

## Evaluation of plasma concentration of atrial natriuretic peptide (ANP) in horses with pulmonic valve regurgitation

Najizadeh, M.H.<sup>1</sup>, Mokhber Dezfouli, M.R.<sup>2,6</sup>, Sadeghian Chaleshtori, S.<sup>3,6\*</sup>, Nikbakht Broujeni, G.R.<sup>4,6</sup>, Vajhi, A.<sup>5,6</sup>, Jabari Fakhr, M.<sup>6</sup>, Mehrara, M.R.<sup>7</sup>, Shad, H.<sup>8</sup>

1- PhD Student, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

2- Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

4- Professor, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

5- Professor, Department of Surgery and Radiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

6- Researcher of Institute of Biomedical Research, University of Tehran, Tehran, Iran.

7- Private sector veterinarian.

8- BSc of Veterinary Laboratory Science, Department of Surgery and Radiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

\*Corresponding author's email: s.sadeghian@ut.ac.ir

(Received: 2020/9/19 Accepted: 2020/12/1)

### Abstract

Atrial natriuretic peptide (ANP) is secreted by cardiac myocytes and its plasma concentration often increases in patients with cardiovascular disease in response to blood volume expansion and stretching of cardiac chambers. Increase in plasma concentration of ANP ( $C_{pANP}$ ) has been observed in humans with cardiac diseases and horses with left-sided valvular disease. This study aimed to investigate plasma ANP level in horses with pulmonic valve regurgitation and its association with echocardiographic parameters. Clinical and echocardiographic examinations were performed on several jumping horses in the equestrian clubs of Tehran, Iran. Eleven horses with pulmonic valve regurgitation were identified by echocardiographic examination and were included in the case group (Group A), and 14 healthy horses were taken as the control group (Group B). Then, B-Mode, M-Mode and doppler echocardiographic parameters were measured and compared between the two groups. Blood samples from the jugular vein were collected in tubes and were transferred to laboratory.  $C_{pANP}$  was measured by Sandwich ELISA method using an equine specific kit. Mean  $C_{pANP}$  of horses in group1 and group2 were  $6.39 \pm 2.87$  pg/ml and  $4.78 \pm 2.45$  pg/ml respectively, but no significant differences were observed. Except for right ventricular internal diameter, other echocardiographic parameters were not significantly different between the two groups.  $C_{pANP}$  was significantly correlated to systolic right ventricle length and left ventricular width. In conclusion no significant differences were observed between  $C_{pANP}$  of healthy horses and horses with pulmonic regurgitation. Based on the Correlation between  $C_{pANP}$  and right ventricle length, an elevation in  $C_{pANP}$  might be expected in severe pulmonic regurgitation with change in ventricle's dimensions.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** ANP, Pulmonic valve regurgitation, Echocardiography, Horse.

## بررسی غلظت پلاسمایی پپتید ناتریورتیک دهلیزی در اسب‌های مبتلا به پس‌زدگی دریچه ریوی قلب

محمدحسن ناجی‌زاده<sup>۱</sup>، محمدرضا مخبردزفولی<sup>۲</sup>، سیروس صادقیان‌چالشتری<sup>۳\*</sup>، غلامرضا نیکبخت‌بروجنی<sup>۴</sup>، علیرضا وجهی<sup>۵</sup>، معصومه جباری‌فخر<sup>۶</sup>، محمدرضا مهرآرا<sup>۷</sup>، حسین شاد<sup>۸</sup>

- ۱- دستیار تخصصی گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۲- استاد گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۳- استادیار گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۴- استاد گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۵- استاد گروه جراحی و رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۶- پژوهشگر پژوهشکده تحقیقات زیست‌پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۷- دامپزشک بخش خصوصی.
- ۸- کارشناس گروه جراحی و رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

نویسنده مسئول مکاتبات: s.sadeghian@ut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۹/۶/۲۹ پذیرش نهایی: ۹۹/۹/۱۱)

### چکیده

پپتید ناتریورتیک دهلیزی (atrial natriuretic peptide; ANP) توسط سلول‌های عضلانی قلب به دنبال افزایش حجم خون و کشیدگی دیواره حفرات قلب، ترشح می‌شود. افزایش غلظت ANP در بیماری‌های قلبی انسان و اختلالات دریچه‌ای سمت چپ قلب اسب مشاهده شده است. هدف از مطالعه حاضر، مقایسه غلظت پلاسمایی ANP در اسب‌های سالم و اسب‌های مبتلا به پس‌زدگی دریچه ریوی و بررسی ارتباط آن با پارامترهای اکوکاردیوگرافی بود. بدین منظور با انجام معاینات بالینی و اکوکاردیوگرافی بر روی تعدادی از اسب‌های پرش در اسب‌داری‌های اطراف تهران، تعداد ۱۱ رأس اسب مبتلا به پس‌زدگی دریچه ریوی شناسایی شده و در گروه ۱ و ۱۴ رأس اسب که فاقد نشانه‌های بیماری بودند، در گروه ۲ قرار داده شدند. پارامترهای اندازه‌گیری شده در اکوکاردیوگرافی دوبعدی، یک‌بعدی و داپلر اسب‌های مذکور، ثبت و مقایسه گردید. همچنین از سیاهرگ و داج آن‌ها، نمونه‌های خون جمع‌آوری و غلظت پلاسمایی ANP با روش ساندویچ الایزا و با استفاده از کیت اختصاصی ANP اسب اندازه‌گیری شد. بررسی یافته‌ها نشان داد که به جز میانگین قطر داخلی بطن راست، اختلاف معنی‌دار دیگری در پارامترهای اکوکاردیوگرافی دو گروه وجود نداشت. میانگین غلظت پلاسمایی ANP در گروه ۱ و ۲ به ترتیب  $6/2 \pm 39/87$  و  $4/78 \pm 2/45$  پیکوگرم در میلی‌لیتر بود ولی این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. اما بین غلظت پلاسمایی ANP با طول بطن راست و عرض بطن چپ، همبستگی معنی‌داری ثبت گردید ( $p \leq 0/05$ ). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بین غلظت ANP و اندازه بطن راست قلب اسب ارتباط مستقیم وجود دارد. از این رو می‌توان انتظار داشت، در بیماری‌هایی که موجب اتساع بطن راست قلب اسب می‌شوند، غلظت این پپتید افزایش یابد. کلیدواژه‌ها: پپتید ناتریورتیک دهلیزی، پس‌زدگی دریچه ریوی، اکوکاردیوگرافی، اسب.

