۱۶/۷	۴۷/۴ \pm ۹/۲	۳۷/۲ \pm ۷/۵	۳۹/۵ \pm ۳*
	کنترل	۲۹/۶ \pm ۱/۲	۳۱ \pm ۱/۵	۳۱ \pm ۱/۷	۳۲/۶ \pm ۱/۴	۳۳ \pm ۱	۳۰/۳ \pm ۲/۳	۳۴/۶ \pm ۰/۸	۲۸ \pm ۴/۵	۲۸/۶ \pm ۲	۲۷ \pm ۰/۵	۲۹ \pm ۱/۵

UN: کراتینین؛ PNGAL: سرمی NGAL؛ UNGAL: ادراری Cr؛ NGAL: neutrophil gelatinase-associated lipocaline؛ اوره.

^b آنالیز مارکرهای سرمی در روز صفر (قبل از تزریق سیسپلاتین)، روز یک ساعت ۱، ۲ و ۴ (پس از تزریق سیسپلاتین)، روزهای ۲، ۳، ۴، ۷، ۱۰، ۱۴ و ۲۸. * نشانگر اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) نسبت به روز قبل از تزریق سیسپلاتین در سگ‌های آزمایش و کنترل.

سنجش NGAL پلاسمایی و ادراری

NGAL پلاسمایی ظرف ۲ ساعت پس از آسیب کلیه بالا رفته، بنابراین شروع افزایش آن پس از ۲ ساعت بود. ولی از ساعت ۲ تا ساعت ۴ افزایش آن خیلی کم بوده است. ضمناً پس از ۲۴ ساعت از تزریق روز اول مجدداً کاهش یافته و به مقدار اولیه خود در روز صفر نزدیک شده است.

NGAL ادراری ظرف ۲ ساعت پس از آسیب کلیه بالا رفته، ولی از ساعت ۲ تا ساعت ۴ افزایش آن کم بوده است. ضمناً پس از ۲۴ ساعت از تزریق روز اول کاهش نیافته و مانند ساعت ۲ مانده است. بنابراین چنین استنباط می‌شود که زمان بازگشت NGAL ادراری نسبت به NGAL پلاسمایی به حالت اولیه دیرتر می‌باشد.

با مقایسه NGAL ادراری و پلاسمایی ساعت ۲ می‌توان استنباط نمود که میزان افزایش اولیه در NGAL ادراری تقریباً نزدیک ۲ برابر NGAL پلاسمایی بوده است (جدول و نمودار ۲).

بحث

هدف از این مطالعه ۲۸ روزه ارزیابی تغییرات در سطوح بیان شده NGAL پلاسمایی و ادراری همراه با آسیب حاد کلیوی در سگ بدنال تجویز سیسپلاتین با دوز ۰/۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن در روز برای ۵ روز متوالی بود. این مطالعه نشان داد که NGAL به عنوان یک بیومارکر می‌تواند آسیب حاد کلیه را بصورت سریع نشان دهد.

با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که NGAL خیلی سریعتر نسبت به اوره و کراتینین تغییرات را نشان می‌دهد، بطوریکه در این مطالعه اوره پس از ۲۸ روز و کراتینین پس از ۲۴ ساعت افزایش معنی داری را نشان دادند در حالیکه NGAL پلاسمایی و ادراری پس از ۲ ساعت افزایش معنی داری را نشان داد. همچنین مشخص شد که NGAL پلاسمایی پس از ۲۴ ساعت به میزان اولیه خود می‌رسد در حالیکه NGAL ادراری پس از ۲۴ ساعت نیز، همچنان بالا باقی می‌ماند. بنابراین NGAL ادراری نسبت به NGAL پلاسمایی می‌تواند تا مدت زمان بیشتری پس از شروع آسیب کلیه، ارزش تشخیصی داشته باشد. ضمناً در این مطالعه NGAL ادراری در اکثر روزها از غلظت بیشتری نسبت به NGAL پلاسمایی برخوردار بود که تاییدی دیگر بر حساس بودن آن نسبت به NGAL پلاسمایی می‌باشد.

