مطالعه تغییرات پلاسمایی بیومارکرهای قلبی-عروقی، سیستاتین C و آدنوزین دِآمیناز در دیابت ملیتوس القاء شده با آلوکسان در سگ

کاوه عظیم‌زاده

استادیار، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: kn_az@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۵/۱/۲۰ پذیرش نهایی: ۹۵/۴/۱۰)

چکیده

دیابت ملیتوس (DM) از بیماری‌های متابولیک بوده که با عوارض متعدد خونی و بافتی همراه است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات پلاسمایی سطح تروپونین قلبی I (cTnI)، هموسیستئین (Hcy)، سیستاتین C (Cys-C) و فعالیت آدنوزین دِآمیناز (ADA) در دیابت ملیتوس القاء شده با آلوکسان در سگ می‌باشد. در این مطالعه، پس از القاء دیابت ملیتوس در گروه تیمار و پس از سه ماه نگه-داری، سطح سرمی cTnI، Cys-C و Hcy و فعالیت ADA با استفاده از تکنیک الایزا و الکتروکمی لومینسانس (ECL) در پلاسما اندازه‌گیری و با گروه سالم مقایسه گردید. در پایان، افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) در سطوح پلاسمایی cTnI، Cys-C و Hcy همراه با کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) در فعالیت ADA در گروه تیمار در مقایسه با گروه سالم مشاهده شد. نتایج مطالعه نشان داد در سگ‌های دیابتی آسیب‌های قلبی و کلیوی رخ می‌دهد که لزوم توجه هر چه بیشتر را در مدیریت دیابت سگ‌ها می‌طلبد. همچنین، کاهش فعالیت ADA با افت عملکردی سیستم ایمنی (مخصوصاً سلول‌های T)، با بالا ماندن غلظت آدنوزین جهت تسهیل ورود گلوکز به سلول و کاهش کاتیون روی می‌تواند ارتباط داشته باشد.

کلید واژه‌ها: بیومارکرهای قلبی-عروقی، سیستاتین سی، آدنوزین دِآمیناز، دیابت ملیتوس، سگ.

مقدمه

دیابت ملیتوس (DM) متعلق به یکی از بیماری‌های متابولیک است که با هیپرگلیسمی پایدار در گونه‌های جانوری و انسانی مشخص می‌شود (Ugarte *et al*., 2012). دیابت ملیتوس در سگ و گربه شایع بوده و در سایر حیوانات خانگی به‌ندرت دیده می‌شود (Herrera *et al*., 2007). در دهه‌های اخیر به دلیل چاقی، تغذیه نادرست و استفاده از آنتاگونیست‌های انسولین مثل پروژستاژن‌ها (مگسترول استات) و گلوکوکورتیکوئیدهای اگزوژن (Merrill, 2012)، شیوع دیابت در حیوانات به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافته است (Sohrabi Haghdoost *et al*., 2007). دیابت ملیتوس به‌عنوان یکی از علل مهم در بروز آسیب‌های قلبی و کلیوی شناخته شده و ارزیابی جنبه‌های ناشناخته آن ممکن است در مدیریت دیابت ملیتوس مفید باشد.