## مقدمه

بیماری‌های عفونی و غیرعفونی که موجب آسیب عضله میوکارد می‌شوند، مشاهده می‌کنیم (Hassanpour and Fartashvand, 2013; Fartashvand *et al.*, 2013; Azimzadeh and Hassanpour, 2018)، پپتید ناتریورتیک دهلیزی (ANP) در بیماری‌های قلبی، غالباً به دنبال افزایش بار حجمی قلب و کشیدگی مکانیکی دیواره حفرات قلب، توسط سلول‌های عضلانی قلب ترشح می‌شود (Schwarzwalder *et al.*, 2003). در مطالعه تراخسل و همکاران نیز مشخص شده است که غلظت تروپونین I در اسب‌های مبتلا به پس‌زدگی دریچه‌ای افزایش نمی‌یابد، در حالی که غلظت پپتید ناتریورتیک دهلیزی نشانگر مناسبی برای تشخیص پس‌زدگی دریچه‌ای قلب می‌باشد (Trachsel *et al.*, 2013).

از پپتیدهای ناتریورتیک به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی در تشخیص و درمان بیماری‌های قلبی در طب انسانی و دامپزشکی استفاده می‌شود (Yoshimura *et al.*, 2001; Van kimmenade and Jannuzi, 2009; Meems and Burnett, 2016). غلظت پلاسمایی پپتید-های ناتریورتیک در انسان‌های مبتلا به نارسایی احتقانی قلب افزایش می‌یابد و این افزایش به طور مستقیم با شدت نارسایی قلبی مرتبط است، به طوری که مشاهده شده در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی غلظت پلاسمایی ANP سه برابر بیشتر از افراد سالم است (Pettersson *et al.*, 2011; Pandit *et al.*, 1986). در طب انسانی، علاوه بر ANP، از اندازه‌گیری غلظت پلاسمایی BNP و NT-proBNP (N-terminal proBNP) متابولیت پایدار حاصله از تجزیه پیش‌ساز BNP می‌باشد، برای تشخیص و ارزیابی میزان خطر بیماری‌های قلبی نیز استفاده می‌شود (Mukoyama *et al.*, 1991; Davidson

پپتیدهای ناتریورتیک دسته‌ای از هورمون‌ها هستند که غالباً توسط سلول‌های عضلانی قلب ترشح می‌شوند و بر سیستم گردش خون اثر می‌گذارند (Woods, 2004). تاکنون ۳ نوع از پپتیدهای مذکور، تحت عناوین پپتید ناتریورتیک دهلیزی (ANP)، پپتید ناتریورتیک تیپ-B (B-type natriuretic peptide; BNP) و پپتید ناتریورتیک تیپ-C (C-type natriuretic peptide; CNP) شناسایی شده‌اند که از این بین ANP و BNP بیشتر مورد توجه هستند (Sudoh *et al.*, 1990; Maisel *et al.*, 2018). پپتید ناتریورتیک دهلیزی دارای ۲۸ اسید آمینه بوده و اولین بار در گرانول‌هایی در میوسیت‌های دهلیز قلب شناسایی گردید (Kisch, 1956; Song *et al.*, 2016). افزایش حجم خون و کشیدگی دیواره دهلیزها و بطن‌ها از مهم‌ترین عوامل آزادسازی ANP از سلول‌های دیواره حفرات قلب می‌باشند (Edwards *et al.*, 1988; Lee *et al.*, 2020). زمانی که عملکرد قلب دچار اختلال می‌شود، پپتیدهای ناتریورتیک از طریق افزایش دفع سدیم و تولید ادرار، اتساع عروق و ممانعت از فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین-آلدوسترون و سیستم عصبی سمپاتیک، حجم و فشار خون در گردش را کاهش می‌دهند و بدین ترتیب از افزایش بار حجمی قلب، هیپرتروفی بطن‌ها و پیشرفت نارسایی قلب جلوگیری می‌کنند (De bold *et al.*, 1981; Yoshimura *et al.*, 2001; Casserly and Klinger, 2009; Wong *et al.*, 2017). برخلاف تروپونین قلبی که یک شاخص تشخیصی جهت آسیب میوکارد و انفارکتوس قلبی می‌باشد و افزایش غلظت آن را در دام‌های اهلی از جمله اسب، گاو و گوسفند در