در تحقیقی بر روی انسان بدنال آنژیوپلاستی عروق کرونر مشخص گردید که کراتینین ظرف ۲۴ ساعت افزایش می‌یابد در صورتیکه NGAL پلاسمایی و ادراری طی ۲ ساعت افزایش یافتند (۱۳).

در مطالعه ای دیگر بعد از آنژیوپلاستی عروق کرونر در انسان NGAL سرمی در ساعات ۲ و ۴ و NGAL ادراری در ساعات ۴ و ۱۲ افزایش معنی داری وجود داشت (۱۲).

بنابراین با توجه به یافته‌های ما در این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که NGAL ادراری تا زمان بیشتری نسبت به NGAL پلاسمایی بالا باقی می‌ماند. میزان افزایش اولیه NGAL ادراری (ساعت ۲) تقریباً ۲ برابر NGAL پلاسمایی می‌باشد.

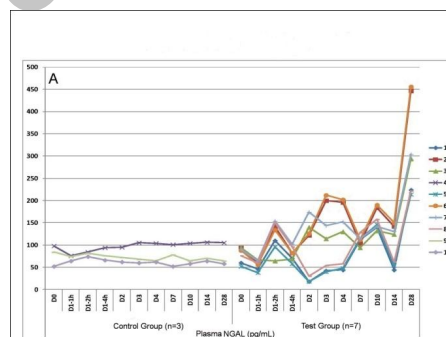


Figure 2 A

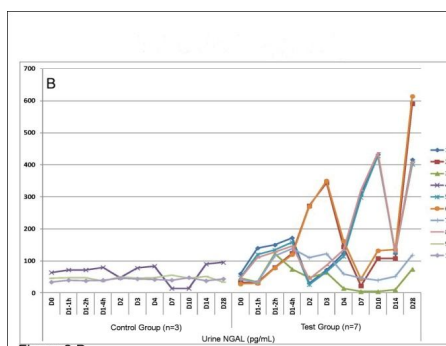


Figure 2 B

نمودار ۲- تغییرات NGAL در پلاسما (A) و ادرار (B) در سگ‌های گروه آزمایش (تعداد = ۷) بدنال تجویز سیسپلاتین با دوز ۰/۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم برای ۵ روز متوالی و سگ‌های گروه کنترل (تعداد = ۳)

مشابه با گزارش های قبلی (۸۰۱۴) ما ثابت کردیم که بدنبال اندازه گیری های سطح کراتینین سرمی مشخص کننده عملکرد کلیه، تغییری رخ داده است که بر اثر تجویز سیسپلاتین با دوز ۰/۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در روز بوده است و این تغییر قابل توجه در این مطالعه در روز ۷ صورت گرفته است. یافته های ما نشان می دهد که کراتینین سرم یک بیومارکر غیر حساس و دیر هنگام برای آسیب حاد کلیه ایجاد شده بر اثر تجویز سیسپلاتین در سگ می باشد.

در مطالعه ای مشابه بدنبال تجویز سیسپلاتین با دوز ۰/۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن برای ۵ روز متوالی افزایش کراتینین بطور قابل توجه در روز ۱۶ اتفاق افتاد (۸) که البته این مسئله می تواند به خاطر تفاوت های سنی و نژادی باشد و اینکه در تحقیق ما نحوه تجویز سیسپلاتین بصورت خالص بود در حالیکه در مطالعه مذکور تزریق سیسپلاتین بصورت رقیق شده با سرم قندی - نمکی صورت گرفت که می تواند شدت مسمومیت را کاهش بدهد. در مطالعه ای بروی انسان بدنبال تجویز سیسپلاتین همراه با سالیس کاهش سمیت کلیوی مشاهده شده است (۷).

تغییرات در سطوح کراتینین ادراری، اوره، سدیم، پتاسیم، کلر و کلسیم بر اثر تجویز سیسپلاتین قبلا گزارش شده است (۸۰۱۴).

