



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد - كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم
قسم الكيمياء

دراسة العلاقة بين نشاط انزيم الالنين امينو ببتيديز ومستوى
هرمون الاديبيونكتين مع بعض المتغيرات الكيموحيوية
في امصال مرضى الغسيل الكلوي

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم - جامعة بغداد

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في الكيمياء الحياتية

من

بركات كريم حسين

(بكالوريوس علوم في الكيمياء/ كلية التربية للعلوم الصرفة /ابن الهيثم/ جامعة بغداد – 2014)

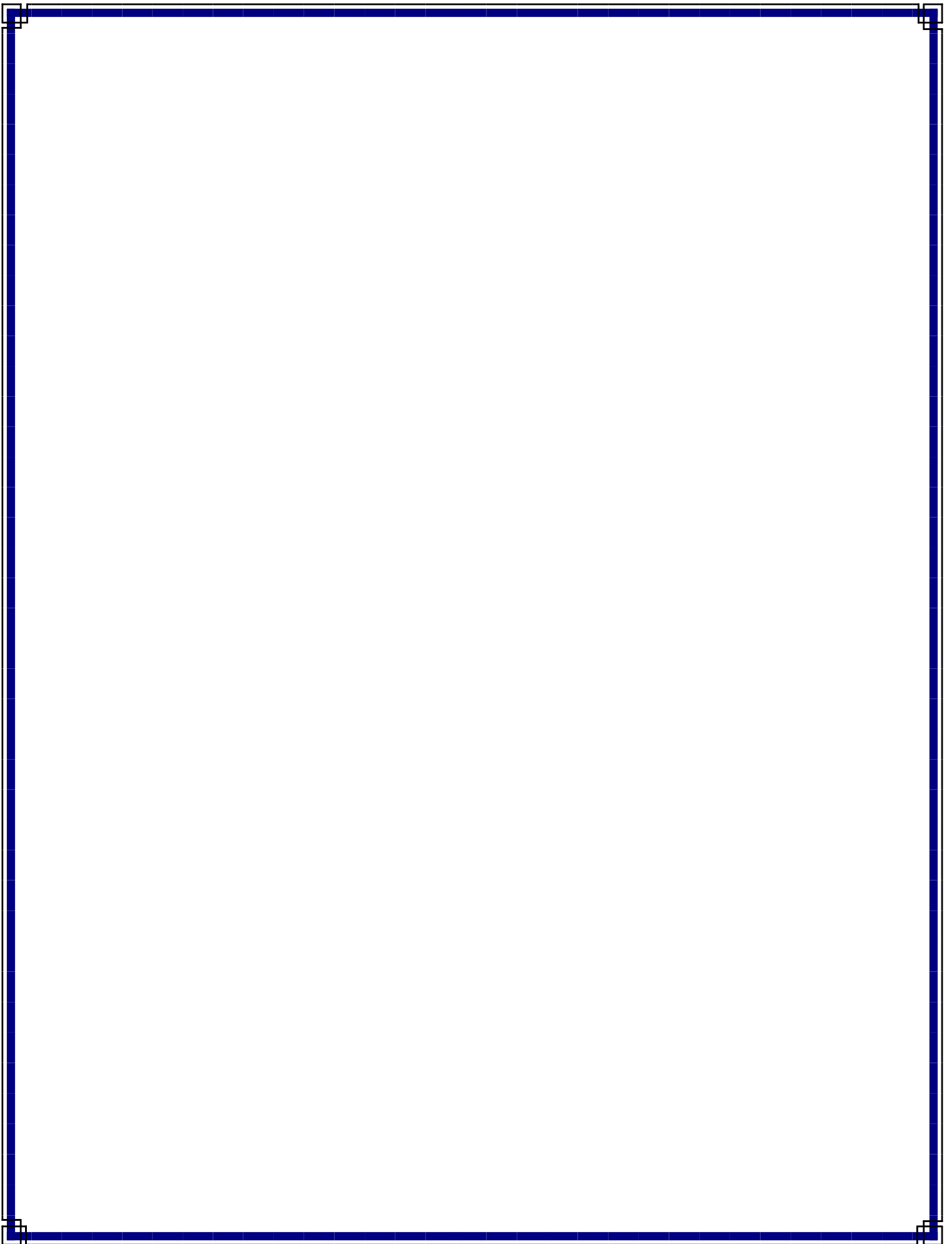
بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

تغريد علوم محمد

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

" قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ "



بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المشرفين على الرسالة

أقر أن إعداد الرسالة الموسومة بـ(دراسة العلاقة بين نشاط انزيم الامينو ببتيدز AAP ومستوى هرمون الاديونكتين مع بعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال مرضى الغسيل الكلوي) للطالبة (بركات كريم حسين خلف الشموسي) جرى تحت إشرافي في قسم الكيمياء – كلية التربية للعلوم الصرفة- ابن الهيثم / جامعة بغداد كجزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في الكيمياء (الكيمياء الحياتية).

المشرف

التوقيع:

الاسم: تغريد علوم محمد

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة - ابن الهيثم / جامعة بغداد

التاريخ: 2018 \ \

توصيات رئيس لجنة الدراسات العليا

اشارة الى التوصيات المقدمة من قبل المشرف ارشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: د.سرمد بهجت ديكران

المرتبة العلمية: استاذ

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة - ابن الهيثم / جامعة بغداد

التاريخ: 2018 \ \

بسم الله الرحمن الرحيم

قرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه بأننا اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة (دراسة العلاقة بين نشاط انزيم الالنين امينو ببتيديز AAP ومستوى هرمون الاديونكتين مع بعض المتغيرات الكيميوحيوية في امصال مرضى الغسيل الكلوي) والمقدمة من الطالبة (بركات كريم حسين) وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في الكيمياء وما يتعلق بها, فوجدنا انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وجديرة بالقبول وبتقدير () وعليه نوصي بقبول الرسالة

رئيس اللجنة	عضو اللجنة والمشرف
التوقيع:	التوقيع:
الاسم: د. سلام شهاب احمد	الاسم: د. تغريد علوم محمد
المرتبة العلمية: استاذ	المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية الطب - جامعة تكريت	العنوان: كلية التربية - ابن الهيثم / جامعة بغداد
التاريخ: / / 2018	التاريخ: / / 2018

عضو اللجنة	عضو اللجنة
التوقيع:	التوقيع:
الاسم: د. هند شاكر احمد	الاسم: رجاء كاظم باقر
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد	المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية التربية - ابن الهيثم / جامعة بغداد	العنوان: كلية التربية-ابن الهيثم/جامعة بغداد
التاريخ: / / 2018	التاريخ: / / 2018

مصادقة عميد كلية التربية - ابن الهيثم للعلوم الصرفة/ جامعة بغداد

اصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع:

الاسم: د. خالد فهد علي

المرتبة العلمية: استاذ

التاريخ: / / 2018

الإهداء

اهدي جهدي المتواضع هذا.....

الى... إمام المتقين المرسل رحمة للعالمين نبينا محمد (عليه أفضل الصلاة والسلام).

الى... من جعل الله (عز وجل) الجنة تحت قدميها

الى... من فارقتني روحها قبل ان تقر عينها بمناقشتي بأيام قليلة فأهدي كل حرفٍ من

رسالتي الى... أمي الحبيبة.

الى... سندي في هذه الدنيا... زوجي الغالي.

الى... ثروتي في هذه الدنيا... إخوتي وأخواتي.

الى... السائرين معي في طريق النجاح... زملائي الأوفياء.

الى... أحبائي وقرّة عيني... أطفالي.

بركاتك

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين أحمده حمداً كثيراً متوالياً والصلاة والسلام على نبينا محمد وعلى آله وصحبه اجمعين.

يسرني ان أتقدم بوافر شكري وتقديري الى مشرفتي الأستاذ المساعد الدكتورة (تغريد علوم محمد علي) على ما بذلته من جهود متواصلة كان لها الأثر الكبير في إغناء البحث وإظهاره بالصورة التي هو عليها الآن.

ويعجز لساني عن تقديم شكري واعتزازي الى من سهر وعانى من أجلي وزرع في نفسي الامل الى القلب الطيب زوجي العزيز.

وأخص بالشكر والامتنان أخي وزميلي صهيب الذي لم يأل جهداً مساعدته, لي وكان عوناً لي طوال أيام الدراسة والبحث.

وأقف عرفاناً وامتناناً الى أختي وصديقتي الوفية تمارة لما منحنتي من ثقة مطلقة وأزالت ما واجهني من عثرات في طريقي طوال مدة البحث.

ووافر شكري الى فقيدي الغالية امي الحبيبة رحمها الله وأسكنها فسيح جناته.

وخالص الشكر والتقدير الى الاخت الكبرى والام الثانية الدكتورة غفران كريم حسين نبع العطاء والامل التي ساندتني طوال رحلتي.

واعتزازاً و عرفاناً بالجميل أقدم شكري الى تاج عزي وأكليل فخري اخي العزيز شاكر كريم حسين لما قدمه لي من دعم ومساعدة .

كما اتقدم بجزيل الشكر الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم – جامعة بغداد عموماً والى رئاسة قسم الكيمياء ومنتسبيه خصوصاً.

كما أتقدم بخالص شكري وتقديري الى الأساتذة رئيس وأعضاء لجنة المناقشة الافاضل لقبولهم مناقشة الرسالة وما سيقدمونه لي من نصائح وإرشادات قيمة تغني البحث وتزيد من رصانته العلمية.

ولا يفوتني تقديم شكري الى جميع منتسبي مستشفى الكرامة التعليمي لما قدموه من مساعدة بتزويدي بالعينات, كما أشكر جميع المرضى مع أمنياتي لهم بالشفاء.

وهنا تخذلني الاحرف وتتعثر الكلمات على لساني عندما اتوجه بجزيل شكري الى عائلتي الكريمة لما قدموه لي من عون ومساعدة ودعم بلا حدود طوال أيام دراستي , فكل الشكر والتقدير الى سارة, وجدان , ايمان, وعلي .

وأخيراً أتقدم بالشكر والثناء الى كل من أسهم في إنجاز هذه الرسالة أما من فاتني ذكره فأشكره مرتين...

الجامعة

الخلاصة

يعد العجز الكلوي المزمن (Chronic Renal Failure (CRF) هو فقدان لوظيفة الكلى، ولذلك يحتاج المريض علاجاً طويلاً يكون بديلاً عن الكلى. اما الغسيل الكلوي فيعد احد العلاجات البديلة الذي يتم التخلص من النفايات التي تشمل الكرياتينين، واليوريا والماء الزائد. هدفت الدراسة إلى تقدير فعالية انزيم الالنين امينوببتيديز في امصال المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن، وكذلك تقدير بعض المتغيرات الكيموحيوية كهرمون الاديبونكتين (ADP)، وقياس الاجهاد التأكسدي والجذور الحرة (المالون ثنائي الالدهايد، والبيروكسي نايتريت)، فضلاً عن اليوريا، والكرياتينين، وحامض اليوريك، ومؤشر كتلة الجسم.

شملت الدراسة (70) عينة لمصل مرضى العجز الكلوي المزمن لكلا الجنسين، تراوحت أعمارهم من (30-70) سنة كانوا يراجعون مستشفى الكرامة التعليمي/بغداد. تم تقسيم العينات على مجموعتين، المجموعة الأولى G1 تضمنت (35) عينة قبل إجراء عملية الغسيل الكلوي، اما المجموعة الثانية G2 فكانت (35) عينة بعد إجراء عملية الغسيل الكلوي، فضلاً عن (30) عينة من الأشخاص الطبيعيين (الاصحاء) بوصفهم مجموعة مقارنة، تراوحت أعمارهم بين (-65) 25)سنة.

بينت النتائج ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.001$) بصورة عامة في إنزيم الالنين امينوببتيديز في امصال المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (116.0 ± 3.4) وحدة عالمية/لتر، في حين كان معدل فعاليته (105.5 ± 3.4) وحدة عالمية/ لتر في الاصحاء.

كما لوحظ اثناء الدراسة ان تركيز هرمون الاديبونكتين، والمالونالديهيد، واليوريا، وحامض اليوريك، أظهرت ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.001$) مقارنة بالاصحاء. في حين حصل انخفاض معنوي ($P < 0.001$) بتركيز البيروكسي نايتريت مقارنة بالاصحاء. كذلك عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) في مؤشر كتلة الجسم مقارنة بالاصحاء.

كما تمت دراسة علاقة معامل الارتباط الخطي بين إنزيم الالنين امينو ببتيديز (AAP) وهرمون الاديبونكتين، والاجهاد التأكسدي (المالون ثنائي الالديهيد، والبيروكسي نايتريت) فضلاً عن اليوريا، والكرياتينين، وحامض اليوريك ومؤشر كتلة الجسم في امصال الدم للمرضى

المصابين بالعجز الكلوي المزمن والاصحاء وإيجاد معامل الارتباط. إذ تبين ان معامل الارتباط (r) بين مستوى إنزيم الالنين امينو ببتيديز والمعايير الأخرى والذي اعتمد على مخطط الانحدار ولوحظ وجود علاقة سلبية بين مستوى الإنزيم مع (اليوريا, وحامض اليوريك, والكرياتينين والبيروكسي نايتريت) في مرحلة العجز الكلوي المزمن، في حين وجدت علاقة إيجابية بين الانزيم و(الاديبونكتين والمالون ثنائي الالديهيد) في المرضى .

كما لوحظ في هذه الدراسة وجود ارتباط إيجابي بين هرمون الاديبونكتين مع (اليوريا, والكرياتينين والمالون ثنائي الالديهيد), وعلاقة سلبية مع كل من (حامض اليوريك ، والبيروكسي نايتريت) في مرضى العجز الكلوي المزمن.