اسب‌های مبتلا به پس‌زدگی دریچه ریوی و ارتباط آن با پارامترهای اندازه‌گیری شده در اکوکاردیوگرافی سمت راست قلب بود.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی، بر اساس معادلات آماری تعیین حجم نمونه، حداقل تعداد نمونه در هر گروه ۹ رأس اسب محاسبه گردید. با انجام معاینه روی تعداد زیادی از اسب‌های پرش اسب‌داری‌های اطراف تهران، نمونه‌های لازم جهت قرار گرفتن در هر کدام از گروه‌های سالم و دارای ناهنجاری، شناسایی گردیدند. ابتدا سن، نژاد، جنس و وزن تمامی اسب‌های مورد مطالعه ثبت گردید. به‌منظور ارزیابی پارامترهای اکوکاردیوگرافی، با مقید کردن فیزیکی اسب‌ها و بدون استفاده از داروهای آرامبخش و توسط دستگاه اکوکاردیوگرافی (Sonosite MicroMaxx, USA) مجهز به یک ترنس‌دیوسر آرایش فازی مولتی فرکانس (با فرکانس ۵-۱ مگاهرتز) و با روش‌های دو بعدی (B-mode)، یک بعدی یا حرکتی (M-mode) و داپلر انجام شد. با توجه به این‌که مطالعه حاضر از نوع مورد-شاهد بود، از این رو اسب‌هایی که در اکوکاردیوگرافی داپلر، دارای عارضه پس‌زدگی خون از دریچه ریوی تشخیص داده شدند، در گروه ۱ (گروه مورد) و اسب‌هایی که فاقد پس‌زدگی دریچه ریوی و هرگونه علائم بالینی و آزمایشگاهی بودند در گروه ۲ (گروه شاهد) قرار گرفتند. با استفاده از اکوکاردیوگرافی یک بعدی (حرکتی) و دوبعدی، قطر دیواره جانبی بطن راست (right ventricular parietal wall; RVPW)، قطر داخلی بطن راست (right ventricular internal

et al., 1996; Di angelantino et al., 2009). ساختار مولکولی BNP و NT-proBNP در گونه‌های مختلف با هم متفاوت است در حالی که بین ساختار ملکولی ANP در انسان و اسب، شباهت ۱۰۰ درصدی وجود دارد، از این‌رو غالب تحقیقات انجام‌شده بر روی اسب تاکنون بر اندازه‌گیری ANP با استفاده از کیت‌های انسانی متمرکز بوده است (Van der vekens et al., 2013; Nakagawa et al., 2019). در این خصوص در مطالعه‌ای، با اندازه‌گیری غلظت BNP در اسب با استفاده از کیت مخصوص خوک، تفاوتی در غلظت پلاسمایی BNP بین اسب‌های سالم و اسب‌های مبتلا به بیماری‌های قلبی، مشاهده نگردیده است (Van der vekens et al., 2015a)، اما در مطالعات دیگری که غلظت پلاسمایی ANP را با استفاده از کیت انسانی در اسب مورد سنجش قرار داده‌اند، مشخص شده است که در اسب‌هایی که دچار نارسایی قلبی همراه با پس‌زدگی دریچه میترال و تغییر اندازه حفرات سمت چپ قلب به خصوص دهلیز چپ بودند، غلظت پلاسمایی ANP افزایش یافته و این افزایش با شدت بیماری قلبی در ارتباط بوده است (Trachsel et al., 2012; Trachsel et al., 2013; Leroux et al., 2014; Trachsel et al., 2015; Van der vekens et al., 2016).

با توجه به مطالب ذکر شده به‌نظر می‌رسد که سنجش غلظت پلاسمایی ANP در اسب، می‌تواند در تشخیص اختلالات دریچه‌ای و اتساع حفرات قلبی کمک‌کننده باشد. البته در بیشتر مطالعات انجام‌شده در مورد اسب-ها، غلظت پلاسمایی ANP در اختلالات سمت چپ قلب مورد ارزیابی قرار گرفته است. بنابراین، هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی غلظت پپتید ناتریورتیک دهلیزی با استفاده از کیت الایزای اختصاصی در

نمونه‌های خون جلوگیری می‌کند) ریخته شده (Van der vekens *et al.*, 2015b) و در کنار یخ به آزمایشگاه پژوهش‌شکده تحقیقات زیست پزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل شدند. سپس نمونه‌های خون با دور ۴۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Eppendorf, Germany) شده و پلاسمای آن‌ها جداسازی گردید و در فریزر (GFL, Germany) ۸۰- درجه سلسیوس تا جمع‌آوری کامل نمونه‌ها، نگه‌داری شدند. در ادامه، غلظت ANP در نمونه‌های پلاسمای، با روش ساندریچ الایزا و با استفاده از کیت‌های اختصاصی ANP اسب (Bioassay Technology Laboratory, China) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ابتدا ۴۰ میکرولیتر از هر نمونه پلاسمای، به داخل گوده‌هایی که با آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی ANP اسب پوشش داده شده بودند، ریخته شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی ANP متصل به بیوتین به همراه ۵۰ میکرولیتر استرپتواویدین-HRP به گوده‌ها اضافه شده و پس از ۶۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، گوده‌ها شستشو داده شدند و در ادامه کار، ۵۰ میکرولیتر از دو محلول کروموژن به گوده‌ها اضافه گردید و پس از ۱۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری مجدد در همان دما، ۵۰ میکرولیتر از مایع متوقف‌کننده واکنش به هر گوده افزوده شده و در نهایت میزان جذب نوری محتویات هر گوده، توسط دستگاه الایزا ریدر (Bioteck EL X 800, USA) در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید. سپس بر اساس غلظت گوده‌های استاندارد و میزان جذب نوری آن‌ها، منحنی استاندارد مربوطه رسم شده و با جاگذاری میزان جذب نوری نمونه‌ها، مقدار غلظت پلاسمایی ANP هر نمونه به‌دست آمد.