این مطالعه برای اولین بار در سگ متعاقب تجویز سیسپلاتین نشان داد که افزایش NGAL ادراری و پلاسمایی در زمانی خیلی سریعتر (۲ ساعت) نسبت به اوره و کراتینین و دیگر بیومارکرهای بیوشیمیایی قدیمی که آسیب حاد کلیه را نشان می دهند، اتفاق می افتد. همچنین مشخص شد که NGAL ادراری می تواند نسبت به NGAL پلاسمایی ارزش تشخیصی بیشتری داشته باشد. بعلاوه سطوح NGAL پلاسمایی و ادراری بطور واضح در ارتباط با شدت نارسایی کلیه بودند.

علت افزایش NGAL پلاسمایی و ادراری در ساعت ۲، افزایش تنظیم یافته NGAL Messenger RNA در سلول های پوششی لوله های ادراری کلیه همراه با تولید پروتئین NGAL بود. این پاسخ بدنبال انواع مختلف محرک های آسیب رسان (سیسپلاتین) ایجاد می شود و این پروتئین بعنوان یک ابزار محدود کننده استرس در روند های پاتوفیزیولوژیکی آسیب حاد کلیه اهمیت دارد. NGAL دارای اثرات ضد آپوپتوزی می باشد و باعث محافظت ان کادهرین (N-Cadherin) در سلول های پوششی لوله ها می شود. همچنین تنظیم افزایش یافته ای از آنزیم محافظتی کلیه یعنی هموکسیژناز ۱ را انجام می دهد که اثرات مهم آنتی اکسیدانی دارد (۱۱).

در این مطالعه علاوه بر اندازه گیری NGAL پلاسمایی و ادراری، اوره و کراتینین سرم را که از بیومارکر های شناخته شده قدیمی برای آسیب حاد کلیه می باشند را اندازه گرفتیم تا ثابت کنیم که NGAL زودتر از آنها می تواند آسیب حاد کلیه را نشان دهد.

هنوز در سگ، تغییرات در سطوح کراتینین سرم (۱۶، ۱۵، ۶، ۴، ۲) و اوره از شایع ترین استفاده کننده های تشخیصی برای آسیب کلیه می باشند. (۱۶، ۱۵، ۱۴، ۶، ۴، ۳، ۲).

سطوح افزایش یافته از بیومارکرهای قدیمی که مشخص کننده کاهش میزان تصفیه گلومرولی (GFR) و آسیب حاد کلیه می باشد، کراتینین سرم بود که از روز دوم پس از شروع تزریق سیسپلاتین افزایش یافت و تا پایان دوره بالا باقی ماند ولی در روز ۷ در این مطالعه به حداکثر خود یعنی میانگین ۱/۸ میلی گرم به ازای هر دسی لیتر سرم رسید. از دیگر بیومارکرهای تشخیصی مهم دیگر اوره بود که در این پژوهش در روز ۲۸ به افزایش معنی دار خود یعنی میانگین ۳۹/۵ رسید.

افزایش سطح کراتینین سرم تنها با آسیب های مشخص شده به نرون ها رخ می دهد (۱۶، ۱۵، ۶، ۴، ۳، ۲).