الصفحة	المواضيع	التسلسل
	الأهداء	
	الشكر والتقدير	
I	الخلاصة	
III	المحتويات	
VI	الجداول	
VII	الأشكال	
IX	الاختصارات	
الفصل الأول: المقدمة واستعراض المراجع		
1	الجهاز البولي	1.1
1	الكلية	1.1.1
5	معدل الترشيح الكبيبي	1.1.1.1
6	وظائف الكلى	2.1.1.1
6	الحالب	2.1.1
7	المثانة	3.1.1
7	امراض الكلية	2.1
8	العجز الكلوي	1.2.1
14	الذيلة الدموية (الديال الدموي)	3.1
14	انزيمات تفكك الامينو اساييل بيتايديز مائياً	1.3.1
15	انزيم الألنين امينو بيتايديز	4.1
15	مصادر الألنين امينو بيتايديز	1.4.1
16	هرمون الاديونكتين	5.1
16	تركيب APN	1.5.1
18	وظيفة الـ APN	2.5.1
18	الاجهاد التأكسدي والجذور الحرة	6.1
20	المالون ثنائي الالديهيد	7.1
21	بيروكسي نتريت	8.1
22	هدف الدراسة	
الفصل الثاني: المواد وطرائق العمل		
23	الاجهزة المستخدمة	1.2
24	المواد الكيميائية المستخدمة	2.2
24	نماذج الدم	3.2
24	نماذج المرضى	1.3.2
25	نماذج السيطرة	2.3.2
25	تحضير مصل الدم	3.3.2
25	الفحوصات المختبرية	4.2
25	قياس نشاط انزيم الانين امينو بيتايد	1.4.2
26	قياس تركيز هرمون الاديونكتين	2.4.2

28	تقدير تركيز المألون ثنائي الالدهايد	3.4.2
29	تقدير تركيز بيروكسي نايتريت	4.4.2
31	تقدير تركيز حامض اليوريك	5.4.2
32	تقدير تركيز الكرياتنين	6.4.2
33	تقدير تركيز اليوريا	7.4.2
34	حساب مؤشر كتلة الجسم	8.4.2
الفصل الثالث: المناقشة واستعراض النتائج		
36	قياس فعالية انزيم الالنين امينو بيتيديز في مصل الدم	1.3
39	تركيز هرمون الاديونكتين ADP	2.3
43	مستويات الاجهاد التأكسدي في أمصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي CKD	3.3
43	مستويات MDA مصل الدم	1.3.3
46	مستوى البيروكسي نايتريت في مصل الدم	2.3.3
48	مستوى اليوريا، الكرياتنين، واليوريك اسد في مصل الدم	4.3
51	مؤشر كتلة الجسم	5.3
53	العلاقة بين انزيم الالنين امينوبيتيديز AAP والمتغيرات الكيميوحيوية	6.3
56	العلاقة بين هرمون الاديونكتين ADP والمتغيرات الكيميوحيوية	7.3
الفصل الرابع: الاستنتاجات والتوصيات		
60	الاستنتاجات	
61	التوصيات	
62	المصادر	

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
23	الاجهزة المستخدمة	(1-2)
24	المواد والكواشف الكيميائية	(2-2)
36	المتوسط \pm الخطأ المعياري لفعالية انزيم AAP في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن والاصحاء	(1-3)
37	المتوسط \pm الخطأ المعياري لفعالية انزيم AAP في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (قبل وبعد الغسيل الكلوي)	(2-3)
40	المتوسط \pm الخطأ المعياري لتركيز هرمون ADP في امصال المرضى المصابين بـ CRF والاصحاء	(3-3)
41	المتوسط \pm الخطأ المعياري لتركيز هرمون ADP في امصال المرضى المصابين بـ CRF (قبل وبعد الغسيل الكلوي)	(4-3)
43	المتوسط \pm الخطأ المعياري لمستوى MDA في أمصال المصابين بـ CRF والاصحاء	(5-3)
47	المتوسط \pm الخطأ المعياري لمستوى peroxynitrite في امصال المصابين بـ CRF والاصحاء	(6-3)
49	المتوسط \pm الخطأ المعياري لمستوى اليوريا, والكرياتينين, واليوريك أسد في أمصال المصابين بـ CRF والاصحاء	(7-3)
51	المتوسط \pm الخطأ المعياري لـ BMI في أمصال المصابين بـ CRF والاصحاء	(8-3)
54	العلاقة بين انزيم الانين امينوببتيديز AAP والمتغيرات الكيميائية الحيوية	(9-3)
57	العلاقة بين هرمون الاديبونكتين ADP والمتغيرات الكيميائية الحيوية	(10-3)

قائمة الاشكال

الصفة	العنوان	الشكل
2	التشريح العام للخلية	(1-1)
4	النفرون وتجهيزه بالدم	(2-1)
17	تركيب هرمون الاديونكتين	(3-1)
19	عدم التوازن بين مضادات الاكسدة والجذور الحرة	(4-1)
20	تركيب المألون ثنائي الالديهيد	(5-1)
27	قيم امتصاصية تراكيث هرمون ADP	(1-2)
28	تفاعل MDA	(3-2)
37	فعالية انزيم AAP في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن مقارنة بالأصحاء	(1-3)
38	فعالية انزيم AAP في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (قبل وبعد الغسيل الكلوي) مقارنة بالأصحاء	(2-3)
40	تركيز هرمون ADP في امصال المرضى المصابين بـ CRF مقارنة بالأصحاء	(3-3)
41	تركيز هرمون ADP في امصال المرضى المصابين بـ CRF (قبل وبعد الغسيل الكلوي) مقارنة بالأصحاء	(4-3)
44	مقارنة مستوى MDA ملي مول/لتر في أمصال دم مرضى CRF قبل وبعد الغسيل الكلوي مقارنة بالأصحاء	(5-3)
47	مقارنة مستوى peroxynitrite مايكرومول/لتر في امصال دم مرضى CRF قبل وبعد الغسيل الكلوي مقارنة بالأصحاء	(6-3)
50	مستوى اليوريا والكرياتينين وحامض اليوريك في أمصال دم مرضى CRF قبل وبعد الغسيل الكلوي مقارنة بالأصحاء	(7-3)
52	مقارنة BMI في أمصال المصابين بـ CRF والأصحاء	(8-3)
55	العلاقة بين انزيم الالنين امينوببتيديز AAP والمتغيرات الكيميوحيوية	(9-3)
58	العلاقة بين هرمون الاديونكتين ADP والمتغيرات الكيميوحيوية	(10-3)

قائمة المختصرات

المختصرات	المفردات
ADH	Anti-Diuretic Hormone
ARF	Acute Renal Failure
AAP	Alanine Aminopeptidase
Abs	Absorption for Standard Solution
BMI	Body Mass Index
CRF	Chronic Renal Failure
CD13	Cluster of differentiation
D.W	Distal Water
GFR	Glomerular Filtration Rate
G1	Before Dialysis
G2	After Dialysis
HD	Hemodialysis
MDA	Mallondialdehyde
OD	Optical Density
Ph	Power of Hydrogen
ALT	Alanine Aminotransferase
ALD	Aldolase
AST	Aspartate Aminotransferase
CPK	Creatine kinase
GGTP	Gamma Glutamyl Transpeptidase
GLDH	Glutamate Dehydrogenase
B-GLU	β -glucuronidase
G-6-PDH	Glucose-6-phosphate dehydrogenase
LAP	Leucine aminopeptidase
LDH	Lactate dehydrogenas
MDH	Malate Dehydrogenase
NAG	β -N-acetyl Glucosaminidase

PGDH	Phosphogluconate Dehydrogenase
SDH	Sorbitol Dehydrogenase

الفصل الأول

المقدمة واستعراض المراجع

INTRODUCTION AND LITRATURES REVIEW

1. المقدمة واستعراض المراجع

1.1- الجهاز البولي Urinary tract

يتألف الجهاز البولي من الكليتين Kidneys، والحالب Ureter، والمثانة Bladder والاحليل Urethra، وفتحة التبول External Urethral Meatus إذ يقسم الجهاز البولي الى الجهاز الاعلى Upper tract الذي بدوره يتكون من (الكلى والحالب)، والجهاز الاسفل الذي يتكون من (المثانة والاحليل) (1). اذ ان للجهاز البولي دوراً كبيراً في تنقية الدم وتصفية الجسم من السموم وتنظيم pH الدم.

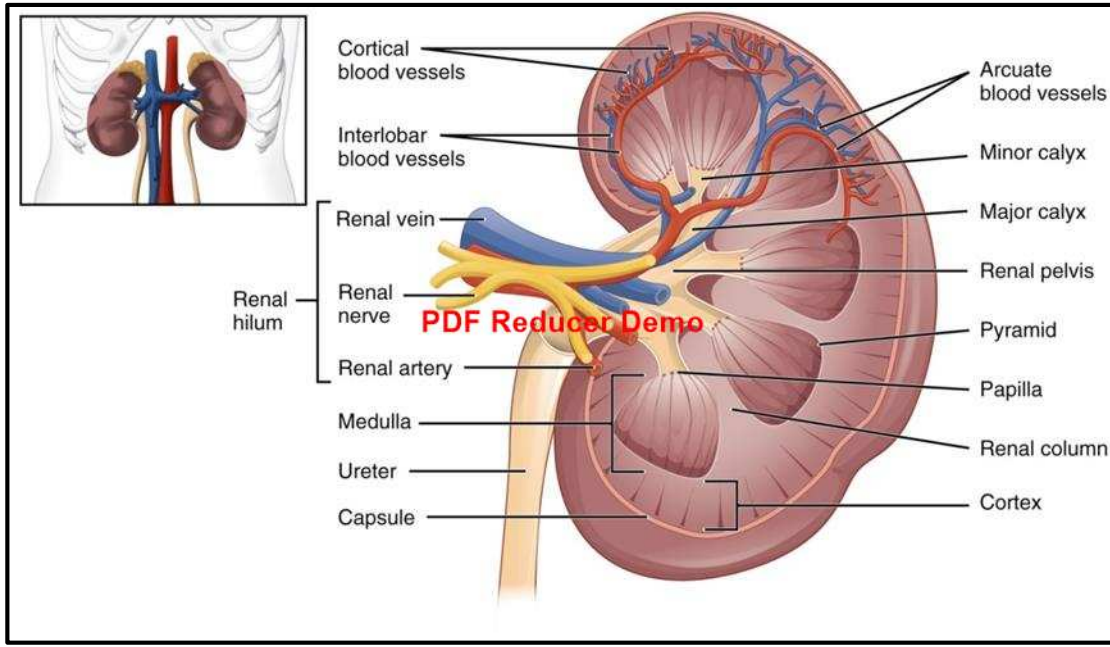
وله وظيفة مشتركة مع الرئة، ويعمل على تنظيم ضغط الدم كوظيفة مشتركة مع القلب والوعية الدموية (2). إذ يكون للكلى دور مهم في الحفاظ على الاتزان البدني وان المواد التي يتم ترشيحها عن طريق الكلية من الدم تتحول الى الادرار. اما الحالب فيعمل على نقل الادرار من الكلية الى المثانة البولية. إذ يخزن الادرار هناك حتى يتم تحرره إرادياً عن طريق الاحليل الى خارج الجسم (3).

1.1.1- الكلى The kidney

هي عبارة عن عضو يشبه حبة اللوبيا بلون يميل الى الحمرة، تقع خلف الخلب Peritoneum الذي يبطن الجدار الخلفي للبطن على جانبي العمود الفقري، تكون النهاية العليا للكلية في مستوى الفقرة الصدرية الثانية عشرة في حين تكون النهاية السفلى في مستوى الفقرة القطنية مع وجود اختلاف قليل بينهما، إذ تنخفض الكلى اليمنى قليلاً عن اليسرى بسبب وجود الكبد، ويوجد تفرع من الجانب الداخلي للكلية وتدعى هذه المنطقة بالنتير Hilum (4). يبلغ طول الكلية عند الانسان البالغ حوالي 11 سم وعرضها (5-7) سم، وسمكها يكون بحدود (2.5) سم، اما وزنها فيكون قليلاً فالكلية الواحدة لا يزيد وزنها عن (150) غم (5). يدخل الى كل من الكليتين اليمنى واليسرى شريان يدعى بالشريان الكلوي Renal artery الذي بدوره يتفرع من الشريان الابهر في البطن Abdominal aorta، ويخرج من كل كلية وريد كلوي Renal vein وحالب (6).

تتألف كل كلية تقريباً من مليون وحدة كلوية تدعى النفرونات Nephrons، وتتجمع هذه النفرونات لتشكل اهرام الكلية Renal pyramids (7)، وهي عبارة عن اهرام منكوسة، اذ تكون قممها متجهة صوب حوض الكلية، وتعد هذه الاهرام هي الوحدة الفاعلة الكبيرة في الكلية، وتصب في الكؤوس الثانوية Minor calices التي تتحد لتكون الكؤوس

الرئيسة Major pelvis، وحوض الكلية. يشكل الحالب الذي يصل الكلية بالمثانة البولية. وتعد هذه الكؤوس مجامع لنتاج ترشيح الدم عن طريق النفرونات الذي يكوّن بالنتيجة الادرار Urine لتصب في حوض الكلية وعبر الحالب الى المثانة البولية لي طرح خارج الجسم⁽⁸⁾, ويوضح الشكل (1-1) التشريح العام للكلية⁽⁹⁾.



شكل (1-1): التشريح العام للكلية⁽⁹⁾.