(diameter; RVID)، قطر دیواره بین بطن‌ها (interventricular septum; IVS)، قطر داخلی بطن چپ (left ventricular internal diameter; LVID)، قطر دیواره جانبی بطن چپ (left ventricular parietal wall; LVPW fractional shortening; FS)، کوتاه شدگی کسری (fractional ejection fraction; EF)، کشیدگی کسری دیواره بین بطنی (interventricular septum fractional thickening; IVSFT)، کشیدگی کسری دیواره آزاد بطن چپ (left ventricular parietal wall fraction thickening; LVPWFT)، حجم پایان دیاستول (end-diastolic volume; EDV)، حجم پایان سیستول (end-systolic volume; ESV)، حجم ضربه‌ای (stroke volume; SV) و حجم توده عضلانی بطن چپ، قطر داخلی دریچه‌های قلبی و همچنین عرض، طول، محیط و مساحت بطن‌ها و دهلیزها در زمان دیاستول و سیستول در ۳ سیکل متوالی اندازه‌گیری و مقدار میانگین به‌دست آمده ثبت شد. اندازه حفرات قلب اسب‌ها که در معاینه اکوکاردیوگرافی به‌دست آمده بود بر اساس وزن اسب‌ها تعدیل شد (Brown *et al.*, 2003; Cornell *et al.*, 2004). همچنین با اکوکاردیوگرافی داپلر، پس‌زدگی خون از دریچه‌های مختلف قلب مورد بررسی قرار گرفت. از طرف دیگر، همزمان با اکوکاردیوگرافی، الکتروکاردیوگرافی نیز توسط همان دستگاه جهت تعیین زمان سیستول و دیاستول انجام گردید.

در مرحله بعد، از سیاهرگ و داج اسب‌ها، خونگیری انجام گرفت و نمونه‌های به‌دست‌آمده داخل لوله‌های حاوی EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid) و ۵۰ واحد آپروتینین (یک ممانعت‌کننده از فعالیت آنزیم‌های پروتئاز که از تجزیه ANP در

تروبرد و ۳ رأس نژاد دوخون که ۹ رأس از آن‌ها مادیان، ۳ رأس سیلمی و ۲ رأس اسب نر اخته بودند) قرار داده شدند. میانگین سنی و وزنی اسب‌ها در این گروه به ترتیب  $9 \pm 2$  سال و  $462 \pm 75$  کیلوگرم بود. بررسی آماری سن و وزن اسب‌ها بین دو گروه دارای پس‌زدگی دریاچه ریوی و گروه سالم هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0/05$ ).

همچنین مقایسه آماری پارامترهای اندازه‌گیری‌شده قلبی به‌وسیله اکوکاردیوگرافی در روش‌های دوبعدی و یک‌بعدی نیز هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه نشان نداد ( $p > 0/05$ ). البته میانگین قطر داخلی بطن راست در زمان سیستول در گروه بیمار ( $10/0 \pm 1/96$  سانتی‌متر) به طور معنی‌دار از گروه سالم ( $11/0 \pm 2/86$  سانتی‌متر) کمتر بود ( $p \leq 0/05$ )، اما در بررسی میانگین قطر داخلی بطن راست در زمان دیاستول بین دو گروه بیمار ( $11/9 \pm 0/85$  سانتی‌متر) و سالم ( $11/8 \pm 1/2$  سانتی‌متر) اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۱).

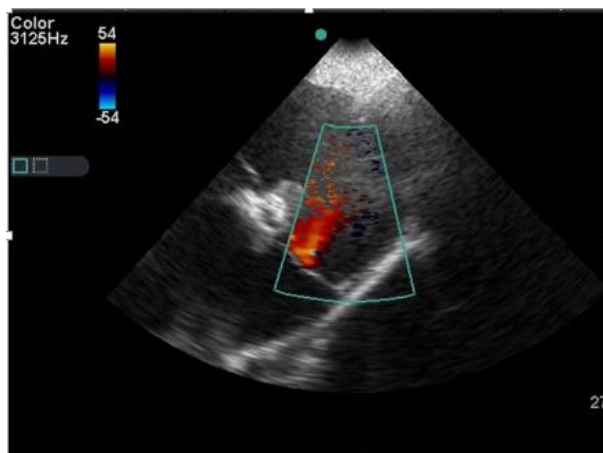
از طرف دیگر نتایج ارزیابی میزان غلظت پلاسمایی ANP نشان داد که در اسب‌های مبتلا به پس‌زدگی دریاچه ریوی (گروه ۱) غلظت پپتید مذکور ( $6/39 \pm 2/87$  پیکوگرم/میلی‌لیتر) نسبت به میزان آن در اسب‌های سالم (گروه ۲) ( $4/78 \pm 2/45$  پیکوگرم/میلی‌لیتر) افزایش یافته بود، اما در تحلیل آماری، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ) (نمودار ۱). همچنین بررسی ارتباط بین غلظت پلاسمایی ANP با پارامترهای اکوکاردیوگرافی در روش‌های دو بعدی و یک بعدی مشخص کرد که همبستگی معنی‌داری بین غلظت این ماده با طول بطن

-تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های به‌دست آمده به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ( $mean \pm SD$ ) ارائه گردیده و تجزیه و تحلیل آماری آن‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test) و شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk test) ارزیابی شد و سپس از آزمون T مستقل (Independent T-test) برای مقایسه غلظت پلاسمایی ANP، پارامترهای اکوکاردیوگرافی و سن اسب‌ها بین دو گروه و از آزمون من-ویتنی (Mann-Whitney test) برای مقایسه وزن اسب‌های دو گروه استفاده شد. همچنین ارتباط بین غلظت ANP با پارامترهای اکوکاردیوگرافی، سن و وزن اسب‌ها با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون (Pearson correlation coefficient) مورد بررسی قرار گرفت. در تمام آزمون‌های آماری، مقدار  $p \leq 0/05$  از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