REFERENCES

- 1- Bachorzewska-Gajewska, H., Malyszko, J., Sitniewska, E., Malyszko, J.S., Poniatowska, B., Pawlaka, K., Dobrzycka, S. (2008): NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) and cystatin C: Are they good predictors of contrast nephropathy after percutaneous coronary interventions in patients with stable angina and normal serum creatinine. *International Journal of Cardiology*. 127:2:290-291.
- 2- Daugaard, G., Abildgaard, U., Larsen, S., Holstein-Rathlou N-H., Amtorp, O., Olesen, H.P. (1986): Functional and histopathological changes in dog kidneys after administration of cisplatin. *Renal Physiol*. 10:54-64.
- 3- Daugaard, G., Abildgaard, U., Holstein-Rathlou, N-H., Amtorp, O., Olesen, H.P., Leyssac, P.P. (1987): Acute and subacute hemodynamic and tubular effect of cisplatin in dogs. *Contr Nephrol*. 56:7-11.
- 4- Forterre, S., Raila, J., Schweigert, F.J. (2004): Protein profiling of urine from dogs with renal disease using proteinchip analysis. *J Vet Diagn Invest*. 16:271-277.
- 5- Gasparia, F., Cravedia, P., Mandalà, M., Perico, N., de Leona, F.R., Stucchia, N., Ferraria, S., Labianca, R., Remuzia, G., Ruggerentia, P. (2010): Predicting Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury by Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Excretion: A Pilot Prospective Case-Control Study. *nephron Clinical practice*. 115:154-160.
- 6- Hardie, E.M., Page, R.L., Williams, P.L., Fischer, W.D. (1991): Effect of time of cisplatin administration on its toxicity and pharmacokinetics in dogs. *Am J Vet Res*. 11:1821-1825.
- 7- Joseph, T.S., Joseph, A.L., Robert, L.C., Ilona S., Edward, V.H. (2003): Saline, Mannitol, and furosemide hydration in acute cisplatin nephrotoxicity: a randomized trial. *Cancer Chemother Pharmacol*; 52:13-18.
- 8- McDuffie J.E., Sablad, M., Ma, J., Snook, S. (2010): Urinary parameters predictive of cisplatin-induced acute renal injury in dogs. *Cytokine*. 52: 156-162.
- 9- Mishra, J., Ma, Q., Prada, A., Mitsnefes, M., Zahedi, M., Yang, J., Devarajan, P. (2003): Identification of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Novel Early Urinary Biomarker for Ischemic Renal Injury. *AJKD*. 14:2534-2543.
- 10- Mishra, J., Dent, C., Tarabishi, R., Mitsnefes, M.M., Ma, Q., Kelly, K., Ruff, S.M., Zahedi, M., Shao, M., Bean, J., Mori, K., Barasch, J., Devarajan, D.P. (2005): Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *THE LANCET*. 365:1231-1238.
- 11- Mori, K., Lee, H.T., Rapoport, D. (2005): Endocytic delivery of lipocalin - siderophore - iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J clin Invest*. 115: 610-621.
- 12- Sachin, S. S., Dinna, C., Ilona, B., Chang, Y.C., Federico, N., Paolo, L., Massimo, D., Valentina C., Grazia, V., Claudio, R. (2010): NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int Urol Nephrol*. 42: 141-150.
- 13- Sampurna, M.T., Valentina, O.P., Manish, S., Prakash, P.P., Richard, G.B. (2009): Rapid Detection Of Acute Kidney Injury by Plasma and Urinary Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin after Cardiopulmonary Bypass. *J Cardiovasc pharmacol*. 53:261-266.
- 14- Schaeppi, U., Heyman, I.A., Fleischman, R.W., Rosenkrantz, H., Ilievski, V., Phelan, R. (1973): Cis-Dichlorodiammineplatinum(II) (NSC-119 875): preclinical toxicologic evaluation of intravenous injection in dogs, monkeys and mice. *Toxicol Appl Pharmacol*; 25:230-241.
- 15- Sharkey, L.C., Berzina, I., Ferasin, L., Tobias, A.H., Lulich, J.P., Hegstad-Davies R. L. (2009) Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in dogs with renal failure. *JAVMA*. 234:767-70.
- 16- Uechi, M., Nogami, Y., Terui, H., Nakayama, T., Ishikawa, R., Wakao, Y. (1994): Evaluation of urinary enzymes in dogs with early renal disorder. *J Vet Med Sci*. 56:555-556.
- 17- Wagener, G., Jan, Michael., Kim, Mihwa., Mori, Kiyoshi., Barasch, J.M., Sladen, R. N., Lee, H.T. (2006): Association between Increases in Urinary Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin and Acute Renal Dysfunction after Adult Cardiac Surgery. *AJKD*. 105:485-491.