سیستاتین C (Cys-C) پروتئینی است کوچک با ۱۳ کیلودالتون وزن که به مهارکننده‌های سیستئین پروتئاز متعلق است (Villa *et al*., 2005). این پروتئین در تمام سلول‌های هسته‌دار به طور مداوم تولید شده و به داخل خون آزاد گردیده و نیمه عمر آن ۲ ساعت است (Filler *et al*., 2005). این پروتئین به طور مستقل توسط گلومرول‌ها در کلیه فیلتر شده و دوباره در توبوهای پروگزیمال بازجذب و کاتالیزه می‌شود (Antognoni *et al*., 2007). CYS-C به‌عنوان با ارزش‌ترین بیومارکر سرمی در تعیین عملکرد کلیه شناخته شده است و به‌خصوص، انتخاب خوبی برای آگاهی از میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) در انسان است (Lassus and Harjola, 2012; Rosenthal *et al*., 2007). علاوه بر این، در شرایط مختلف اعم از التهاب، عفونت یا بدخیمی‌ها تغییری در سطح Cys-C دیده نمی‌شود (Lassus and Harjola, 2012). در مقابل، کراتینین سرمی معمولاً زمانی‌که حداقل دو سوم کلیه آسیب دیده، افزایش خود را نشان می‌دهد (Bostom *et al*., 1999). لازم به ذکر است که عواملی مانند جنسیت، سن، رژیم غذایی و حجم توده عضلانی بدن، غلظت کراتینین خون را تحت تاثیر قرار داده ولی تاثیری در میزان Cys-C ندارد (Lassus and Harjola, 2012). لازم به‌ذکر است که در دامپزشکی مطالعات مختلفی اهمیت Cys-C را به‌عنوان یک نشانگر با ارزش در ارزیابی عملکرد کلیه در سگ گزارش کرده‌اند (Jensen *et al*., 2001; Almy *et al*., 2002).

پروتئین‌های میوفیبرولار از جمله تروپونین I، C و T تعامل بین اکتین و میوزین را از طریق کلسیم در عضله قلبی و اسکلتی تنظیم می‌کنند (Fartashvand *et al*., 2013). در میان آنها، تروپونین I قلبی (cTnI) به‌طور اختصاصی در میوکارد وجود داشته و نشانگر با ارزشمندی در آگاهی از آسیب میوکارد در حیوانات است (O`brien *et al*., 1997). متعاقب افزایش نفوذپذیری کاردیومیوسیت و آسیب آنها، cTnI به خون نشت می‌کند و به‌عنوان نشانگر بسیار حساس و ارزشمندی برای تشخیص آسیب‌های عضله قلب شناخته شده و همبستگی مثبت بین غلظت cTnI خون و آسیب میوکارد وجود دارد (Collinson *et al*., 2007; Adams *et al*., 1993). به‌طور کلی، تحقیقات مختلفی تغییرات cTnI در حیوانات را گزارش کرده‌اند، اما هیچ تحقیقی در سگ مبتلا به دیابت ملیتوس وجود ندارد (Fartashvand *et al*., 2013; Leonardi *et al*., 2008; Lobettia *et al*., 2012).

آدنوزین به‌عنوان یک مهارکننده درون‌زا و ضروری سیستم ایمنی بدن شناخته شده است که فعالیت سرکوب‌کنندگی آن تقریباً در همه سلول‌های سیستم ایمنی بدن مشخص شده است و سطح آن توسط آدنوزین دِآمیناز (ADA، EC ۳,۵,٤,٤) تنظیم می‌شود (Rodrigues *et al*., 2012). ADA در تخریب آدنوزین و دِاکسی آدنوزین به اینوزین و دِاکسی اینوزین شرکت می‌کند. ADA به عنوان یکی از آنزیم‌های بسیار مهم در بلوغ و تمایز لنفوسیت‌های T و سیستم مونوسیتی بوده و همچنین فعالیت آن در سلول‌های T بیشتر از سلول‌های B است (Gopi *et al*., 2006). لازم به‌ذکراست که ADA در مکانیسم‌های دخیل در اتساع عروق، رگ‌زایی و تکثیر سلول‌ها شرکت کرده و فعالیت آن در بیماری‌هایی مثل سیروز کبدی، هپاتیت مزمن و سرطان کبد افزایش می‌یابد (Atakisi *et al*., 2006; Aydin *et al*., 2010). اگرچه افزایش فعالیت ADA به‌طور شاخص در سل گزارش شده است، اما همچنین می‌تواند در بیماری‌های دیگر (عفونی و یا غیرعفونی) مانند تب حصبه (تیفوئیدی)، سارکوئیدوز و لوسمی لنفوبلاستی حاد نیز افزایش یابد (Rasoulinejad *et al*., 2009).