بر اساس یافته‌های اکوکاردیوگرافی (شکل ۱)، اسب‌هایی که مبتلا به پس‌زدگی دریاچه ریوی بودند در گروه ۱، شامل ۱۱ رأس اسب (۸ رأس نژاد تروبرد و ۳ رأس نژاد دوخون که ۸ رأس از آن‌ها مادیان، ۱ رأس سیلمی و ۲ رأس اسب نر اخته‌شده بودند) قرار داده شدند. میانگین سنی و وزنی اسب‌ها در این گروه به ترتیب  $10 \pm 3$  سال و  $433 \pm 96$  کیلوگرم بود. همچنین اسب‌هایی که فاقد هر گونه اختلال قلبی و عمومی، براساس یافته‌های اکوکاردیوگرافی بودند، در گروه سالم یا گروه شماره ۲، شامل ۱۴ رأس اسب (۱۱ رأس نژاد

راست و عرض بطن چپ در زمان سیستول وجود دارد ( $p \leq 0/05$ )، اما با سایر پارامترها همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. همبستگی معنی‌داری نیز بین

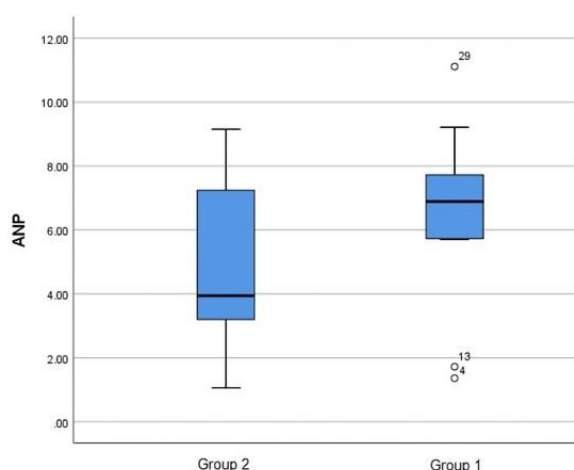


شکل ۱- پس‌زدگی دریچه ریوی اسب‌های مورد آزمایش در اکوکاردیوگرافی داپلر که جریان خون برگشتی به رنگ قرمز مشخص می‌باشد.

جدول ۱- میانگین پارامترهای اکوکاردیوگرافی در دو گروه از اسب‌های دارای پس‌زدگی دریچه ریوی (گروه ۱) و اسب‌های سالم (گروه ۲)

گروه‌ها	قطر بطن راست در دیاستول (سانتی- متر)	قطر بطن راست در سیستول (سانتی- متر)	قطر بطن چپ در دیاستول (سانتی- متر)	قطر بطن چپ در سیستول (سانتی- متر)	حجم ضربه‌ای (میلی‌لیتر)	کسر جهشی (%)	کوتاه شونده‌گی کسری (%)
گروه ۱	۱۱/۸۸ ± ۰/۸۵	۱۰/۰۸ ± ۰/۹۶	۹/۱۱ ± ۱/۳۹	۷/۱۶ ± ۱/۳۴	۴۰۴/۴۳ ± ۱۴۵/۹۷	۷۵/۸۱ ± ۱۳/۳۹	۴۸/۵۰ ± ۱۳/۰۳
گروه ۲	۱۱/۸۱ ± ۱/۲۷	۱۱/۱۷ ± ۰/۸۶*	۹/۴۹ ± ۱/۷۱	۷/۱۴ ± ۱/۱۷	۴۰۳/۵۳ ± ۱۲۳/۶۱	۷۵/۲۱ ± ۹/۳۲	۴۶/۶۷ ± ۷/۹۷

\*مقایسه معیارهای اکوکاردیوگرافی با استفاده از آزمون T مستقل بین دو گروه نشان داد که تنها قطر بطن راست در سیستول در اسب‌های سالم به طور معنی‌داری بالاتر از اسب‌های دچار پس‌زدگی دریچه ریوی می‌باشد ( $p \leq 0/05$ )



نمودار ۱- مقایسه غلظت پلاسمایی پپتید ناتریورتیک دهلیزی (ANP) در اسب‌های گروه ۲ (سالم) و گروه ۱ (مبتلا به پس‌زدگی دریچه ریوی).

با وجود بالاتر بودن غلظت پلاسمایی پپتید ناتریورتیک دهلیزی (ANP) در اسب‌های گروه ۱ (مبتلا به پس‌زدگی دریچه ریوی) نسبت به اسب‌های گروه ۲ (اسب‌های سالم)، اما در تحلیل آماری اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد.