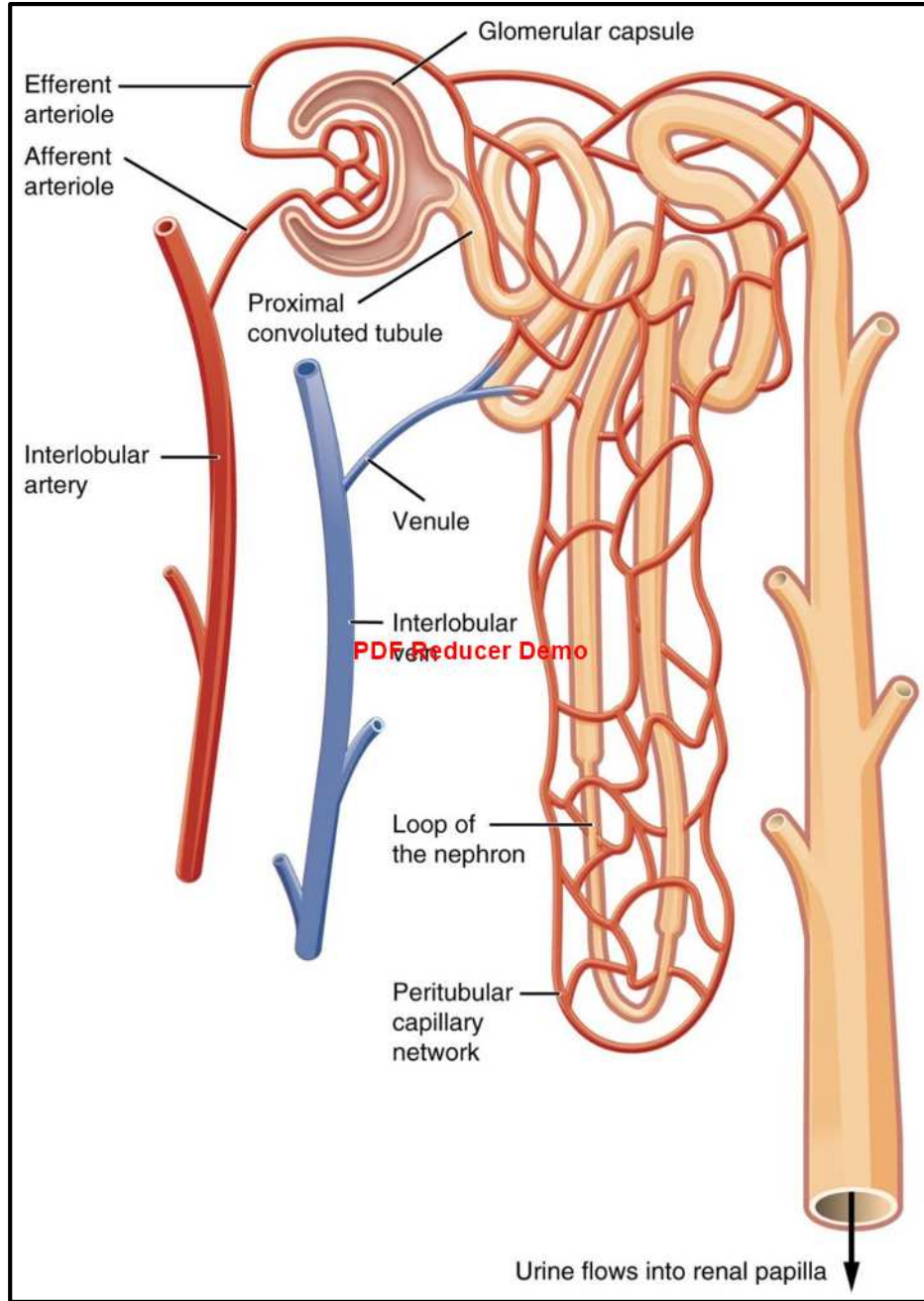
ويتكون النفرون من اجزاء عدة هي :-

- (1) الكبيبة الكلوية Glomerulus: وهي عبارة عن حزمة من الشعيرات الدموية تتكون من الشريان الوارد Afferent arteriole، تتحد الشعيرات عندما تخرج من الكبيبة لتكون الشريان الصادر Efferent arteriole، وتتحد الشرايين الصادرة وتكون الوريد الكلوي الذي يخرج من الكلية ليصب في الوريد الاجوف السفلي Inferior vena cava في البطن ومنه ينتقل الدم الى القلب⁽¹⁰⁾.
- (2) كبسولة بومان Bowman's capsule: وهي عبارة عن خلايا متخصصة تحيط بالكبيبة وتسمح بترشيح الماء ومواد اخرى من الدم خلالها ما عدا كريات الدم الحمر والبيض والصفائح الدموية وجزيئات البروتين كبيرة الحجم⁽¹¹⁾.
- (3) الانبوب الملتوي الداني (القريب) Proximal convoluted tubule: وهذه الانابيب تمتص بعض المواد مثل الكلوكوز والبروتينات صغيرة الحجم التي ترشحت خلالها كبسولة بومان، وكذلك تفرز بعض المواد مثل الكلوريد Cl^- وايونات الهيدروجين H^+ والبيكربونات HCO_3^- بحسب حالة الجسم⁽¹²⁾.

(4) عروة هنلي Henles loop : يتم عن طريق هذه العروة امتصاص وافراز الاملاح المختلفة مثل ايونات الصوديوم Na^+ والكلوريد Cl^- , وذرات الهيدروجين H^+ بحسب حالة الجسم, ويتكون من جزء نحيف هابط وجزء سميك صاعد⁽¹³⁾.

(5) الانبوب الملتوي القاصي (البعيد) Distal convulated tubule : هذه الانابيب لها دور مهم في امتصاص وافراز ايونات البوتاسيوم k^+ تحت تأثير هرمون الالدستيرون Aldosterone, وتصب في الانابيب الجامعة Collecting tubules⁽¹⁴⁾.

(6) الانابيب الجامعة Collecting tubules : تجمع نتاج ترشيح الدم (الادرار) عن طريق النفرونات, وتنتقل خلال قشرة الكلى ولبها لتصب في الكؤوس الثانوية عبر الحليمات Papilla. وللأنابيب الجامعة دور اساسي في امتصاص ماء الادرار لزيادة تركيزه تحت تأثير الهرمون المضاد للادرار (ADH) Anti-Diuretic Hormone الذي يفرز من الغدة النخامية Pituitary gland الصماء في الرأس⁽¹⁵⁾, ويوضح الشكل (1-2) النفرون وتجهيزه بالدم⁽¹⁶⁾.



الشكل (2-1): النرون وتجهيزه بالدم (16).

1.1.1.1- معدل الترشيح الكبيبي (GFR) *Glomerular filtration rate*

معدل الترشيح الكبيبي هو كمية الراشح (مواد صغيرة الحجم) Ultrafiltrates التي تترشح من الدم الى جوف الانابيب الكلوية في مدة زمنية محددة, ويستعمل معدل الترشيح الكبيبي في الطب كمقياس لعمل الكلى . ويتم عن طريق قياس اليوريا Urea والكرياتينين Creatinine في الدم والادرار ويتم تجميعه خلال 24 ساعة, ويقاس بالمليتر في كل دقيقة باستعمال الصيغة الآتية (17):

$$\text{Clearance (ml/min)} = \frac{[\text{Urine Creatinine conc.} \times \text{Volume Urine (ml/min)}]}{\text{Blood Creatinine conc.}}$$

كما ان معدل الترشيح الكبيبي يقل في حالات القصور الكلوي مثل العجز الكلوي Renal failure, ويبلغ المعدل الطبيعي للذكور من (85 - 125) مليتراً / دقيقة, اما المعدل الطبيعي للإناث فيتراوح من (75-115) مليتر / دقيقة (18). يكون التدفق الدموي للكليتين كبيراً جداً, فمعظم الدم يمر تقريباً عبر الكبيبات, اذ يرشح 22% من حجم البلازما فينتج معدل ترشيح كبيبي GFR 180 لتراً في اليوم الواحد (أي 120مليتراً في الدقيقة الواحدة), وسبب ذلك هو الارتفاع غير الاعتيادي للضغط في الشعيرات الكبيبية Capillaries Glomerular (19). وهي بذلك تقوم بدور اساسي في الاتزان البدني عن طريق ضبط توازن الماء والسوائل الاخرى في جسم الانسان. وتعتمد الكلى في وظيفتها على سلامة كل من الكبيبة والخلايا النيبية وتجهيزها بالدم بنحو طبيعي, كما انها تعتمد على الافراز الطبيعي والسيطرة على التغذية الاسترجاعية Feed back للهرمونات التي تعمل في الكلية (20).

ويعتمد معدل الترشيح الكبيبي على عوامل عدة، منها :-

1. محصلة الضغط عبر الغشاء الكبيبي.
2. الطبيعة الفيزيائية للغشاء الكبيبي.
3. المساحة السطحية للغشاء الكبيبي الذي يعكس عمل الكبيبة (21).
4. شحنة الغشاء الكبيبي.
5. حجم الدم الكلي في الشرايين.
6. سرعة جريان الدم في الشرايين.

2.1.1.1 وظائف الكلى kidney function

تُعدّ الكلى من أهم الأعضاء الحيويّة الموجودة في الجسم، وعلى الرّغم من حجمها الصغير نجد انها تقوم بعدة وظائف مهمة جداً للجسم؛ فالكلية تُخلّص جسم الإنسان من العناصر السامة، كما تُنقيّ الدم من السموم الكيميائيّة كافّةً، لذلك تُعد بمنزلة المرشح، الذي ينقيّ ويُصفيّ الترسّبات والسموم كافة الموجودة في الدم، كذلك يُشبه عملها عمل محطة تنقية المياه. يمتلك كل إنسان طبيعياً كليتين، مع إمكانية أن يعيش الشخص بكلية واحدة أيضاً؛ إذ إن الكلية الواحدة تؤدي الوظيفة نفسها وعلى أكمل وجه، ومهمة الكلية الواحدة هي المحافظة على المقادير الصحيحة والمُتقاربة من الأملاح، والمياه، والأحماض، والعناصر الغذائيّة في جسم الإنسان، ويُمكن تلخيص وظائف الكلى بالنقاط الآتية:

1. تنقية الدم وتصفيته، والتخلّص من المواد السامة أجمعها في الجسم (20).
2. التخلّص من المخلفات الكيميائيّة للأدوية وخاصة تلك التي تذوب في الماء (22).
3. الحفاظ على توازن نسبة الأملاح والمياه في جسم الإنسان (23).
4. الحفاظ على عملية تعادل درجة الحموضة في الدم (pH)، ويجب أن تكون ضمن هذه النسبة الطبيعية (7.35 - 7.45) (24).
5. أداء وظائف هرمونية متعدّدة إذ تُطلّق الهرمونات في الدم لتنظيم ضغط دم الجسم، فعند زيادة ضغط دم الإنسان يخفّ الضغط عن طريق إفراز هرمون البروستاغلاندين (25).
6. تنشيط نخاع العظم؛ لتكوين كريات الدم الحمر، وتنظيم عملية إفرازها، وذلك عن طريق إفراز الكلى هرمون الإريثروبويتين (22).
7. تصنيع هرمون الرينين، الذي يُنظّم ضغط الدم في الجسم، وذلك عن طريق تضيق الشرايين، واحتباس الماء عند انخفاض الضغط من أجل إعادة رفعه (26).
8. تكوين البول؛ لتخليص الجسم من الفضلات والسموم الناتجة عن عمليات الأيض المختلفة (23).

2.1.1- الحالب Ureter

يبلغ طول الحالب في الإنسان البالغ ما يقارب 25 سم ويقع نصفه في البطن والنصف الآخر في الحوض (27). والحالب يصل حوض الكلى بمثانة البول، ويدخل المثانة البولية بنحو منحرف، ويجري في جدارها قبل ان يفتح داخل جوفها، وهذا يكون بمنزلة صمام ولاسيما عند تقلص عضلة المثانة، اذ تغلق فتحة الحالب كلياً لمنع رجوع الادرار في الحالب (28). ويتكون جدار الحالب من ثلاث طبقات (29):

- أ. الطبقة الداخلية (The inner layer) وهي عبارة عن غشاء مخاطي .
 ب. الطبقة الوسطى (The middle layer) وتتكون من عضلات ملساء.
 ت. الطبقة الخارجية (The outer layer) وتكون مغطاة بألياف الانسجة الرابطة.

3.1.1- المثانة Bladder

وهي عبارة عن عضو عضلي مجوف, تقع في الجزء الامامي من الحوض, تعمل على جمع الادرار النازل من الحالب وخرنه حتى يتم طرحه خارج الجسم عن طريق الاحليل (30) (31). تبلغ سعة المثانة البولية من (300 - 400) مليلتر. ومن الممكن ان يتمدد جدار المثانة ليستوعب من (600 - 800) مليلتر من الادرار. ويعتمد شكل المثانة البولية على كمية الادرار الذي تحتويه (32). تقع المثانة البولية عند الذكور أمام المستقيم Rectum فوق غدة البروستات Prostate gland, اما في الاناث فتكون اكثر انخفاضاً, وتقع أمام الرحم Uterus, واعلى المهبل Vagina. يخرج من الزاوية السفلية الاحليل الذي يبلغ طوله في الانثى (4) سم وفي الذكر (20) سم, ويفتح الاحليل خارج الجسم في الانثى والذكر, ومنه يطرح الادرار خارج الجسم. اما جدار المثانة البولية فيتألف من اربع طبقات, هي: الغشاء المخاطي والغشاء شبه المخاطي الذي يتكون من الانسجة الرابطة والالياف المطاطية تتبعها حزمة من نسيج العضلات الملساء التي تكوّن العضلات الدافعة, وأخيراً يتكون السطح الاعلى للمثانة البولية من الغشاء المصلي Serous membrane الذي يتألف من الجدار البريتوني Parietal peritoneum (33).

2.1- امراض الكلى Kidney diseases

هنالك الكثير من الامراض الكلوية المختلفة وهي امراض مستفحلة التدمير التدريجي لوحدة الكلية Nephron وان الاعتلالات الكيبيبية اكثر الاسباب شيوعاً من التهاب الكلية وحويضتها المزمن وفرط الضغط. ويعد العجز الكلوي من اكثر الامراض انتشاراً (34).

1.2.1- العجز الكلوي Renal failure

يستخدم هذا المصطلح للدلالة على القصور والفشل للوظيفة الافرازية للكلية. مما يؤدي الى اختلال عام في جسم الانسان نتيجة احتباس السوائل وتراكم الفضلات النيتروجينية. والمواد الضارة نتيجة عمليات الايض (35). لا تتضمن اعراض العجز الكلوي الى تراكم كميات غير طبيعية لليوريا في الدم فحسب ولكن الى الاضطراب والخلل في تراكيز ايون الهيدروجين وتوازن الماء والاملاح وتراكم نواتج كثيرة اخرى نتيجة لعمليات الايض. هذا يسبب حالة من التسمم الداخلي وزيادة حموضة الدم الناتجين عن زيادة المواد الضارة التي يتخلص منها الدم عن طريق الكلى مثل حامض اليوريك والكرياتينين (36).

1.1.2.1- العجز الكلوي الحاد Acute Renal Failure (ARF)

يمثل نقصاً عكسياً في وظائف الكليتين يكفي لاحداث اضطراب مهم في البيئة الداخلية للجسم ومسبباً تراكم وتجمع المركبات النيتروجينية الضارة داخل الجسم، وغالباً ما تسترجع الكليتين عملهما بنحو كامل بعد العلاج في هذا النوع الذي يستمر أياماً او اسابيع قليلة (37).

يتم تشخيص العجز الكلوي الحاد بالاعتماد على الاختبارات السريرية واختبار وظيفة الكلية عن طريق اجراء فحوصات كفحص اليوريا والكرياتينين في الدم وتحليل الادرار (34)، يعد ARF سبباً مهماً في حدوث الامراض والوفاة (37)، إذ تزيد نسبة الوفيات في وحدات العناية المركزة عن (50%) بسبب زيادة نسبة الاصابة وشدة المرض في الاعمار المتقدمة ووجود عدد من الامراض الاخرى المرافقة. تقل نسبة الوفيات بالعجز الكلوي بعد اجراء الديليزة مباشرة، وعموماً ان ARF يكمن في اللحظة التي تتوقف فيها الكليتان عن اداء وظيفتهما كلياً ويصبح دور البديل الاصطناعي (الديليزة) ضرورياً لحماية حياة المريض حتى يتحقق الشفاء والعودة الى الوظيفة الطبيعية (38).