هموسیستئین (Hcy)، به‌عنوان یک اسیدآمینه حاوی گوگرد، متعاقب دِمتیلاسیون داخل سلولی متیونین تولید می‌شود و ضمناً ثابت شده است که هموسیستئین در آسیب سلول‌های آندوتلیال رگ‌ها در حیوانات آزمایشگاهی و بیماری‌های قلبی و عروقی انسان شرکت می‌کند. هیپرهموسیستئینمیا (افزایش هموسیستئین در خون) در وقوع استرس اکسیداتیو شرکت کرده و نقش مهمی در اثرات پاتولوژیکی مثل بروز کم‌خونی دارد. علاوه براین، هیپرهموسیستئینمی با چندین مکانیسم، آسیب سلول‌های آندوتلیال عروقی را ایجاد می‌کند که شامل: اتواکسیداسیون، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در پلاکت‌ها و تولید هموسیستئین تیولاکتون (فرم فعال هموسیستئین که متعاقب دهیدراسیون هموسیستئین تولید می‌شود) می‌باشد (Rasool, 2012; Tamura, 2002).

نظر به‌اینکه تاکنون هیچ مطالعه‌ای در زمینه تغییرات پارامترهای فوق (سطوح پلاسمایی cTnI، Hcy، Cys-C و فعالیت ADA) در دیابت ملیتوس سگ گزارش نشده است، از این‌رو بررسی حاضر اولین مطالعه‌ای است که جهت بررسی پارامترهای مذکور و آگاهی از وضعیت سلامتی قلب و کلیه‌ها در سگ‌های دیابتی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۱۰ قلاده سگ نر نژاد بومی (۲/۵۵±۲٤/۵۰ کیلوگرم، سن ۱۵-۱۳ ماه) به‌طور تصادفی به دو گروه مساوی (شاهد و دیابتی) تقسیم شده و در مرکز تحقیقات علوم دامی اداره کل جهاد کشاورزی استان آذربایجان‌غربی همراه با قفس تحت شرایط استاندارد و بهداشتی نگه‌داری شدند. ضمناً دمای محیط در ۲۵-۲۱ درجه سلسیوس و رطوبت آن در ٤۱ درصد تنظیم گردید. برای پایش و ارزیابی سلامتی سگ‌ها، معاینات معمول کلینیکی و پاراکلینیکی، شامل بررسی نمونه‌های گسترش خون از لحاظ آلودگی به انگل‌های خونی (داخل سلولی و میکروفیلر)، انجام شد و واکسیناسیون هاری همراه با داروی ضد انگل (لوامیزول ۱۰ mg/kg) به همه آنها تجویز شد. پس از گذشت دو

هفته جهت عادت به محیط جدید، تست تحمل گلوکز وریدی (IVGTT) برای حصول اطمینان از عدم وجود بیماری دیابت انجام شد و در ادامه پس از یک هفته، محلول آلوکسان (تتراهیدراته سیگما، آلدریچ) با دوز ۵۰mg/kg به‌صورت تک دوز در آب مقطر استریل به صورت داخل وریدی از طریق ورید سفالیک به گروه تیمار جهت القاء دیابت، تزریق شد (Liu *et al.*, 2002) و IVGTT پس از سه روز انجام شد، سپس وجود دیابت با افزایش قابل توجه گلوکز در خون تأیید گردید. در ضمن هر روز سه نوبت به سگ‌ها سرکشی می‌شد و دوبار خون‌گیری جهت سنجش گلوکز اندازه‌گیری انجام می‌گردید (به میزان ۱ میلی‌لیتر) تا احیاناً مشکلی از نظر علایم شوک هایپرگلایسمیک نداشته باشند. پس از سه ماه نگه‌داری، از همه سگ‌ها (گروه شاهد و دیابتی) پنج میلی‌لیتر نمونه خون از طریق ورید سفالیک اخذ و به لوله‌های هپارینه انتقال داده شد و با دور ۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ گردید تا نمونه‌های پلاسما جدا شوند. نهایتاً در پایان دوره مطالعه، سگ‌های دیابتی‌شده با تزریق داخل وریدی یک ویال کامل داروی بیهوشی نسدونال، معدوم گردیدند. اندازه‌گیری Cys-C، cTnI و انسولین پلاسما به روش ELISA (RA1000) و به‌ترتیب با کیت‌های اختصاصی سگ (Mybiosource, San diego, USA; Elisa, Cobas; Cusabio Co. Wuham, China) انجام شد. میزان فعالیت ADA با استفاده از روش الکتروکمی لومینسانس تعیین گردید (Elesys, Roche, 2010). گلوکز (Glu)، اوره (Urea)، کراتینین (Crea)، کاتیون روی (Zn^{2+}) و هموسیستئین (Hcy) به روش کالریمتری با کیت‌های (Parsazmoon Co. Tehran, Iran) و با دستگاه اسپکتروفتومتر Spekol-1500 اندازه‌گیری گردیدند.

تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه و تعیین تغییرات بین داده‌ها با آزمون t-student با برنامه SAS v9.1 (Cary, NC, USA, SAS) انجام شد. معیار معنی‌داری آماری $p<۰/۰۱$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تغییرات پارامترها در جدول ۱ نشان داده شده است. افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) در سطوح سرمی cTnI، Cys-C و Hcy در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم دیده شد. در مقابل، کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) فعالیت پلاسمایی ADA در گروه دیابتی نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید.

جدول ۱- مقایسه پارامترهای پلاسمایی بیوکارکرهای قلبی، سیستاتین سی و آدنوزین دِآمیناز بین گروه دیابتی و سالم

پارامترها	گروه سالم	گروه دیابتی
سیستاتین سی (Cys-C, mg/l)	۰/۲۹ ± ۰/۰۷	۲/۲۲ ± ۰/۳۶†
تروپونین قلبی I (cTnI, pg/ml)	۴۹/۱۲± ۷/۰۹	۱۵۲/۸۶ ± ۱۲/۳۶†
هموسیستئین (Hcy, mg/dl)	۵/۸۶ ± ۰/۶۱	۲۱/۴۷± ۳/۶۲†
آدنوزین دِآمیناز (ADA, U/L)	۴۲/۵۹ ± ۴/۸۴	۱۴/۵۲ ± ۱/۷۳†
گلوکز (Glucose, mg/dl)	۹۲/۵۳ ± ۶/۸۷	۲۷۳/۳۸± ۱۱/۴۹†
انسولین (Insulin, µU/ml)	۳۸/۵۷ ± ۶/۸۵	۸/۶۴ ± ۱/۸۲†
کراتینین (Creatinine, mg/dl)	۰/۹۲ ± ۰/۲۱	۱/۰۶± ۰/ ۳۴
اوره (Urea, mg/dl)	۳۹/۲۵ ± ۳/۶۴	۴۳/۲۹ ± ۳/۸۴
روی (Zn^{2+}, µg/dl)	۱۸۹/۶۶± ۵/۲۷	۷۲/۴۷ ± ۶/۳۱†

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است. علامت † نشان‌دهنده وجود تغییرات معنی‌دار در هر ردیف می‌باشد ($p\leq$۰/۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه فعالیت ADA در گروه دیابتی در مقایسه با گروه سالم به طور قابل توجهی کاهش یافته بود. ADA در تخریب آدنوزین به اینوزین دخالت دارد. آدنوزین یکی از ضد التهابی‌های قوی بدن است که عملکرد سلول‌های دفاعی دخیل در واکنش‌های التهابی را تنظیم می‌کند و باعث مهار آسیب سلول‌های اندوتلیال با واسطه نوتروفیل‌ها شده و تعامل سلول آندوتلیال با لکوسیت‌ها را تعدیل می‌کند (Tiele *et al.*, 2004). از طرفی دیگر، یکی از مهم‌ترین وظایف آدنوزین تسهیل ورود گلوکز به داخل سلول می‌باشد (Manjunath *et al.*, 2009; Yasuda *et al.*, 2003). از این‌رو، احتمالاً کاهش فعالیت ADA با شرایط خاص در این بیماری (دیابت ملیتوس) مرتبط باشد. از آنجائی‌که بیماری دیابت ملیتوس از فاکتورهای مهم در بروز آسیب سلول‌های آندوتلیال است و نقش محافظتی آدنوزین در کاهش آسیب سلول‌های اندوتلیال عروق و تسهیل ورود گلوکز به سلول مشخص شده است، پس به احتمال زیاد جهت کاهش آسیب سلول‌های فوق و انتقال بهتر گلوکز، غلظت بالای آدنوزین نیاز است و سلول برای نیل به این هدف، فعالیت ADA را کاهش