## بحث و نتیجه‌گیری

از پپتیدهای ناتریورتیک به خصوص ANP و BNP به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی در تشخیص و همچنین در درمان بیماری‌های قلبی در طب انسانی و دامپزشکی استفاده می‌شود (Maisei et al., 2018). در مطالعه حاضر مشخص شد که بین دو گروه بیمار و سالم، به غیر از قطر بطن راست در زمان سیستول (RVIDs)، اختلاف معنی‌دار دیگری بین پارامترهای اندازه‌گیری شده در اکوکاردیوگرافی، وجود ندارد. این یافته می‌تواند نشانگر خفیف بودن یا در مراحل اولیه بودن پس‌زدگی دریچه ریوی باشد. هر چند در مطالعه‌ای که توسط رستمی و همکاران انجام شده، مشخص گردیده است که در اسب‌های دارای پس‌زدگی خفیف تا متوسط دریچه ریوی، تغییری در اندازه حفرات قلب و پارامترهای اندازه‌گیری شده در بررسی اکوکاردیوگرافی رخ نداده است (Rostami et al., 2015). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشانگر آن بود که ارتباط معنی‌داری بین غلظت پلاسمایی ANP و سن و وزن اسب‌ها وجود نداشت. این یافته‌ها مطابق با نتایج مطالعه انجام‌گرفته توسط لروکس و همکاران بود (Leroux et al., 2014)، هر چند در تحقیق انجام‌گرفته توسط تراخسل و همکاران، همبستگی معنی‌داری بین غلظت پلاسمایی ANP و سن اسب‌های مبتلا به بیماری‌های مختلف قلبی مشاهده شده است (Trachsel et al., 2015). علت این اختلاف می‌تواند به این دلیل باشد که در مطالعه حاضر، ارتباط بین سن اسب‌ها و غلظت ANP پلاسمای بدون در نظر گرفتن وجود یا عدم وجود بیماری قلبی مورد ارزیابی قرار گرفته است. همچنین نتایج ارزیابی غلظت پلاسمایی ANP در پژوهش حاضر نشان داد که هرچند

غلظت پلاسمایی ANP در اسب‌های مبتلا به پس‌زدگی دریچه ریوی بالاتر از اسب‌های سالم بوده، اما اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. می‌توان دلیل این امر را عدم تغییر اندازه حفرات سمت راست قلب در اسب‌های گروه ۱ نسبت به اسب‌های سالم دانست. اما از طرف دیگر در مطالعه حاضر مشخص شد که همبستگی معنی‌داری بین غلظت ANP با طول بطن راست و عرض بطن چپ در زمان سیستول وجود دارد.

با توجه به اطلاعات نگارندگان، تاکنون مطالعه‌ای مشابه در رابطه با غلظت پلاسمایی ANP در اسب‌های مبتلا به اختلالات سمت راست قلب به‌خصوص پس‌زدگی دریچه ریوی انجام نگرفته و بیشتر تحقیقات مشابه، تغییرات غلظت پلاسمایی ANP را در اختلالات سمت چپ قلب مورد توجه قرار داده‌اند، هر چند در یکی از مطالعات عنوان شده است که اندازه‌گیری غلظت ANP در اسب‌های مبتلا به پس‌زدگی دریچه سه‌لتی می‌تواند ارزش تشخیصی داشته باشد (Leroux et al., 2014). در این ارتباط، در طب انسانی مشخص شده است که در بیماران مبتلا به افزایش بار و اختلال عملکردی بطن راست و همچنین در موارد پس‌زدگی دریچه سه‌لتی، غلظت پپتیدهای ناتریورتیک به خصوص BNP افزایش می‌یابد (Marino et al., 2003; Yoon et al., 2010; Cao et al., 2019) و می‌توان از سنجش پپتیدهای ناتریورتیک جهت پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به نارسایی سمت راست قلب استفاده کرد (Park et al., 2015). همچنین در یک مطالعه هم مشاهده شده است که غلظت متابولیت پپتید ناتریورتیک بطنی (NT-pro-BNP) با اتساع بطن راست و شدت پس‌زدگی دریچه ریوی در ارتباط است (Paolino et al., 2011). در مورد



بزرگ‌شدگی دهلیز چپ استفاده کرد ( Trachsel *et al.*, 2012; Leroux *et al.*, 2014).

نتیجه‌گیری نهائی این‌که، در مطالعه حاضر هرچند بالاتر بودن غلظت پلاسمایی ANP در اسب‌های دارای پس‌زدگی دریچه ریوی نسبت به اسب‌های سالم از لحاظ آماری معنی‌دار نبود، ولیکن وجود ارتباط مستقیم بین غلظت پلاسمایی ANP و عرض بطن چپ و همچنین طول بطن راست مشاهده گردید. با توجه به ارتباط مستقیم غلظت پلاسمایی ANP و طول بطن راست می‌توان انتظار داشت در صورتی‌که پس‌زدگی دریچه ریوی به حدی شدید باشد که موجب اتساع حفرات سمت راست قلب شود، غلظت ANP در خون به طور معنی‌دار افزایش یابد. از این‌رو، انجام مطالعات بیشتر در این زمینه و اندازه‌گیری پپتیدهای ناتریورتیک در اسب‌های مبتلا به اختلالات سمت راست قلب که همراه با تغییر اندازه حفرات قلب می‌باشند، توصیه می‌گردد.

### سپاسگزاری

نویسندگان از همکاری صمیمانه کلیه کارکنان و مربیان اسب‌داری‌های اطراف تهران تشکر می‌نمایند.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

حیواناتی مثل سگ و گربه هم مشخص شده است که سنجش غلظت پپتیدهای ناتریورتیک در بیماران مبتلا به اختلالات قلبی دارای ارزش تشخیصی بوده و برای تعیین پیش‌آگهی بیماری کمک‌کننده است ( Greco *et al.*, 2018; Heishima *et al.*, 2003). در مطالعاتی هم که بر روی سگ‌ها انجام شده است، مشخص شده که غلظت پلاسمایی ANP در سگ‌های مبتلا به نارسایی سمت راست قلب افزایش می‌یابد و اندازه‌گیری پپتیدهای ناتریورتیک در پس‌زدگی‌های دریچه‌ای و همچنین در تنگی دریچه ریوی ارزش تشخیصی دارد ( Kobayashi *et al.*, 2014; Kanno *et al.*, 2016; Tambrchi *et al.*, 2016). بررسی غلظت پلاسمایی ANP در اسب‌های مبتلا به اختلالات سمت چپ قلب نیز نشان داده است که در موارد پس‌زدگی دریچه میترال همراه با تغییر ابعاد دهلیز و بطن چپ، میزان ANP در خون به صورت قابل توجهی افزایش می‌یابد ( Trachsel *et al.*, 2013; Van der vekens *et al.*, 2016). غلظت پلاسمایی پیش‌ساز ANP (pro-ANP) نیز حاکی از ارتباط آن با پس‌زدگی دریچه‌ای و تغییر اندازه دهلیز چپ بوده است (Van der vekens *et al.*, 2015b). نتایج مطالعاتی هم نشان داده است که غلظت پلاسمایی ANP در اسب‌ها با اندازه حفرات قلب به خصوص دهلیز چپ دارای همبستگی مثبت است و می‌توان از اندازه‌گیری ANP جهت تشخیص