يعزى ارتفاع معدل الوفيات عند مرضى العجز الكلوي الحاد الى زيادة خطر المضاعفات غير الكلوية الشديدة مثل النزف (39)، ومعظم هذه المضاعفات تتطور بعد ابتداء العجز الكلوي، ومن ثم تؤدي الى الوفاة، وكذلك الكثير من الامراض الاساسية تؤدي الى تطور حالة من العجز الكلوي الحاد، ومنها: داء السكري (40)، وارتفاع ضغط الدم، والقصور القلبي الحاد، وامراض الكبد، إذ يشترك ARF مع تلك الامراض في احداث الوفاة (41).

1.1.1.2.1- أسباب العجز الكلوي الحاد Causes of Acute Renal Failure

يظهر هذا العجز بسرعة نتيجة أسباب عديدة قد لا تكون للكلى علاقة بها, ومن حسن الحظ ان هذه الاسباب معروفة, ويمكن في كثير من الاحيان الوقاية منها ومعالجتها (42). وتنقسم على ثلاثة اسباب:-

1- أسباب ما قبل الكلى Pre- Renal Causes

في هذه الحالة تكون الكلى سليمة ولكن يحدث العجز الكلوي نتيجة اضطرابات الدورة الدموية الحادة او المفاجئة المؤدية الى انخفاض حاد او شديد في ضغط الدم Hypotension فتسبب نقصاناً في كمية الدم المار للكلى مما يؤدي الى انخفاض في عملية الترشيح الكبيبي Glomerular Filtration (43), ومن ابرز اسبابه:-

- 1) النزف الداخلي كقرحة الاثني عشر Duodenum والتهاب البنكرياس Pancreatitis او حدوث النزف اثناء العمليات الجراحية.
- 2) النزف الخارجي كما يحدث في عمليات الكسور والحوادث.
- 3) الحروق الشديدة Severe Burns, اذ انها تؤدي الى فقدان كمية كبيرة من البلازما وسوائل الجسم الاخرى.
- 4) الاصابة بالإسهال Diarrhea ولاسيما عند الاطفال او التقيؤ الشديد Sever vomiting, إذ تقل السوائل في الجسم مسببة الجفاف Dehydration, وهذا يؤدي الى انخفاض في ضغط الدم, بالتالي يسبب حدوث الفشل الكلوي الحاد.
- 5) قلة الانقباض او الانبساط القلبي نتيجة قصور القلب الاحتقاني Congestive Heart Failure او احتشاء عضلة القلب Myocardial Infarction (44).

2- أسباب كلوية Renal Causes

تتعرض الكلى هنا الى الالتهاب الشديد Severe Inflammation ومن ثم حصول القصور الحاد في وظائفها (45), ومن الاسباب المؤدية الى الالتهاب الشديد للكلى.

- 1) بعض امراض الكلى كالنخر النببي الحاد Acute Tubular Necrosis, إذ يحدث تغير سريع في وظائف الكلى نتيجة انخفاض الدم الوارد للكليتين وقلة ضغط الدم, مما يؤدي الى نخر الانابيب الكلوية, ومن ثم حدوث الفشل الكلوي الحاد, وقد يحدث النخر النببي في حالات نادرة نتيجة لمضاعفات الحمل والولادة او في حالة تناول مركبات

- ذات تأثير سام مباشر في خلايا النبيبات الكلوية Renal Tubular cells , وهذا النخر هو اهم الاسباب الكلوية وهو ناتج في الاصل عن سبب قبل كلوي (46).
- (2) استخدام بعض الادوية التي لها تأثير في الكلية كالكلايكوسيدات الامينية Amino glycosides , والنتراسايكلين Tetracycline , وتأثير بعض المذيبات العضوية Organic solvents , والمعادن الثقيلة Heavy Metals (47).
- (3) التهاب كبيبات الكلى الحاد Acute glomerulonephritis كالتهاب الكبيبات الغشائي Membranous Glomerulonephritis والتهاب الكبيبات التكاثري Proliferative Glomerulonephritis (48).
- (4) أمراض الاوعية الكلوية , وتشمل عدة انواع:- تصلب الكلى Nephrosclerosis (49) , وفرط ضغط الدم الخبيث Pernicious Hypertension (50) , ومتلازمة انحلال الدم اليوريمي Hemolytic-Uremic Syndrome , وانسداد الشريان أو الوريد الكلوي كحدوث جلطة في احدهما (51).
- (5) التهاب الكلى الخلالي السدوي Interstitial Nephritis يحدث نتيجة لاستخدام ادوية كالبنسليين والسلفوناميد (52).

3- أسباب ما بعد الكلى Post-renal causes

- تكون الكلى سليمة , ولكن الاصابة ناتجة من انسداد في مجرى البول (المثانة او الحالب او الاحليل) , وهذا الانسداد ناتج عن حدوث اورام سرطانية Malignant Tumors , أو وجود حصوة Stone في مجرى البول او نتيجة حدوث تليف Fibrosis او تضخم Enlargement في البروستات (53).

2.1.1.2.1 - الأعراض Symptoms

1. الشعور بالتعب والضعف.
2. تغير في لون الادرار.
3. تغير في لون الجلد.
4. الشعور بالتعب مع كل اجهاد حتى لو كان بسيطاً.

3.1.1.2.1 - التشخيص Diagnosis

- يشخص عن طريق الفحص السريري مثل لون البشرة، وقلة الادرار، وشحوب العينين (54).

2.1.2.1 -العجز الكلوي المزمن Chronic Renal Failure (CRF)

وهي نقص في وظيفة الكلى نتيجة مرض مزمن، او هو المتلازمة التي تحصل نتيجة عمليات هدم متوالية وغير عكسية للوحدات الكلوية Nephron . ويمتاز CRF بمرحلة طويلة وهادئة تستمر لعدة اشهر مصحوبة بانتكاسات حادة تبقى لأيام او اسابيع⁽⁵⁵⁾ .

ان مرض CRF هو النتيجة النهائية لعدة امراض ,وفي بعض الاحيان لا يوجد عامل مسبب واضح للمرض، اذ ان معظم حالات انقطاع الادرار الحاد سببها امراض كلوية ،ويدل هذا على وجود ضرر في اغلب النفرونات⁽⁵⁶⁾ . و يوجد فرق واضح بين CRF والعجز الكلوي الحاد ARF، اذ يمتاز الاخير بفشل مؤقت وقابل للإصلاح في وظائف احدى الكليتين، ثم يستمر لساعات او لأيام، ومن هنا تختلف الاعراض والعلامات في الحالتين، ويحدث مرض ARF نتيجة نزف دموي حاد او فقدان حاد في السوائل، ويمثل انقطاع الادرار الحاد واعراض الجفاف والانخفاض الحاد في ضغط الدم وارتفاع في معدل النبض، اما في مرض CRF فإن الأعراض والعلامات تكون مختلفة، وهي تعكس الفشل الدائم للوظائف (الإخراجية والأيضية والإفرازية الداخلية) وتأثيرها المباشر وغير المباشر، وأعراض المرض تبدو للوهلة الاولى بعيدة كل البعد عن الجهاز البولي، والسبب هو ان للكلى وظائف متعددة⁽⁵⁷⁾ .

1.2.1.2.1- أسباب مرض العجز الكلوي المزمن Causes of Chronic Renal Failure

يوجد الكثير من الأمراض التي تؤدي الى حصول تلف في جزء كبير من النسيج الكلوي، و ثم تسبب مرض CRF، ومن هذه الأمراض:

1. التهاب الكبيبات الكلوية المزمن Chronic glomerulonephritis⁽⁵⁸⁾ .
2. انسداد المجاري البولية المزمن Chronic urinary tract obstruction الناتج عن تضخم البروستات في الكبار وحصى المجاري البولية⁽⁵⁹⁾ .
3. التهاب حويضة الكلى المزمن Chronic pyelonephritis⁽⁶⁰⁾ .
4. الكلى متعددة الأكياس Polycystic kidney وهو من الأمراض الخلقية الوراثية⁽⁶¹⁾ .

كما توجد اسباب اخرى تؤدي الى حدوث مرض CRF، مثل:داء السكري Diabetes mellitus، والداء النشواني Amyloid disease، وفرط الضغط الاساسي Idiopathic hypertension، والنقرس Gout، والكلاس الكلوي Nephrocalcinosis، والذأب الاحمراري المنتشر Disseminated lupus erythematosus⁽⁶²⁾ .

وقد يتطور مرض CRF بصورة مفاجئة وتدرجية في الكثير من الحالات المرضية ولعدة سنوات يصبح فيها من الصعب تحديد طبيعة المرض الكلوي الذي أدى الى عجز الكلية (63).

2.2.1.2.1-الأعراض Symptoms

يمتاز مرض CRF بتغيرات بطيئة بمعنى ان الوظيفة الاخراجية (تكوين الادرار وطرحه) للكلية غير كافية. ولتجنب هذا فإن الكبيبات الكلوية المتبقية تبذل جهداً لتبقي تأثيرها المنظم ضمن الحدود الطبيعية، وهذا ما يسمى بفرضية النفرونات السليمة Intact nephron hypothesis (64).
وتحدث في مرض CRF تغيرات مختلفة أهمها:

(1) اليوريميا (Uremia) ان الفشل في الوظائف الاخراجية والايضية والافرازية الداخلية يؤدي الى نشوء متلازمة سريرية Clinical syndrome تعرف باليوريميا الذي يعد الصورة السريرية لمرض CRF (65)، اما اسباب اليوريميا فهي عدم قدرة الكلية على طرح اليوريا مع الادرار خارج الجسم
(2) كثرة التبول ولاسيما في الليل، وهو بذلك يحل محل الكمية القليلة من الادرار المركز والمفرز بنحو طبيعي، ويحصل هذا بسبب ضعف قدرة الكليتين على تركيز الادرار (67).

(3) خطر الاستثارية العضلية Muscular irritability ، ويحصل نتيجة هبوط مستوى البلازما، ونقص الصوديوم في الدم، وازدياد البوتاسيوم فيه (68).

(4) يشكو المريض من غثيان وقيء مع ضعف الشهية للطعام، وغالباً ما تحدث نوبات اسهال يصاحبها دم، ثم تصبح حالة المريض بعدها اكثر سوءاً بسبب فقر الدم الشديد (69).

(5) ارتفاع في ضغط الدم نتيجة زيادة الماء والاملاح او زيادة افراز هرمون الرينين، وفرط الضغط يسبب تلفاً اضافياً على الكلية (70).

(6) يصاب المريض بعجز في القلب وبالوذمة Odema ، أي يصبح متورماً، ويكون كل من اللسان والجلد جافين (71).

(7) ينخفض GFR الى 5% عن المعدل الطبيعي، ويصل تركيز مادة الكرياتينين في البلازما الى 20 مرة اكثر من تركيزها الطبيعي. اما بالنسبة إلى اليوريا فهي تمتص جزئياً وسلبياً بواسطة النبيبات الكلوية، ويعتمد مدى الامتصاص على معدل الجريان اليومي للنبيبات (72).

(8) انخفاض نشاط الانزيمات الكلوية المسؤولة عن تكوين 1,25-dihydroxycholecalciferol والذي يؤدي الى الانخفاض بمستوى الكالسيوم مما يؤدي الى اصابة الكبار بلين العظام واصابة الاطفال بمرض الكساح (73).

3.2.1.2.1- تشخيص مرض العجز الكلوي المزمن *Diagnosis of Chronic Renal Failure*

يعتمد تشخيص المرض على :-

- (1) تاريخ المرض.
 - (2) الفحص السريري.
 - (3) الفحوصات المختبرية.
- قد يتم تشخيص المراحل الاولى لمرض CRF مصادفة وذلك عن طريق وجود البروتين، و فقر الدم، ارتفاع ضغط الدم، فضلا عن ارتفاع مستوى الكرياتينين واليوريا في البلازما ، وذلك يظهر في الفحص الروتيني للمريض، ولكن هذه الفحوصات في اغلب الاحيان لا تعطي دقة في التشخيص، ويلاحظ ان فحص الكرياتينين ادق في تقدير شدة المرض لعدم تأثره بنوع الغذاء بخلاف اليوريا. بما ان تدهور وظائف الكليتين بطيء فلا تظهر اي اعراض على المريض الى ان يبلغ معدل الترشيح الكبيبي GFR 15 سم³ لكل دقيقة او اقل من ذلك (74).

4.2.1.2.1- علاج مرض العجز الكلوي المزمن *Treatment of Chronic Renal Failur*

يتم علاج مرض CRF اما باستخدام الانفاذ الدائم Chronic dialysis او غرس الكلية Renal Transplantation من اجل إطالة حياة المريض ، إذ تعد هاتان الطريقتان من الطرائق المثلى للمعالجة، وعلى الاغلب لا يمكن الاعتماد على العلاج بالغرس بسبب وجود بعض الصعوبات، منها مدى استعداد جسم المريض للغرس الكلوي والسيطرة على عملية رفض الكلى المغروسة (75).

3.1- الديليزة الدموية (الديال الدموي) Hemodialysis

تعرف بأنها عملية تصفية الدم وتنقيته من المركبات النيتروجينية والشوائب المتركمة الناتجة عن قصور الكليتين. والمحافظة على التوازن المائي داخل الجسم (76)، وهي بذلك تعوض عن جزء من الوظيفة الإفرازية للكلى. ولا تقوم بالوظائف الطبيعية التي تقوم بها الكلى الطبيعية (77)، وتعتمد عملية الديليزة على ظاهرة الانتشار Diffusion، والترشيح الفوقي Ultrafiltration، وعادة يجري الدم بين غشاءين رقيقين من السيلوفان، ويوجد سائل الديليزة خارجها، إذ إن غشاء البلازما يسمح بمرور المواد من بلازما الدم إلى سائل الديليزة وبالعكس ما عدا البروتينات، فإذا كان تركيز إحدى المواد في البلازما أكبر مما عليه في سائل الديليزة تكون طبيعة انتشارهما من البلازما إلى سائل الديليزة. وتعتمد حركة المذاب عبر غشاء الديليزة على عدة عوامل منها نفوذية سطح الغشاء للمذاب، واختلاف تراكيز المواد المذابة بين المحلولين، ومساحة سطح الغشاء، والمدة الزمنية التي يبقى فيها الدم السائل في حالة تماس مع الغشاء.