می‌دهد تا آدنوزین کمتری تجزیه شود. علاوه بر این، در این مطالعه با کاهش قابل توجه غلظت پلاسمایی کاتیون روی در گروه DM در مقایسه با گروه شاهد مواجه شدیم. ارتباط بین کاتیون روی و ایمنی سلولی (سلول T) مشخص شده است و کمبود آن با کاهش شدید در عملکرد سیستم ایمنی بدن و به طور عمده ایمنی سلولی (لنفوسیت‌های T) همراه است (Honscheid *et al*., 2009). علاوه بر این، کاتیون روی جزئی از ساختار اصلی ADA بوده و در قسمت فعال آن قرار داشته و در مکانیسم کاتالیزوری آنزیم شرکت می‌کند (Cooper *et al*., 1997). از این‌رو، ارتباط تنگاتنگی بین کاتیون روی و فعالیت ADA وجود دارد. بنابراین، یکی دیگر از علل احتمالی کاهش فعالیت ADA در گروه دیابتی می‌تواند ناشی از هیپوزینکمی باشد.

یکی از عوارض اصلی دیابت آسیب کلیوی است. کراتینین سرم و اوره به طور گسترده در ارزیابی عملکرد کلیه استفاده می‌شود، اما حساسیت آنها ناچیز است و به‌طور کلی تا زمانی که ۷۵ درصد از عملکرد کلیه از بین نرفته باشد آنچنان تغییر نمی‌کنند (Kaneko, 2008). از این‌رو، اندازه‌گیری و بررسی آنها برای تشخیص اولیه اختلال در کارکرد کلیوی زیاد کافی به‌نظر نمی‌رسد. سیستاتین C به عنوان یک بیومارکر مهم در بررسی فیلتراسیون گلومرولی شناخته شده است (Villa *et al*., 2005). در دامپزشکی، مطالعات محدودی وجود دارد که اهمیت Cys-C را نسبت به کراتینین و اوره در سگ‌های مبتلا به بیماری‌های کلیوی بررسی کرده و Cys-C را به‌عنوان بیومارکری بهتر از موارد فوق برای بررسی میزان فیلتراسیون گلومرولی نشان داده‌اند (Jensen *et al*., 2001; Almy *et al*., 2002; Antognoni *et al*., 2007). سطح پلاسمایی Cys-C در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم به‌طور قابل توجهی بالاتر بود. مطالعه منتشر شده‌ای در رابطه با تغییرات Cys-C در سگ مبتلا به دیابت ملیتوس وجود ندارد. با این وجود، غلظت نرمال سطح کراتینین و اوره همراه با افزایش خفیف غلظت Cys-C در سگ‌هایی که علائم بالینی نارسایی کلیوی را داشتند گزارش شده‌است (Scallya *et al*., 2006). در این مطالعه، افزایش Cys-C در گروه DM به احتمال زیاد به‌دلیل آسیب گلومرولی ناشی از دیابت می‌باشد.

افزایش سطح cTnI پلاسمایی به‌عنوان بیومارکر اصلی با حساسیت بالا در تشخیص اختلالات کاردیومیوسیت نسبت به لاکتات دهیدروژناز (LDH) و کراتین کیناز (CK) کاربرد دارد. در مطالعه حاضر با افزایش قابل توجه غلظت cTnI در مقایسه با گروه سالم مواجه شدیم. مطالعه منتشرشده‌ای در رابطه با تغییرات پلاسمایی غلظت cTnI در سگ دیابتی گزارش نشده است، اما افزایش سطح cTnI به‌ترتیب در بیماران مبتلا به کتواسیدوز دیابتی و سگ‌های مبتلا به لیشمانیوز گزارش شده است که با پژوهش حاضر مطابقت دارد (Atabek *et al*., 2004; Silvestrini *et al*., 2012). آسیب قلبی در مطالعه حاضر ممکن است به علت کم‌خونی با واسطه دیابت باشد. به‌دنبال بروز دیابت، کم‌خونی و کمبود اکسیژن در بافت‌های بدن بارز بوده (Mehdi and Toto, 2009) و آزاد شدن تروپونین‌های قلبی از قبیل cTnI در خون مبتلایان به بیماری ممکن است در اثر ایسکمی رخ دهد که می‌تواند به درجاتی از آسیب میوکارد درگروه دیابتی منجر شود.