## منابع

- Azimzadeh, K. and Hassanpour, A. (2018). Evaluation of serum homocysteine and cardiac troponin I in sheep with theileriosis in urmia city. *Veterinary Clinical Pathology*, 12(1): 69-77.
- Brown D.J., Rush J.E., MacGregor J., Ross Jr J.N., Brewer, B. and Rand, W.M. (2003). M-mode echocardiographic ratio indices in normal dogs, cats and horses: a novel quantitative method. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(5): 653-662.
- Cao, Z., Jia, Y. and Zhu, B. (2019). BNP and NT-proBNP as diagnostic biomarkers for cardiac dysfunction in both clinical and forensic medicine. *International Journal of Molecular Science*, 20(8): 1820-1824.
- Casserly, B. and Klinger, J. (2009). Brain natriuretic peptide in pulmonary arterial hypertension: biomarker and potential therapeutic agent. *Drug Design, Development and Therapy*, 29(3): 269-287.
- Cornell, C.C., Kittleson, M.D., Della Torre, P., Haggstrom, J., Lombard, C.W., Pedersen, H.D., *et al.* (2004). Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(3): 311-321.
- Davidson, C., Naas, A.A., Hanson, J.K., Kennedy, N.S.J., Coutie, W.J. and Struthers, A.D. (1996). Comparison of atrial natriuretic proatrial natriuretic peptide as indicators of left ventricular systolic dysfunction. *American Journal of Cardiology*, 77(10): 828-831.
- De Bold, A.J., Borenstein, H.B., Veress, A.T. and Sonnenberg, H. (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Science*, 28(1): 89-94.
- Di-Angelantonio, E., Chowdhury, R., Sarwar, N., Ray, K.K., Gobin, R., Saleheen, D., *et al.* (2009). B-Type natriuretic peptides and cardiovascular risk systematic review and meta-analysis of 40 prospective Studies. *Circulation*, 120(22): 2177-2187.
- Edwards, B.S., Zimmerman, R.S., Schwab, T.R., Heublein, D.M. and Burnett, J.C. (1988). Atrial stretch, not pressure, is the principal determinant controlling the acute release of atrial natriuretic factor. *Circulation Research*, 62(2): 191-195.
- Fartashvand, M., Derangian, A. and Kaveh, A.A. (2013). Evaluation of cardiac troponin I alteration in dairy cattle with septic metritis. *Veterinary Clinical Pathology*, 7(3): 239-248
- Greco, D.S., Biller, B. and Liew, C.H. (2003). Measurement of plasma atrial natriuretic peptide as an indicator of prognosis in dogs with cardiac disease. *Canadian Veterinary Journal*, 44(4): 293-297.
- Hassanpor, A. and Fartashvand, M. (2013). Serum concentration of cardiac troponin and some enzymes in horses with strangles. *Veterinary Clinical Pathology*, 6(4): 1703-1707.
- Heishima, Y., Hori, Y., Nakamura, K., Yamashita, Y., Isayama, N., Kanno, N., *et al.* (2018). Diagnostic accuracy of plasma atrial natriuretic peptide concentrations in cats with and without cardiomyopathies. *Journal of Veterinary Cardiology*, 20(4): 234-243.
- Kanno, N., Hori, Y., Hidaka, Y., Chikazawa, S., Kanai, K., Hoshi, F., *et al.* (2016). Plasma atrial natriuretic peptide and N-terminal pro B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with right-sided congestive heart failure. *Journal of Veterinary Medical Science*, 78(4): 535-542.
- Kisch, B. (1956). Electron microscopy of atrium of the heart. *Experimental Medicine and Surgery*, 14(2-3): 99-112.
- Kobayashi, K., Hori, Y. and Chimura, S. (2014). Plasma N-terminal pro B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with pulmonic stenosis. *Journal of Veterinary Medicine*, 76(6): 827-831.
- Lee, H.S., Cho, K.W., Kim, H.Y. and Ahn, Y.M. (2020). Chamber-specific regulation of atrial natriuretic peptide secretion in cardiac hypertrophy: atrial wall dynamics in the ANP secretion. *European Journal of Physiology*, 472(5): 515-528.
- Leroux, A.A., Al-Haidar, A., Remy, B., Borde, L., Cerri, S., Houben, R.M.A.C., *et al.* (2014). Atrial natriuretic peptide as an indicator of the severity of valvular regurgitation and heart failure in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(10): 1226-1233.
- Maisel, A.S., Duran, J.M. and Wettersten, N. (2018). Natriuretic peptide in heart failure: Atrial and B-