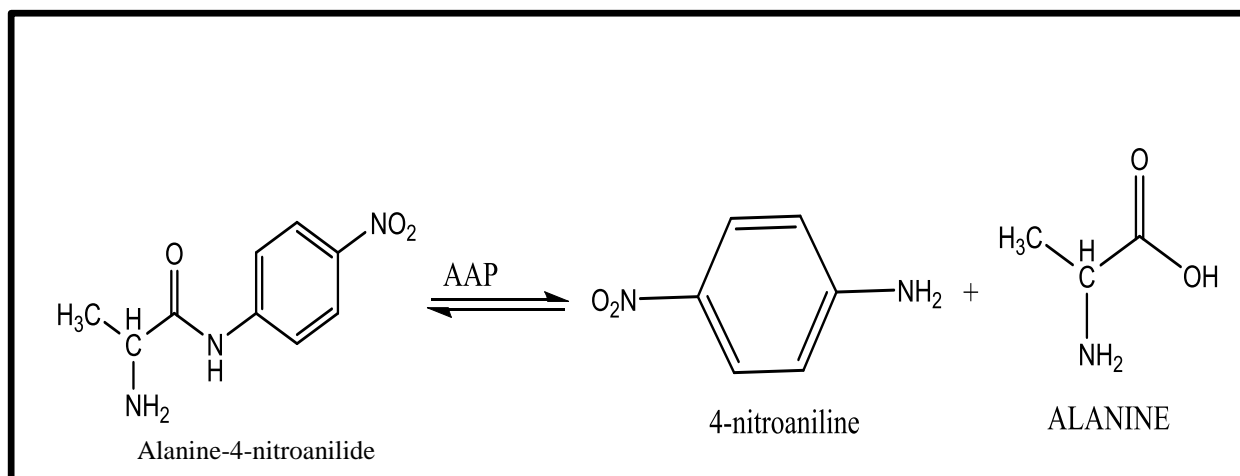
تجرى عملية الديليزة بحسب حاجة المريض، وعادة يحتاج المريض إلى ثلاث عمليات في الأسبوع وكل عملية تستغرق (3-4) ساعات إذ بعد عملية الديليزة تتحسن المتغيرات الكيموحيوية للبلازما، ولكن لا تعود إلى الحالة الطبيعية فضلاً عن حاجة المريض إلى علاجات دوائية تهدف إلى تعويض جزء من عمل الكلى وهذه الأدوية تكون حاوية على مركبات الكالسيوم والحديد التي لها القابلية على الارتباط بالفوسفات وفيتامين D من نوع 1- ألفا فضلاً عن عقاقير أخرى بحسب حاجة المريض (78). إن نسبة الوفيات بين مرضى الديال تقدر ما بين (10-15%) سنوياً وتتغير مع الوقت، فقد يزداد عدد المرضى الخاضعين للديليزة الدموية في السنوات الأخيرة (79).

1.3.1- انزيمات تفكك الامينو اساييل ببتايديز مائيا

Aminoacyl peptide hydrolases, EC (3.4.11.1)

تشمل انزيمات الامينوببتايديز مجموعة من انزيمات الببتايديز الخارجية Exopeptidase التي تشطر حامض اميني مفرد من النهاية الامينية للسلسلة الببتيدية. يوجد نوعان من الامينو ببتايديز، أحدهما (EC 3.4.11.1) Cytosolic aminopeptidase، أما الآخر فهو aminopeptidase Microsomal (EC 3.4.11.2)، فانزيم الـ Cytosolic يعمل على تحلل الببتيدات ما عدا اللايسايل والارجينايل، وأفضل مادة أساس له هي L-leucinamide، أما انزيم الـ Microsomal فهو يفضل التفاعل مع الالانين الموجود في النهاية الامينية للببتيد. ولا يقتصر استعمال مشتقات (β-Naphthylamide و 4-Nitroanilide) للالانين فحسب، بل يمكن استعمال مواد أساس آخر كمشتقات الليوسين، ولهذا ظهرت تسميات أخرى للانزيم Alanine aminopeptidase و Leucine aminopeptidase اعتماداً على المادة الأساس المستهلكة (80).

اذ يقوم AAP بتحفيز تحرر 4-Nitroaniline والحامض الاميني في الطرف النايتروجيني مفضلاً الالنين من مدى واسع من الببتيدات والاميدات كما في التفاعل الآتي (81):



4.1 - انزيم الالنين امينوببتايديز *Alanine aminopeptidase (AAP)*

الالنين امينوببتايديز N AAP (EC 3.4.11.2) والمعروف ايضا بأسم الالنين امينوببتايديز CD13. يعد من الببتيدات الخارجية exopeptidase التي تفضل المواقع الطرفية للأحماض الامينية (82). يوجد بنطاق واسع في جسم الثدييات , ويتميز بامتلاكه العديد من الوظائف الفسيولوجية المختلفة داخل جسم الانسان (83). يعد الالنين امينوببتايديز مؤشراً لحدوث الضرر الكلوي في وقت مبكر (84). ومن ناحية اخرى هناك الكثير من الادلة التي تقترح أن الالنين امينوببتايديز يمكن استخدامه للتشخيص في الكثير من الامراض السرطانية. إذ يؤدي دوراً حيوياً في غزو الورم الخبيث والاوعية الدموية (85). لذلك فإن الحساسية والانتقائية في الموقع تُعد طريقة لتحديد نشاط الانزيم الذي من شأنه أن يسهم في تحديد الكثير من الامراض التي ترتبط به (86).

1.4.1- مصادر الالنين امينوببتايديز: - Sources Of Alanine Aminopeptidase

ينتشر الانزيم انتشاراً واسعاً في انسجة الكلية (87), وفي مصل الدم (88), والغشاء المخاطي للامعاء الدقيقة (89), والكبد والبنكرياس, والمشيمة والبروستات في الانسان, ولا يقتصر وجود الانزيم على اعضاء جسم الانسان, بل يوجد في انسجة بعض الحيوانات مثل انسجة كلية الفأر (90), وكذلك في القشرة الخارجية لكلية الارنب, وانسجة الكبد,

والطحال، والكلية، والقلب، والبنكرياس، والمعدة، والامعاء الدقيقة والرئة لكل من الماشية، والخروف والخنزير⁽⁹¹⁾. وتعد الكلية من اكثر المصادر الغنية بالإنزيم، اذ يكون نشاطه في الكلية بحدود (10-15) مرة اكثر من بقية الاعضاء الاخرى، وبهذا يمكن القول ان الكلية هي المصدر الرئيس للإنزيم⁽⁹²⁾، ويوجد الإنزيم في البلاستيده الخضراء لنبات بنجر السكر⁽⁹³⁾، ويتمركز في الجدار الخلوي لبكتريا E.coli⁽⁹⁴⁾.

5.1- هرمون الاديپونكتين (ADP) Adiponectin hormone

هو هرمون بروتيني ينظم عدداً من العمليات الايضية، منها تنظيم الكلوكوز، وتنظيم ايض الدهون ويعمل أيضاً مضاداً للالتهابات ومضاداً للأكسدة⁽⁹⁵⁾. يتجمع الـ ADP في معقدات Multimeric داخل الشبكة الاندوبلازمية واجسام كولجي⁽⁹⁶⁾. اذ تفرزه بوفرة الانسجة الدهنية. ويقدر مستواه في مصل الدم بنحو (5-20) مايكروغرام /مل في كل من الانسان والقوارض⁽⁹⁷⁾. يخلق ADP بالدرجة الاولى من الخلايا الشحمية ثم خلايا العضلات والهيكل العظمي، الخلايا البطانية، والخلايا الظاهرية، وخلايا تكوين العظم. وتوجد عدة مستقبلات للـ ADP منها AdipoR1 و AdipoR2. اذ يكون AdipoR1 واسع الانتشار واكثر وفرة ويوجد في العضلات الهيكلية. في حين يوجد AdipoR2 في الكبد⁽⁹⁸⁾.

1.5.1- تركيب هرمون الاديپونكتين

Structure Of Adiponectin Hormone

يتم ترميز الاديپونكتين بواسطة الجين الذي يقع على كروموسوم 3q27، وهي منطقة مرتبطة مع الجينات الوراثية لمرض السكري من النوع الثاني والسمنة. هرمون الاديپونكتين هو عبارة عن بروتين يبلغ الوزن الجزيئي له 30 كيلو دالتون، ويتألف من 244 حامضاً امينياً التي تشبه هيكلية تركيب (الكولاجين في البروتين) ، ويتألف من اربع مناطق:

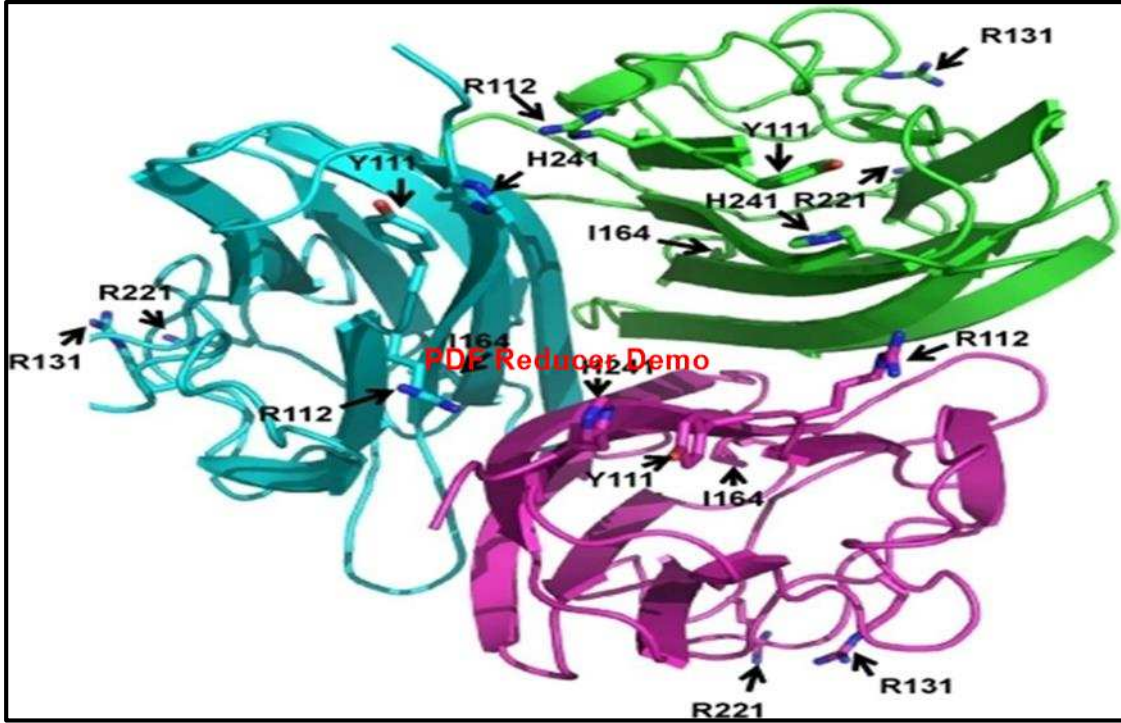
الاولى :- اشارة تسلسل قصيرة تستهدف هرمون الافراز خارج الخلية .

الثانية :- منطقة قصيرة وتختلف بين الانواع .

الثالثة :- هي منطقة الحامض الاميني -65، إذ تتشابه مع كولاجين.

الرابعة:- كروي الهيئة⁽⁹⁹⁾.

وهذه المناطق تسهل ربط الاديپونكتين بمستقبلاته⁽¹⁰⁰⁾. يوضح الشكل (1-3) تركيب هرمون الاديپونكتين⁽¹⁰¹⁾.



الشكل (3-1): تركيب هرمون الاديونكتين⁽¹⁰¹⁾.

يوجد الاديونكتين المتعارف عليه في البلازما بصورة Oligomer قليل الوحدات بأوزان جزيئية مختلفة, فضلا عن انقسام البروتين⁽¹⁰²⁾, ويدعى بالاديونكتين الكروي الذي يمثل كمية صغيرة من مجموع الاديونكتين المتداول في البلازما, ويحتوي على رأس كروي لا يشبه الكولاجين, اذ يزداد ارتباطه في أغشية العضلات والهيكل العظمي. ويقل في خلايا الكبد وأغشية الكبد, وتتجمع سلسلة الاديونكتين بالكامل في ثلاثة Oligomer قليل الوحدات مختلفة:

1. ثلاثي الوحدات :- منخفض الوزن الجزيئي (LMW) الذي يتكون من ثلاث جزيئات ترتبط عن طريق الكولاجين.
2. سداسي الوحدات:- التي ولدت من اثنين من الترايمر Trimer عن طريق ارتباط ثنائي الكبريت داخل ساق الكولاجين ويكون متوسط الوزن الجزيئي (MMW).
3. قليل الوحدات :- يتألف من (3-6) وحدة Meric، ويكون ذا وزن جزيئي عالي (HMW). ان هذه المتناظرات تمارس وظائف بايولوجية مختلفة بنحو ملحوظ⁽¹⁰³⁾.

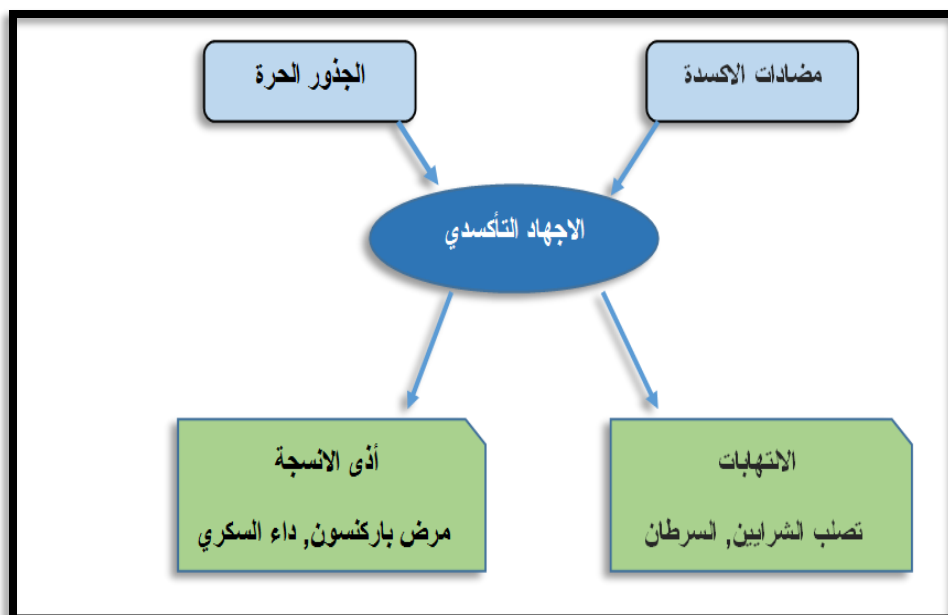
2.5.1- وظيفة هرمون الاديونكتين *Function Of Adiponectin Hormone*

وجد ان الاديونكتين يعمل في الجهاز العصبي المركزي لتنظيم الشهية واستخدام الطاقة. إذ تم الكشف عن كل من AdipoR1 و AdipoR2 في منطقة تحت المهاد Paraventricular hypothalamus، والمهاد الجانبي Lateral hypothalamic nuclei من الدماغ. مما يشير الى المشاركة الفسيولوجية في عمل ADP في هذه المناطق من الدماغ. على الرغم من انه ما يزال هنالك غموض بشأن oligomer القليل الوحدات في الدماغ، ولكن هنالك ادلة تشير الى ان الشكل المتناظر LMW قد يكون هو الشكل النشط. ويلعب دوراً رئيساً في تنظيم سلوك التغذية في الجهاز العصبي المركزي، ويكون مسؤولاً عن التأثيرات المركزية. اما شكل المتناظر HMW فيكون مسؤولاً عن التأثيرات المحيطة (104).