در رابطه با هموسیستئین (Hcy)، افزایش غلظت آن در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. گزارش منتشرشده‌ای در رابطه با تغییرات سطح خونی Hcy در دیابت سگ وجود ندارد، اما با این وجود افزایش سطح پلاسمایی Hcy در خرگوش‌های مبتلا به دیابت گزارش شده است که علت احتمالی آن کاهش غلظت اسیدفولیک و ویتامین ب۱۲ در دوره بیماری می‌باشد (عظیم‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸) که با مطالعه اخیر هم‌خوانی دارد. این احتمال وجود دارد که در این مطالعه، در گروه دیابتی کاهش غلظت ویتامین‌ها (بالاخص اسیدفولیک و ب۱۲) منجر به افزایش غلظت Hcy می‌گردد.

در مجموع، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش فعالیت آنزیم ADA می‌تواند نشان‌دهنده افت عملکردی سیستم ایمنی هومورال و یا کمبود کاتیون روی باشد و از طرفی در سگ‌های دیابتی، آسیب‌های قلبی و کلیوی رخ می‌دهد که لزوم توجه هر چه بیشتر به این مقوله را در مدیریت دیابت سگ می‌طلبد.

منابع

- عظیم‌زاده، ک.، عصری رضائی، س.، صافی، ش.، سهرابی حقدوست، ا. و ابراهیمی حامد، م. (۱۳۸۸). ارزیابی وضعیت هموسیستئین پلاسما در بیماری دیابت ملیتوس القاءشده با استرپتوزوتوسین در خرگوش. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۳، شماره ۲، صفحات: ٤٥١-٤٤٥.
- Ugarte, M., Brown, M., Hollywood, K.A., Cooper, G.L., Bishop, P.N. and Dunn, W.B. (2012). Metabolomic analysis of rat serum in streptozotocin-induced diabetes and after treatment with oral triethylenetetramine (TETA). Genome Medicine, 4: 35.
- Herrera, S.G.J., Varges, R.L.M. and Bouda, J. (2007). Alterations in hemogram and selected biochemical analytes in diabetic dogs: retrospective study in 40 dogs. Revista Veterinaria México, 38(1): 55-62.

Merrill, L. (2012). Small Animal Internal Medicine for Veterinary Technicians and Nurses. UK: Wiley-Blackwell, pp: 256.

- Sohrabi Haghdoost, I., Ghaleshahi, A.J. and Safi, S. (2007). Clinicopathological findings of diabetes mellitus induced by alloxan in goats. Comparative Clinical Pathology, 16: 53-59.
- Rohilla, A. and Ali, S. (2012). Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 3(2): 819-821.
- Lassus, J. and Harjola, V.P. (2012). Cystatin C: a step forward in assessing kidney function and cardiovascular risk. Heart Failure Reviews, 17: 251-261.
- Villa, P., Jiménez, M., Soriano, M.C., Manzanares, J. and Casasnovas, P. (2005). Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. Critical Care, 9: 139-143.
- Filler, G., Bokenkamp, A., Hofmann, W., Le Bricon, T., Martinez-Bru, C. and Grubb, A. (2005). Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research. Clinical Biochemistry, 38: 1-8.
- Rosenthal, S.H., Marggraf, G., Husing, J., Goring, F., Pietruck, F., *et al.* (2004). Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. Kidney International, 66: 1115-1122.