- type natriuretic peptides. *Heart Failure Clinics*, 14(1): 13-25.
- Marino-Goulart, D., Eberle, M.C., Boudousq, V., Hejazi-Moughari, A., Piot, C., Caderes de kerleau, C., *et al.* (2003). Major increase in brain natriuretic peptide indicates right ventricular systolic dysfunction in patients with heart failure. *European Journal of Heart Failure*, 5(4): 481-488.
  - Meems, L.M.G. and Burnett, J.C. (2016). Innovative Therapeutics: Designer natriuretic peptides. *JACC Basic to Translational Science*, 1(7): 557-567.
  - Mukoyama, M., Obata, K. and Yasue, H. (1991). Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans . Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system , atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *The Journal of Clinical Investigation*, 87(4): 1402-1412.
  - Nakagawa, Y., Nishikimi, T. and Kuwahara, K. (2019). Atrial and brain natriuretic peptides: Hormones secreted from the heart. *Peptides Journal*, 111(1): 18-25.
  - Pandit, K., Mukhopadhyay, P., Ghosh, S. and Chowdhury, S. (2011). Natriuretic peptides : Diagnostic and therapeutic use. *Indian journal of Endocrinology and Metabolism*, 15(4): 345-353.
  - Paolino, A., Hussain, T., Pavon, A., Velasco, M.N., Uribe, S., Ordonez, A., *et al.* (2017). NT-proBNP as marker of ventricular dilatation and pulmonary regurgitation after surgical correction of tetralogy of fallot : A MRI validation study. *Pediatric Cardiology*, 38(2): 324-331.
  - Park, S.Y., Lee, C.Y., Kim, C., Jang, S.H., Park, Y.B., Park, S., *et al.* (2015). One-year prognosis and the role of brain natriuretic peptide levels in patients with chronic cor pulmonale. *Journal of Korean Medical Science*, 30(4): 442-449.
  - Petterson, A., Hender, J., Hender, T., Held, P., Swedberg, K. and Towle, A. (1986). Increased plasma levels of atrial natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *European Heart Journal*, 7(8): 693-696.
  - Rostami, A., Masoudifard, M., Vajhi, A., Mokhber Dezfouli, M.R., Rezakhani, A., Tavanaeimanesh, H., *et al.* (2015). Echocardiographic findings in athletic horses with pulmonary regurgitation. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 9(1): 7-12.
  - Song, W., Wang, H. and Wu, Q. (2016). Atrial natriuretic peptide in cardiovascular biology and disease. *Gene*, 569(1): 1-6.
  - Sudoh, T., Minamino, N., Kangawa, K. and Matsuo, H. (1990). C-Type natriuretic peptide (CNP): A new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 168(2): 863-870.
  - Tambrchi, Y., Shirani, D., Masoudifard, M., Khaki, Z., Chegini, S. and Taheri, M. (2016). Evaluation of circulating amino terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration in cardiac valvular disease and assesing disease severity in dogs. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 71(3): 365-371.
  - Trachsel, D.S., Grenacher, B., Weishaupt, M.A. and Schwarzwald, C.C. (2012). Plasma atrial natriuretic peptide concentrations in horses with heart disease: A pilot study. *Veterinary Journal*, 192(2): 166-170.
  - Trachsel, D.S., Grenacher, B. and Schwarzwald, C.C. (2015). Plasma atrial/A-type natriuretic peptide (ANP) concentration in horses with various heart diseases. *Journal of Veterinary Cardiology*, 17(3): 216-228.
  - Trachsel, D.S., Schwarzwald, C.C., Bitschnau, C., Grenacher, B. and Weishaupt, M.A. (2013). Atrial natriuretic peptide and cardiac troponin I concentrations in healthy Warmblood horses and in Warmblood horses with mitral regurgitation at rest and after exercise. *Journal of Veterinary Cardiology*, 15(2): 105-121.
  - Van der Vekens, N., Decloedt, A., de Clercq, D., Ven, S., Sys, S. and Van Loon, G. (2016). Atrial natriuretic peptide vs. N-terminal-pro-atrial natriuretic peptide for the detection of left atrial dilatation in horses. *Equine Veterinary Journal*, 48(1): 15-20.
  - Van der vekens, N., Decloedt, A., de Clercq, D., Ven, S. and Van Loon, G. (2015). Equine BNP measurement using a porcine BNP enzyme-linked immunoassay: A pilot study. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 84(2): 80-87.

- Van der vekens, N., Hunter, I., Timm, A., Decloedt, A., De Clercq, D., Deprez, P., *et al.* (2015). Total plasma proANP increases with atrial dilatation in horses. *Veterinary Record*, 177(24): 624-628.
- Van der vekens, N., Hunter, I., Goetze, J.P., Decloedt, A., De clercq, D. and Van Loon, G. (2013). Human and equine cardiovascular endocrinology: beware to compare. *Cardiovascular Endocrinology*, 2(4): 67-76.
- Van Kimmenade, R.R.J. and Jannuzi, J.L.J. (2009). The evolution of natriuretic peptides - current application in human and animal medicine. *Journal of Veterinary Cardiology*, 11(1): 9-21.
- Wong, P.C.Y., Guo, J. and Zhang, A. (2017). The renal and cardiovascular effects of natriuretic peptides. *Advances in Physiology Education*, 41(2): 179-185.
- Woods, R.L. (2004). Cardioprotective functions of atrial natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide: A brief review. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 31(11): 791-794.
- Yoon, C.H., Zo, J.H., Kim, Y.J., Kim, H.K., Shine, D.H., Kim, K.H., *et al.* (2010). B-Type natriuretic peptide in isolated severe tricuspid regurgitation: determinants and impact on outcome. *Journal of Cardiovascular Ultrasound*, 18(4): 139-145.
- Yoshimura, M., Yasue, H. and Ogawa, H. (2001). Pathophysiological significance and clinical application of ANP and BNP in patients with heart failure. *Canadian Journal of Physiology and Pahrmacology*, 79(8): 730-735.