6.1 - الاجهاد التأكسدي والجذور الحرة *Oxidative Stress and Free Radicals*

يعرف الاجهاد التأكسدي بأنه عدم الموازنة بين مستوى الجذور الحرة والنظام الخلوي القادر على إزالة تأثير تلك الجذور وفي هذه الحالة يتعرض الجسم الى عوامل مؤكسدة منها الجذور الحرة ونواتجها من العمليات الايضية (105)، لذلك يحدث الاجهاد التأكسدي عندما تتجاوز مستويات مركبات الاكسدة قدرة مضادات الاكسدة على ازالتها (106).

يعتقد ان الاكسدة تسهم بالإصابة في العديد من الامراض، وقد تؤدي الى تفاقم الاعراض ومن هذه الامراض السرطان (107)، تصلب الشرايين (108)، مرض باركنسون Parkinson disease وداء السكري (109). ومن المعروف ان الاجهاد التأكسدي يحدث نتيجة تراكم الجذور الحرة في الجسم لذلك زيادة مستوى تلك الجذور عن الحد الطبيعي يؤدي الى مهاجمة تركيب الغشاء الخلوي للخلايا لتنتج فضلات ايضية تتراكم في الخلايا مثل مادة ليبوفوسين Lipofuscin وزيادة تركيز هذه المادة في الخلية سوف يظهر بصورة بقع سود (110). ويوضح الشكل (1-4) عدم التوازن بين مضادات الاكسدة والجذور الحرة (111)



شكل (1-4): عدم التوازن بين مضادات الاكسدة والجذور الحرة (111).

تمتاز الجذور الحرة بأنها جزيئات تمتلك واحداً أو أكثر من الإلكترونات المفردة في غلافها الخارجي، فتكون ذات فعالية عالية أكثر من غيرها وذلك بسبب وجود الكترون مفرد في غلافها الخارجي، (112). حيث تحاول تلك الجذور مهاجمة الجزيئات واكتساب الإلكترون المطلوب من الجزيئة المستقرة والاقرب، فالجزيئة المهاجمة سوف تحرر جذراً حراً جديداً (113).

تسبب عملية انتقال الإلكترون انتاج جزيئات غير مزدوجة في بقية الجزيئات لتتكون جذوراً حرة، وتقوم هذه الجذور ببدا سلسلة من تفاعلات انتقال الإلكترون (114)، وبذلك يكمن الخطر في بدء سلسلة من التفاعلات المتسلسلة للجذور الحرة، ومن ثم تعرقل عمل الخلايا الطبيعية وامكان تحولها الى خلايا غير طبيعية مؤكسدة تقود الى تغييرات مختلفة في وظيفة الخلايا (113). وان الضرر الناتج عن هذه التفاعلات يكون غير محسوس الى حين وصوله لمرحلة متقدمة من الاذى المسمى بالاذى التأكسدي oxidative damage (115).

وتصنف الجذور الحرة الى صنفين :

1-اصناف الاوكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species-ROS

مثل جذر سوبر اوكسيد السالب $(\cdot O_2^-)$ Superoxide anion radical ، وبيروكسيد الهيدروجين Hydrogen

peroxide، وجذر الهيدروكسيل $(\cdot OH)$ (16).

2- اصناف النتروجين الفعالة Reactive Nitrogen Species-NOS

مثل جذر اوكسيد النتروز ($\text{NO}\cdot$)، وجذر اوكسيد النتريك (NO_2)، والبيروكسي نايتريت ($\text{OONO}\cdot$)⁽¹¹⁷⁾.

مصادر الجذور الحرة Source of free Radical

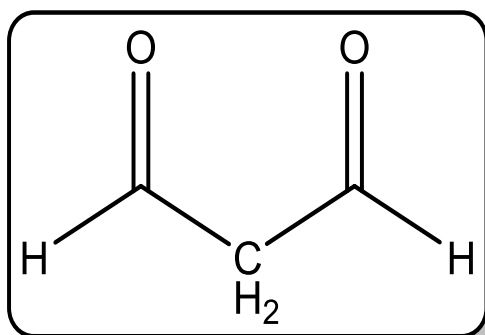
وهناك مصدران اساسيان لتكون الجذور الحرة:-

1- مصادر الجذور الحرة الداخلية:- وتشمل الارهاق النفسي والجسدي وتقدم العمر والحالات المرضية⁽¹¹⁸⁾، واكسدة الكاتكول امين⁽¹¹⁹⁾.

2- مصادر الجذور الحرة الخارجية:- وتشمل الاشعة فوق البنفسجية UV وبعض العقاقير والمذيبات مثل البنزين⁽¹²⁰⁾، وبيروكسيد الهيدروجين والالمنيوم⁽¹²¹⁾.

7.1- المألون ثنائي الالديهيد MalonDialdehyde-MDA

يعرف المألون ثنائي الالديهيد بانه احد النواتج النهائية لأكسدة الاحماض الدهنية غير المشبعة بيروكسيده الدهن⁽¹²²⁾، وان عملية التفاعل بين تلك الحوامض والجذور الحرة تسمى تخزين الدهون او بيروكسدة الدهون⁽¹²³⁾، لذلك يعبر الـ MDA عن زيادة حالات توليد الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي، وهو مركب يتكون من ثلاث ذرات كاربون مع مجموعتين ألديهيد⁽¹⁰⁵⁾، وكما في الشكل (1-5) الذي يوضح تركيب المألون ثنائي الالدهايد⁽¹²⁴⁾.

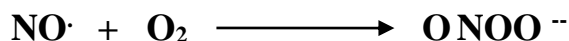


شكل (1-5) تركيب المألون ثنائي الالدهايد⁽¹²⁴⁾

يعد تركيز الـ MDA مؤشراً جيداً لحصول عملية بيروكسدة الدهن، ودليلاً على بعض الامراض ولا سيما تصلب الشرايين⁽¹²⁵⁾، اذ يزداد تركيزه في حالات الاجهاد التأكسدي الناتج من الامراض المختلفة، اذ اشارت الدراسات الى وجود زيادة ملحوظة في تركيزه في حالات الاصابة بشتى الامراض⁽¹²⁶⁾، لذا فإن قياس مستوى الـ MDA في الدم والانسجة يعطي مؤشراً عن مدى تعرض دهون الجسم للأكسدة⁽¹²⁷⁾.

8.1- بيروكسي نترت:- Peroxynitrite

يعرف البيروكسي نترت على انه احد المركبات النيتروجينية الفعالة المشتقة من جذر أكسيد النترتريك NO عند تفاعله مع O₂ ويحدث التفاعل بصورة سريعة جداً ويعد من الجذور الذائبة في الدهون ويتم التفاعل بحسب المعادلة (128).



ان مضار جذر البيروكسي له القابلية على اكسدة حامض اليوريك وحامض الاسكوريك Ascorbic acid ومجاميع الثايول SH- في الدم، وبهذا يقلل عدد مضادات الأكسدة في الجسم , وله القابلية على اكسدة المواد الخلوية مثل الـ DNA والدهون المفسفرة المكونة لأغشية الخلايا مكونة جذر الكوكسي LO· والبيروكسي LOO· وحدوث طفرات وانشطار لحلزون الـ DNA (129), وتكون له ألفة عالية للحامض الاميني التايروسين في البروتين ويعد المركب الوسيطى 3-نايترو تايروسين 3-Nitro tyrosine دليلاً على حصول الضرر في البروتين (130), ويتم تثبيط هذا المركب بوساطة الكلوثاثيون, اذ يحدث التفاعل بصورة سريعة ويمنع من نيترة التايروسين (131), والمايتوكوندرىا التي يمكن بعد ذلك ان تؤدي الى موت الخلية (132).

***The aim of the study* : الغاية من هذه الدراسة:**

يعد انزيم الالنين امينو ببتيديز AAP من الانزيمات التي توجد في اغلب أعضاء جسم الانسان فضلاً عن وجوده في المصل والادرار. ولكون الانزيم يتركز وجوده في الكلية في المنطقة القريبة من النبيب الملتوي القريب. ولقلة الدراسات المتوافرة في الادبيات حول فعالية الانزيم في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن فقد هدفت الرسالة الى قياس نشاط الانزيم في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن قبل وبعد الغسيل الكلوي ومتابعة بعض المتغيرات الحياتية المعروفة والمرتبطة بالحالة المرضية.

وللوصول الى الغاية لابد من تحقيق الأهداف التالية:

- 1- قياس فعالية انزيم الالنين امينو ببتيديز AAP في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن قبل وبعد الغسيل الكلوي ومقارنتهم مع الاصحاء.
- 2- قياس تركيز هرمون الاديونكتين ، المالونديهايد ، البيروكسي نايتريت، اليوريا ، الكرياتينين، وحامض اليوريك فضلاً عن حساب مؤشر كتلة الجسم في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن (قبل وبعد الغسيل الكلوي) ومقارنتهم مع الاصحاء.
- 3- دراسة علاقة الارتباط بين انزيم الالنين امينو ببتيديز AAP والمتغيرات الكيموحيوية.

الفصل الثاني

المرضى،

المواد وطرائق العمل

PATIENTS,

MATERIALS AND METHODS

Patients, Materials and Methods 2- المواد والمرضى وطرائق العمل**1.2- الاجهزة المستخدمة Instruments**

تم استخدام الاجهزة والادوات المبينة في الجدول (1-2) الآتي :

جدول (1-2): الاجهزة المستخدمة مع الشركة المصنعة (المنشأ).

الشركة المصنعة	الاجهزة	ت
Aple-PD-303-JAPAN	جهاز المطياف الضوئي UV-vis Spectrophotometer	1
Memmart-Germany	حمام مائي Water bath	2
HERMLE, Germany	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	3
A&D Company- JAPAN	ميزان حساس Sensitive analytical balance	4
Euron, France	فريزر Freezer(-20) °c	5
Gallenkamp, U.K.	حاضنة Incubator	6
WTW- Germany	جهاز قياس الدالة الحامضية pH-meter	7
Thermo, Germany	جهاز تقنية ELIS (Micro ELISA System)	8

2.2- المواد الكيميائية المستخدمة Chemicals used

تم الحصول على عُدّة (Kit) الجاهزة والمواد الكيميائية المستخدمة في البحث من منشآت عالمية مختلفة كما مبين في الجدول (2-2):

جدول (2-2): المواد والكواشف الكيميائية المستخدمة مع المنشآت:

ت	المواد الكيميائية	الشركة والمنشأة
1	عُدّة قياس فعالية هرمون الاديونكتين Human ADP(Adiponectin) ELISA Kit	Human
2	المادة الاساس للانزيم Alanine-4-nitroanilide	GENAXXON Bioscience
3	عُدّة الكرياتنين Creatinine kit	BioLABO-France
4	عُدّة حامض اليوريك Uric acid kit	BioLABO-France
5	بفر الترس- حامض الهيدروكلوريك Tris-HCL	Promega-USA
6	محلول قاعدة الهيدروكسيد NaOH	BDH-England
7	مادة 4- نايترالالنين 4-Nitro alanine	Fluka-Germany
8	عُدّة قياس اليوريا Urea kit	Camtchmedical-France

3.2- نماذج الدم Blood Sample

1.3.2- نماذج المرضى Patients Sample

تم جمع عينات الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن من مستشفى الكرامة التعليمي في بغداد- العراق وللمدة (تشرين الأول/2017- كانون الثاني/ 2017) , إذ جمعت في اثناء هذه الدراسة (70) عينة دم لكلا الجنسين ذكور وإناث (35) عينة دم قبل الغسيل، و (35) عينة دم بعد الغسيل، تراوحت اعمارهم بين (30-70) سنة إذ تم تشخيصهم بوساطة أطباء متخصصين بعد التأكد من اصابتهم بمرض الكلى المزمن بالاعتماد على الفحوصات المختبرية ومراجعتهم المستشفى بصورة دورية.

2.3.2- نماذج السيطرة Control Sample

تم جمع (30) عينة دم للأشخاص الاصحاء لكلا الجنسين (15) ذكور و(15) اناث اذ تراوحت أعمارهم من (25-65) سنة.

3.3.2- تحضير مصل الدم Serum Preparation

حضر مصل الدم عن طريق سحب الدم من اوردة المريض قبل عملية الديليزة عن طريق حقنة طبية بمقدار (5ml) ، ثم افرغت في انابيب Gel-Tube ، ثم تركت النماذج لمدة 30 دقيقة لحدوث التخثر ومن ثم تم وضعها في جهاز الطرد المركزي لمدة (15) دقيقة بسرعة (3000 R) دورة/دقيقة، وبعدها تم سحب المصل عن طريق ماصة دقيقة Micropipette ليوضع في انابيب اخرى نوع Clean-Tub وحفظها مجمدة عند درجة $^{\circ}\text{C} (-20)$ لحين اجراء الاختبارات المطلوبة.

4.2- الفحوصات المختبرية

1.4.2- قياس نشاط أنزيم الالانين أمينو بيتايد

Estimation of Alanine Aminopeptidase (AAP) activity

تم قياس نشاط الانزيم بالدم بالاعتماد على طريقة Jung and Scholz (1980) والتي تعتمد على حساب نشاط الانزيم بالدم من خلال قياس كمية 4-nitroaniline المتحررة بتأثير الانزيم على المادة الاساس المستعملة (Alanine-4-nitroanilide hydrochloride) تحت ظروف محددة بالنسبة للوقت, ودرجة الحرارة والأس الهيدروجيني⁽¹³³⁾.

المحاليل المستعملة :

1. المحلول الدارئ (0.05 مول/لتر):

حضر بإذابة (6.057) غرام من مادة Tris-HCl في لتر من الماء المقطر .