- Antognoni, M.T., Siepi, D., Porciello, F., Rueca, F. and Fruganti, G. (2007). Serum Cystatin-C Evaluation in Dogs Affected by Different Diseases Associated or Not with Renal Insufficiency. Veterinary Research Communications, 31(1): 269-271.
- Bostom, A.G., Gohh, R.Y., Bausserman, L., Hakas, D., Jacques, P.F., Selhub, J., *et al*. (1999). Serum Cystatin C as a Determinant of Fasting Total Homocysteine Levels in Renal Transplant Recipients with a Normal Serum Creatinine. Journal of American Society Nephrology, 10: 164-166.
- Jensen, A.L., Bomholt, M. and Moe, L. (2001). Preliminary evaluation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA) for the determination of serum cystatin C-like immunoreactivity in dogs. Veterinary Clinical Pathology, 30(2): 86-90.
- Almy, F.S., Christopher, M.M., King, D.P. and Brown S.A. (2002). Evaluation of cystatin C as an endogenous marker of glomerular filtration rate in dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine, 16(1): 45-51.
- Fartashvand, M., Nadalian, M.G., Sakha, M. and Safi, S. (2013). Elevated Serum Cardiac Troponin I in Cattle with Theileriosis. Journal of Veterinary Internal Medicine, 27: 194-199.
- O'Brien, P.J., Landt, Y. and Ladenson, J.H. (1997). Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. Clinical Chemistry, 43(12): 2333-2338.
- Collinson, P.O. and Gaze, D.C. (2007). Biomarkers of cardiovascular damage and dysfunction– an overview. Heart Lung Circulation, 16: 71-82.
- Adams, J.E., Bodor, G.S., Davila-Roman, V.G., Delmez, J.A., Apple, F.S., Ladenson, J.H., *et al*. (1993). Cardiac troponin I a marker with high specificity for cardiac injury. Circulation, 88: 101-106.
- Leonardi, F., Passeri, B., Fusari, A., De Razza, D., Beghi, C., Lorusso, R., *et al*. (2008). Cardiac Troponin I (cTnI) concentration in an ovine model of myocardial ischemia. Research in Veterinary Science, 85: 141-144.
- Lobettia, R.K., Kellerb, K., Kettnerb, F. and Dvirb, E. (2012). NT-ProBNP and cardiac troponin I in virulent canine babesiosis. Remo Veterinary Parasitology, 190: 333-339.
- Rodrigues, L.F.S., Emlia, M., Oliveira, F., Teixeira, P.P.M., Cavalcantec, J.M. and Valec, M.R. (2012). Adenosine deaminase activity as a biochemical marker of inflammatory response in goats infected by caprine arthritis–encephalitis virus. Small Ruminant Research, 108: 120-126.
- Gopi, A., Madhavan, S.M., Sharma, S.K. and Sahn, S.A. (2007). Diagnosis and treatment of tuberculosis pleural effusion in 2006. Chest, 131: 880-889.
- Atakisi, E., Karapehlivan, M., Atakisi, O., Kontas, T. and Marasli, S. (2006). Adenosine deaminase and Biochemical Liver Function Tests in the Dermatophytic Cattle. Bulletin Veterinary Institute Pulawy, 50: 481-483.
- Aydin, I., Bulbul, T., Polat, E.S. and Yazar, E. (2010). Serum antioxidant status and adenosine deaminase activity during the gestational period of sheep. Revue de Medecine Veterinaire, 161: 479-484.
- Rasoulinejad, M., Mousavi, S.J., Abdollahi, A., Fattahi, F. and Sarbiaei, A. (2009). Serum adenosine deaminase activity and C-reactive protein levels in patients with brucellosis. Iranian Journal of Pathology, 4(3): 113-117.
- Liu, S., Wang, W., Luo, X.M. and Ye, B. (2000). Chemically induced (streptozotocin-alloxan) diabetes mellitus in dogs. Bulletin of Hunan Medical University, 28: 2125-2128.
- Thiele, A., Kronstein, R., Wetzel, A., Gerth, A., Nieber, K. and Hauschildt, S. (2004). Regulation of adenosine receptor subtypes during cultivation of human monocytes: role of receptors in preventing lipopolysaccharide-triggered respiratory burst. Infection Immunology, 72: 1349-1357.
- Hönscheid, A., Rink, L. and Haase, H. (2009). T-lymphocytes: a target for stimulatory and inhibitory effects of zinc ions. Endocrine Metabolic Immune Disorders Drug-Targets, 9: 132-144.