2. المحلول الدارئ (Tris- HCl) ذي اس هيدروجيني 7.8 :

حضر بأخذ (50) مل من محلول Tris (0.05 مول/لتر) و يمزج مع حجم معين من محلول (0.2 مول/لتر) حامض الهيدروكلوريك HCl ويضبط pH اذ يكون مساوي لـ (7.8), ثم يكمل الحجم الى (200) مل بالماء المقطر .

3. محلول المادة الاساس الالنين -4- نايتروانلايد (2مل مول/لتر):

حضر بإذابة (0.00049) غرام من المادة الاساس في 1 مل من المحلول الدارئ (Tris-HCl) ذي اس هيدروجيني 7.8 إذ حضرَ أنياً .

طريقة العمل :

يتم قياس نشاط الالنين امينوبيتايدز (AAP) وفق ما يلي :-

1. تم مزج (1.0) مل من المحلول الدارئ (Tris-HCL) بتركيز (50 مل مول/لتر) واس هيدروجيني 7.8 مع (0.2) مل من العينة وتحضن الأنبوبة عند (37)°م, لمدة عشر دقائق ليضاف بعدها (0.1) مل من محلول مادة الاساس (الالنين-4-نايتروانلايد هايدروكلوريد) بتركيز (2 مل مول /لتر) لبدء التفاعل .

2. بعد الانتهاء من الإضافة تمزج الأنبوبة جيدا ويقاس التغير في امتصاصية اللون خلال دقيقتين عند طول موجي (410) نانو متر.

3. تحدد فعالية الانزيم من خلال مقارنة الامتصاصية مع خط البياني القياسي لتراكيز مختلفة من 4 - نايتروانلين.

2.4.2 قياس تركيز هرمون الاديونكتين

Estimation of Adiponectin Hormone Concentration.

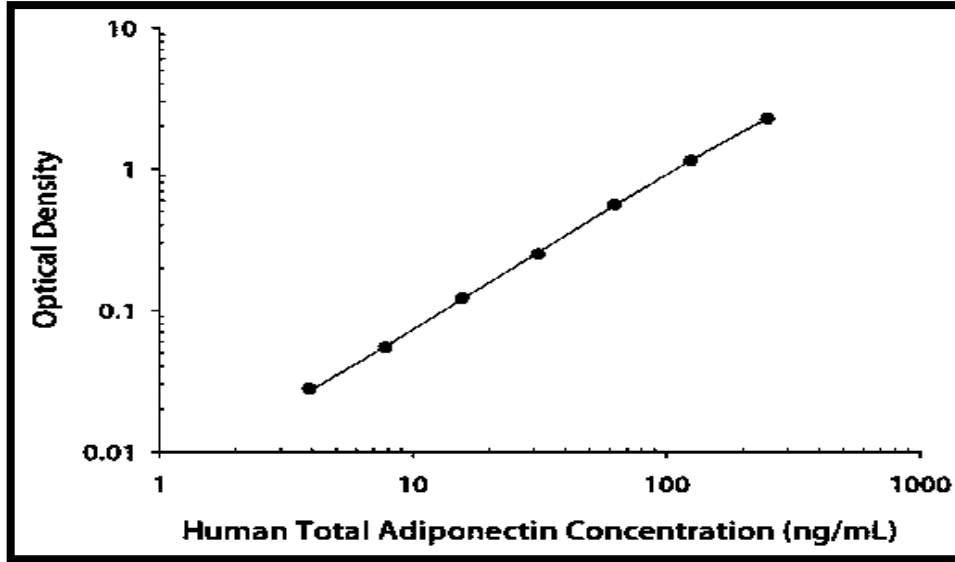
تم تقدير تركيز هرمون الاديونكتين في مصل الدم باتباع الخطوات المرفقة مع عدة الفحص الخاصة وفق تقانة ELASA والمعتمدة على تقنية السندويش المزدوج للأجسام المضادة Duple antibody sandwich technique, إذ تم إضافة العينة التي تحتوي على المستضدات والأجسام المضادة المرتبطة بالبايوتين الى الاجسام المضادة المرتبطة بالطور الصلب لحفر التعبير الصغيرة , وبعد ذلك غسلت الاوعية بمحلول الغسل لازالة الاجسام المضادة غير المرتبطة , ثم أضيف الانزيم المرتبط الذي يحتوي على Tri-Methyl benzeden (TMB) , ليؤدي الى ظهور اللون الازرق وتحوله في النهاية الى اللون الاصفر بعد اضافة محلول اللون (محلول الايقاف). ان كثافة اللون تتناسب مع تركيز هرمون ADP الموجود في العينة, بعدها تقرأ امتصاصية الكثافة الضوئية بطول موجي 450 نانومتر, ثم يحسب تركيز ADP.

اجراء التفاعل:

1. تم غسل الصفيحة المعيارية مرتين قبل إضافة المحلول القياسي والعينات السريرية ومحلل السيطرة (zero).
2. تم أخذ 0.1 مل من 100 نانوغراماً/مل, 50 نانوغراماً/مل, 25 نانوغراماً/مل, 12.5 نانوغراماً/مل, 6.25 نانوغرامات/مل, 3.125 نانوغرامات/مل, 1.56 نانوغراماً/مل, من المحاليل القياسية, وأضيفت الى حفر الصفيحة العيارية.
3. تم إضافة 0.1 مل من العينة/بفر التخفيف القياسي في حفرة السيطرة (zero).
4. تم إضافة 0.1 مل من المصل الى حفر الصفيحة المعيارية
5. تم تغطية الصفيحة وحُضنت بدرجة 37 °C لمدة 90 دقيقة, بعدها أزيل الغطاء من الصفيحة المعيارية وغُسلت مرتين ببفر الغسيل.
6. أُضيف 0.1 مل من الضد المعلم بالبايوتين في حفر (القياسية, والعينات, وحفر السيطرة). ثم تم تغطية الصفيحة وحُضنت بدرجة 37 °C لمدة 90 دقيقة.
7. أزيل الغطاء وغُسلت ثلاث مرات بمحلول الغسل, وتُرك بفر الغسل في الحفر دقيقة واحدة لكل وقت.
8. أُضيف 0.1 مل من محلول Working Solution لكل حفرة, ثم غُطيت الصفيحة, وحُضنت بدرجة 37°C لمدة 30 دقيقة.
9. تم إزالة الغطاء وغُسلت خمس مرات مع محلول الغسل, وتُترك بفر الغسل في الحفرة لمدة (1-2) دقيقة.
- 10- تم إضافة المادة الاساس TMB Substrate لكل حفرة ثم تم تغطية الصفيحة, وحُضنت بدرجة 37°C في مكان مظلم لمدة (15-30) دقيقة.
- 11- اضيف محلول ايقاف التفاعل Stop Solution في كل حفرة, ومزج خلالها. عندها تغير اللون حالاً.
- 12- تُقرأ امتصاصية الكثافة الضوئية O.D عند الطول الموجي 450 نانومتراً في قارئ الصفيحة المعيارية.

الحسابات

تم قراءة نتائج العينات والمحاليل القياسية باستخدام جهاز المطياف الضوئي



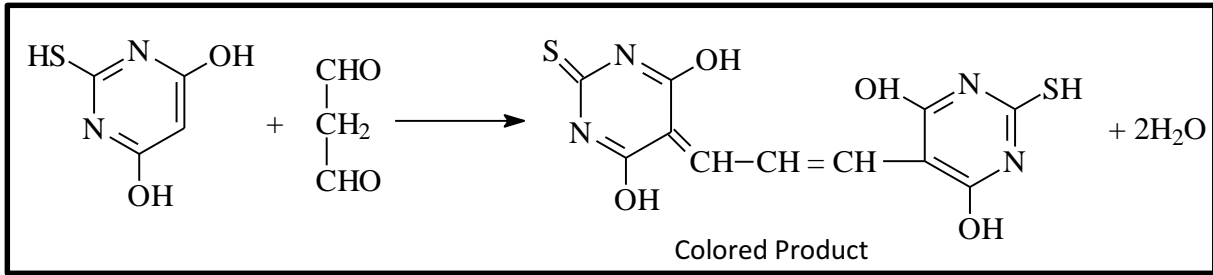
شكل(1-2): المنحني القياسي لتركيز هرمون ADP.

3.4.2-تقدير المألون ثنائي الالديهيد في مصل الدم:

Estimation of serum malondialdehyde MDA

أ-مبدأ الطريقة : Principle

تم تقدير تركيز المألون ثنائي الالديهيد في المصل باستعمال الطريقة المحورة المتبعة من الباحثين Shah و Guidet⁽¹³⁴⁾ عن طريق قياس تركيز MDA، وهو يمثل أحد النواتج الرئيسية الاكسدة الفوقية للدهون. تعتمد الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهون وبنحو رئيس MDA و حامض ثايوباربيوتريك، ويتم هذا التفاعل في وسط حامضي ويكوّن ناتج ملون يتم قياس شدة الامتصاص له عند 532 نانوميتر⁽¹³⁵⁾.



شكل (2-2): تفاعل MDA

ب- المحاليل المستعملة :

1. محلول الثايوباربيتيورك (TBA- solution) : حضر المحلول بإذابة 0.6 غم من مادة الـ TBA في 20 سم³ من 0.05 مولاري محلول هيدروكسيد الصوديوم مع التسخين القليل، ثم أكمل الحجم الى 100 سم³ من المحلول نفسه، وحضر هذا المحلول أنياً عند الاستعمال.
2. محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور: حضر هذا المحلول بتركيزين:
 - أ. 17.5% حضر بإذابة 17.5 غم من مادة Trichloro acetic acid (TCA) في 20 سم³ ماء مقطر، ثم أكمل الحجم الى 100 سم³.
 - ب. 70% حضر بإذابة 70 غم من المادة نفسها في 20 سم³ ماء مقطر، ثم أكمل الحجم الى 100 سم³، وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

ج- طريقة العمل: تم اعتماد الخطوات التالية لتقدير MDA مصل الدم

	Sample	Standard
Serum	0.15cm ³	-
Distal Water	-	0.15cm ³
TCA (17.5%)	1cm ³	1cm ³
TBA	1cm ³	1cm ³
مُزجت الانابيب جيداً، وحُضنت في حمام مائي مغلي لمدة 15 دقيقة ثم تُركت لتبرد قبل اضافة		
TCA (70%)	1cm ³	1cm ³

تركت محتويات الأنابيب عند 37°C لمدة 20 دقيقة ، ثم فصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة، وقُرئت شدة الامتصاص للراشح المتكون عند طول موجي 532 نانوميترًا.

د- الحسابات:

تم تقدير تركيز المألون ثنائي الالديهيد اعتماداً على المعادلة الآتية :

$$\text{Con. Of MDA (mmol/L)} = \frac{\text{Absorbance}}{L \times E} \times D \times 10^6$$

L = 1cm مسار الضوء

E = $1.56 \times 10^5 \text{ m}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ معامل الاخماد

D (Dilution factor) = Volume used in Ref (ml)/0.15

4.4.2 - تقدير تركيز بيروكسي نتريت: Estimation of peroxynitrite cons.

تم تقدير تركيز جذر بيروكسي نتريت باستعمال الطريقة المحورة للباحثين Vanuffelen وجماعته⁽¹³⁶⁾، إذ إن جذر البيروكسي نتريت يعمل على نترجة Nitration الفينول إلى نايتروفينول، الذي يمكن قراءة شدة الامتصاص له عند الطول الموجي 412 نانوميتر، إن كمية النايتروفينول المتكونة والتي تقدر في مصل الدم تعكس مستوى جذر البيروكسي نتريت المتولد في المصل .

ب- المحاليل المستعملة

1. محلول الفوسفات المنظم: تم تحضير محلول الفوسفات بتركيز (50) ملي مول بدالة حامضية مقدارها 7.4 pH= عن طريق التراكيز الآتية: محلول A حضر باذابة 0.71 غم من Na_2HPO_4 في 20مل ماء مقطر، ثم أكمل الحجم الى 50 مل ، ومحلول B حضر باذابة 0.6 غم من NaH_2PO_4 في 20مل ماء مقطر، ثم أكمل الحجم الى 50 مل، ثم مزج المحلولان A و B وتم الحصول على دالة حامضية pH= 7.4.
2. محلول الفينول بتركيز (17) ملي مول: حضر باذابة 0.16 غم من الفينول في 20مل ماء مقطر، ثم أكمل الحجم الى 100 مل .
3. محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1) مولاري: حضر باذابة 0.4 غم من هيدروكسيد الصوديوم في 20مل ماء مقطر، ثم أكمل الحجم الى 100 مل .

4. محلول العمل :_حضر بمزج (15 مايكروليتراً محلول الفينول + 1.852 مل من محلول الفوسفات المنظم (pH=7.4).

ج - طريقة العمل

تم اعتماد الخطوات التالية لتقدير بيروكسي نتريت في مصل الدم :

Solution	Sample	Blank
Serum	0.15ml	-
Distal Water	-	0.15ml
Working solution	2ml	2ml
تمزج وتحضن الانابيب لمدة ساعتين في حمام مائي عند 37 °C		
NaOH	0.015ml	0.015ml

بعد ذلك تم قياس شدة الامتصاص للعينة عند الطول الموجي 412 نانوميترًا بواسطة جهاز المطياف الضوئي

بعد تصفير الجهاز بالبلانك .

د - الحسابات :

تم حساب تركيز جذر البيروكسي نتريت اعتماداً على المعادلة الآتية:

$$\text{Con. of Peroxynitrite} = \frac{A_{\text{test}} - A_{\text{blank}}}{E^{\circ} \times L} \times 10^6$$

$E^{\circ} = 4400 \text{m}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ معامل الاخماد

$L = 1 \text{cm}^{-1}$ مسار الضوء

5.4.2- تقدير تركيز حامض اليوريك . Estimation of Uric acid Concentration.

تم تقدير تركيز حامض اليوريك Uric acid بالطريقة الانزيمية باستخدام المواد المجهزة من شركة

(Biolabo – France)، وتعتمد هذه الطريقة على تحويل حامض اليوريك الموجود في الأنموذج (مصل الدم)

بفعل انزيم Uricase الى حامض اليوريك الحر، ويتفاعل مع محلول العدة التشخيصية ليعطي اللون الوردي، وتم

قياس اللون عند الطول الموجي 520 نانوميتر بواسطة جهاز Spectrophotometer ، وهذا القياس يعتمد على

مبدأ التحليل اللوني Color analysis.

طريقة العمل:

1. تمت اضافة 1 مللتر من المحلول المحضر في العدة التشخيصية الى ثلاث فئات من انابيب الاختبار تسمى Run، وتتكون من انبوب واحد وهو Blank يستخدم لتصفير الجهاز قبل القياس، والانبوب الثاني للمحلول القياسي Standard وعشرة انابيب اخرى للأنموذج Sample⁽¹³⁷⁾.