- Cooper, B.F., Sideraki, V., Wilson, D.K., Dominguez, D.Y., Clark, S.W., Quiocho, F.A., *et al*. (1997). The role of divalent cations in structure and function of murine adenosine deaminase. Protein Science, 6: 1031-1037.
- Scallya, M.P., Leisewitzb, A.L., Lobettia, R.G. and Thompsonc, P.N. (2006). The elevated serum urea:creatinine ratio in canine babesiosis in South Africa is not of renal origin. Journal of South African Veterinary Association, 77(4): 175-178.
- Mehdi, U. and Toto, R.D. (2009). Anemia, Diabetes, and Chronic Kidney Disease. Diabetes Care, 32: 7.
- Silvestrini, P., Piviani, M., Alberola, J., Rodrıguez, A., Planellas, M., Roura, X., *et al*. (2012). Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with leishmaniasis: correlation with age and clinicopathologic abnormalities. Veterinary Clinical Pathology, 41(4): 568-574.
- Atabek, M.E., Pirgon, O., Oran, B., Erkul, I. and Kurtoglu S. (2004). Increased cardiac troponin concentration in diabetic ketoacidosis. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism, 17: 1077-1082.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W. and Bruss M.L. (2008). Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed., California: San Diego, Academic Press, pp: 490.
- Rasool, S., Abid, S., Iqbal, M.P., Mehboobali, N., Haider, G. and Jafri, W. (2012). Relationship between vitamin B12, folate and homocysteine levels and *H. pylori* infection in patients with functional dyspepsia: A cross-section study. BMC Research Notes, 5: 206.
- Tamura, A., Fujioka, T. and Nasu, M. (2002). Relation of Helicobacter pylori infection to plasma vitamin B12, folic acid, and homocysteine levels in patients who underwent diagnostic coronary arteriography. American Journal of Gastroenterology, 97:861-866.
- Manjunath, S. and Sakhare, P.M. (2009). Adenosine and adenosine receptors: Newer therapeutic perspective. Indian Journal of Pharmacology, 41(3): 97–105.
- Yasuda, N., Inoue, T., Horizoe, T., Nagata, K., Minami, H., Kawata, T., *et al*. (2003). Functional characterization of the adenosine receptor contributing to glycogenolysis and gluconeogenesis in rat hepatocytes. European Journal of Pharmacology, 459(2-3): 159-166.

Study of cardiovascular biomarkers, cystatin-C and adenosine deaminase in alloxan-induced diabetes mellitus in the dog

Azimzadeh, A.

Associate Professor, Young Researchers and Elite Club, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.
*Corresponding author's email: kn_az@yahoo.com
(Received: 2016/4/8 Accepted: 2016/6/30)

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease which may lead to considerable damages in most tissues. The purpose of this study was to assess whether the levels of serum Cardiac troponin I (cTnI), Homocysteine (Hcy), Cystatin c (Cys-C) and adenosine deaminase (ADA) activity are altered in alloxan induced diabetes mellitus in the dog. In this study, DM was induced by alloxan in the treatment group and three months later, plasma cTnI, Hcy and Cys-C were evaluated by Elisa technique and ADA activity was assessed by Electrochemilumminescence (ECL) method. The results showed significant increases (p<0.01) in cTnI and Cys-C along with a considerable decrease in ADA in the treatment group in comparison to the intact healthy group. Conclusively, increased plasma levels of cTnI and Cys-C in dogs with DM indicates heart and kidney damage respectively, which requires effective measures in the management of diabetes mellitus in dogs. Furthermore, reduction of ADA activity can be attributed to the decline of immune system (especially T cells), high levels of adenosine concentrations for facilitation of glucose transport and/or zinc ion decrease.

Key words: Cardiovascular biomarkers, Cystatin C, Adenosine deaminase, Diabetes mellitus, Dog.