ويمكن توضيح ذلك في الجدول ادناه مع الخطوات الاخرى:

جدول (2-4) خطوات تقدير حامض اليوريك

	Blank	Standard	Test
Reagent	1ml	1ml	1ml
Standard	-	25 µl	-
Distal Water	25 µl	-	-
Sample	-	-	25 µl

2. بعد خلط الأنموذج والمحلول القياسي مع محلول محضر العدة التشخيصية وضعت الانابيب كلها في جهاز حاضنة في درجة 37 °م لمدة 5 دقائق لاكتمال التفاعل لأنه تفاعل انزيمي مع التحريك المستمر.
3. بعدها تتم عملية تقدير الامتصاصية بواسطة جهاز Spectrophotometer وذلك:
 - أ. تم تصفير الجهاز عن طريق وضع محلول Blank عند طول موجي 520 نانوميتر
 - ب. ثم قيست الامتصاصية Abs للمحلول القياسي.
 - ت. بعدها يتم تقدير الامتصاصية للنماذج أجمعها بالتسلسل، وعند الطول الموجي نفسه.
4. يتم تسجيل جميع القراءات الامتصاصية للعينات، ونستخدم العلاقة الرياضية التالية لاستخراج تركيز كل عينة بواسطة تركيز المحلول القياسي = 10 ملي غرام/ديسي لتر وكالاتي:

$$[\text{Sample}] = \frac{\text{Absorption of assay}}{\text{Absorption of standard}} \times \text{Standard Concentration}$$

6.4.2- تقدير تركيز الكرياتينين: Estimation of Creatinine Conc.

تم تقدير مستوى تركيز الكرياتينين بحسب تفاعل Jaffe في مصل الدم والادرار عن طريق استعمال العدة التشخيصية المجهزة من شركة (Biolabo – France)، اذ يتفاعل الكرياتينين مع بيكرات القاعدية alkaline picrate لتعطي معقداً ذا لون اصفر. ويتم قراءة امتصاصية المعقد الملون عند طول موجي 490-510 نانوميترات⁽¹³⁸⁾.

الكواشف:

1. كاشف 1 (R1): يتكون من 6.4 ملي مول /لتر فوسفات ثنائي الصوديوم، 150 مل مولاً/ لتر هيدروكسيد الصوديوم.
2. كاشف 2 (R2): 0.75 مل مول/لتر Sodium dodecyl sulfate، 4 مل مولات /لتر حامض البريك pH 4.0, picric acid
3. كاشف 3 Standard (R3): 2 مل غرام/ديسيلتير كرياتينين Creatinine.

طريقة العمل:

يوضح الجدول (2-5) خطوات تقدير تركيز الكرياتينين

	Blank	Standard	Test
R1	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Distal Water	100 µl	-	-
R3	-	100 µl	-
Sample	-	-	100 µl
يمزج لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة ثابتة			
R2	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
يمزج ويحضن لمدة 30 ثانية، ويقرأ A1 عند 490-510 نانومتر/دقيقة عند الطول نفسه A2			

الحسابات:

$$\text{Creatinine conc.} = (A1 - A2) \text{ sample} / (A1 - A2) \text{ standard} \times \text{standard conc. (mg/dL)}$$

7.4.2- تقدير تركيز اليوريا: Estimation of Urea Conc.

تم تقدير تركيز اليوريا في مصل الدم عن طريق استعمال العدة التشخيصية المجهزة من شركة CAMTECH MEDICAL بالطريقة الطيفية، اذ ترتبط اليوريا بالماء لتتحول الى الامونيا وغاز ثاني اوكسيد الكربون بوجود انزيم اليوريز (Urease)، وبالتالي تقدر الامونيا الناتجة من التفاعل مع Sialicylate و Hypochlorite ليكون 2,2-Dicarboxy Indophenol أخضر اللون والتي عن طريقها يتحسس بتركيز اليوريا. ويتم قراءة المعقد الملون عند طول موجي 580 نانومتر⁽¹³⁹⁾.

الكواشف: Reagents

1. كاشف 1 (R1): يتكون من 50 مل مول/لتر الفوسفات المنظم pH 6.7، 2 مل مول/لتر Ethlenediamin، 60 مل مول/لتر tetra acetic acid، 2.3 مل مول/لتر Sodium Salicylate، 2.3 مل مول/لتر Sodium Nitroprosiate.
2. كاشف 2 (R2): 140 مل مول/لتر هايبيوكلورات الصوديوم Sodium Hypochlorite، 150 مل مول/لتر هيدروكسيد الصوديوم Sodium Hydroxide.
3. كاشف 3 (R3): 30000 U/L اليوريز Urease.
4. المحلول القياسي Standard: 50 ملغم /ديسي لتر يوريا Urea

طريقة العمل:

يوضح الجدول (2-3) خطوات تقدير تركيز اليوريا:

	Blank	Standard	Sample
R1+R2	1 ml	1 ml	1 ml
Standard	-	10 µl	-
Sample	-	-	10 µl
يمزج عند درجة 37 °C لمدة 5 دقائق او 10 عند درجة حرارة °C (15-25)			
R2	1 ml	1 ml	1 ml
يمزج ويحضن عند درجة 37 °C لمدة 5 دقائق و 10 دقائق عند درجة حرارة °C (15-25) ثم يقاس 580 نانومتر			

الحسابات:

$$\text{Urea (mg/dL)} = (\text{Abs. sample/ Abs. standard}) \times \text{standard conc. (mg/dL)}$$

Calculation of Body Mass Index**8.4.2-حساب مؤشر كتلة الجسم:**

يتم حساب مؤشر كتلة الجسم (BMI) بتقسيم كتلة الجسم بالكيلوغرام على مربع الطول بالمتر

$$\text{BMI} = \text{Weight (kg)} / \text{Height (m}^2\text{)} \quad \text{وفقاً للمعادلة الآتية:}$$

تم تصنيف مؤشر كتلة الجسم (140) الى الآتي:

1. BMI اقل من 18.5 (تحت الوزن)

2. BMI اقل من 18.6-24.9 (الوزن الطبيعي)

3. BMI بين 25-29.9 (فوق الوزن)

4. BMI من 30-34.9 (بدین)

5. BMI من 35-39.9 (بدین جداً)

6. BMI اكثر من 40 (سمنة مفرطة)

5.2-التحليل الإحصائي Statistical Analysis

حُللت النتائج احصائياً وفق اختبار تحليل التباين (ANOVA) باستخدام البرنامج الاحصائي

SPSS (الإصدار 16) ، وقورنت المتوسطات الحسابية للمجموعات باستعمال اختبار Duncun Multiple

Range لبيان الاختلاف بين مجموعتين عند مستوى احتمالية ($p < 0.05$) ، وتم إيجاد معامل الارتباط

(Correlation Coefficient) وإيجاد العلاقة بين فعالية انزيم الالنين امينوببتيديز والمتغيرات الحياتية المقاسة.

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

RESULTS AND DISCUSSION

3. النتائج والمناقشة *Results and Discussion*

شملت هذه الدراسة على (70) حالة مرضية لأشخاص مصابين بالعجز الكلوي المزمن, (50) عينة من الذكور و (20) عينة من النساء، تراوحت اعمارهم بين (30-70) سنة. كما شملت الدراسة (30) عينة من الأشخاص الطبيعيين بوصفهم مجموعة مقارنة (15) ذكور و (15) إناث تراوحت أعمارهم بين (25-65) سنة.

1.3- قياس فعالية انزيم الالانين أمينو ببتيديز في مصل الدم

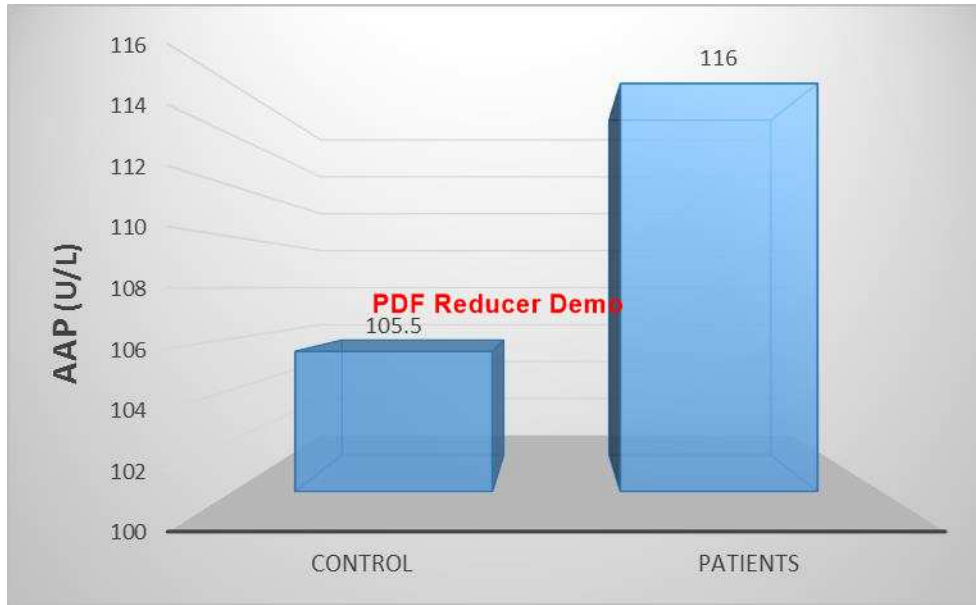
Estimation of Alanine aminopeptidase activity in Blood Serum

تم قياس ومقارنة فعالية انزيم الالانين أمينو ببتيديز (AAP) في امصال الدم للمرضى المصابين بالفشل الكلوي المزمن (CRF) والذين خضعوا للغسيل الكلوي، إذ تم اخذ العينات قبل وبعد الغسيل الكلوي Hemodialysis (HD) والاصحاء باستخدام طريقة Jung and Scholz (1980) والمذكورة في الفقرة (1.4.2).

يبين الجدول (1-3) و (2-3) معدل فعالية أنزيم الالانين أمينو ببتيديز (AAP) في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن والاصحاء, وعند اجراء المقارنة إحصائيا تبين وجود فروق معنوية بين فعالية الانزيم (AAP) عند المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة بمستوى احتمالية ($P < 0.001$), إذ تزداد فعالية الانزيم بصورة عامة عند المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن والموضحة في الشكل (1-3) و (2-3).

جدول (1-3): المتوسط \pm الخطأ المعياري لفعالية انزيم AAP في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن والاصحاء:

Groups Parameter	Patients n= 70 (Mean \pm S.E)	Control n= 30 (Mean \pm S.E)	P-Value
AAP U/L	116.0 \pm 3.0	105.5 \pm 3.4	P< 0.001



شكل (1.3): فعالية انزيم AAP في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن مقارنة بالأصحاء.

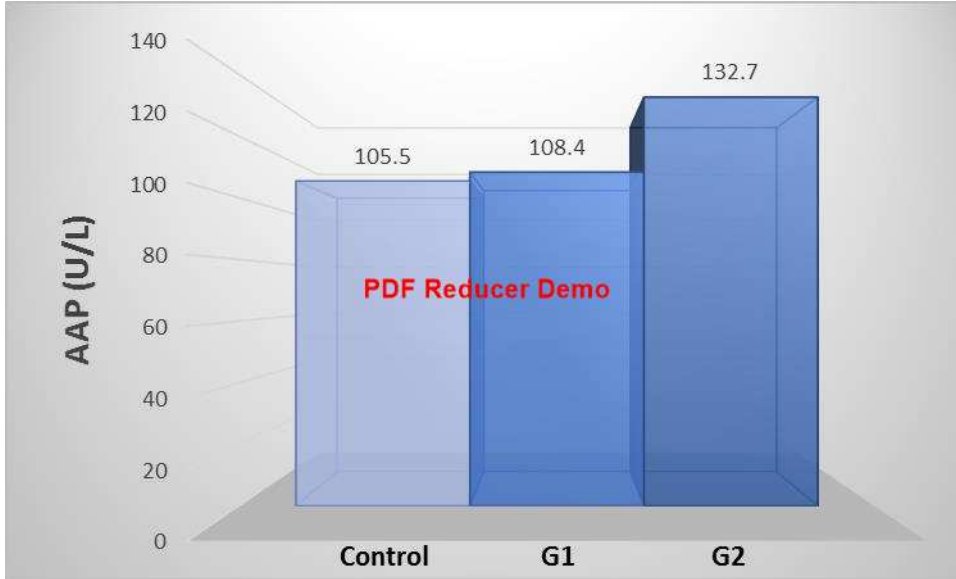
جدول (2-3): المتوسط \pm الخطأ المعياري لفعالية انزيم AAP في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (قبل وبعد الغسيل الكلوي).

Groups Parameter	G1 n=35 (Mean \pm S.E)	G2 n=35 (Mean \pm S.E)	C n=30 (Mean \pm S.E)	Total n=70 (Mean \pm S.E)	P-Value			
					G1vs.G2	G1vs.C	G2vs.C	Total
AAP U/L	108.4 \pm 4.7	132.7 \pm 5.4	105.5 \pm 3.4	116.0 \pm 3.0	$P^{**}<0.001$	$P>0.05$	$P^{**}<0.001$	$P^{**}<0.001$

$P> 0.05$ (N.S= NO. Significant), $P^{*}< 0.05$ (Significant), $P^{**}< 0.001$ (highly Significant)

يلاحظ من الجدول (2-3) ارتفاعاً في نشاط انزيم (AAP) في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن قبل الغسيل G1 وبعد الغسيل الكلوي G2 مقارنة مع الاصحاء C، وكما موضح في الشكل (2-3). وعند مقارنة قيم نشاط انزيم (AAP) في امصال المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (قبل وبعد الغسيل الكلوي) ظهر فرق معنوي في فعالية الانزيم في حين لم يظهر فرق معنوي عند مقارنة قيم نشاط الانزيم في امصال

المرضى قبل الغسيل مع الاصحاء، الا انه ظهر فرق معنوي في فعالية الانزيم بعد الغسيل الكلوي في امصال الدم للمرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة.



شكل (2.3): فعالية انزيم AAP في امصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (قبل وبعد الغسيل الكلوي) مقارنة بالأصحاء.

لوحظ في دراسات سابقة ان نشاط الانزيم المحدد في مصل الدم يكون ذا فعالية قليلة، الا ان فعالية الانزيم تزداد في أثناء عملية الغسيل الكلوي، وان هذه الزيادة في نشاط الانزيم هي على الأرجح بسبب إعادة توزيع السوائل. اذ تنتقل الانزيمات من الانسجة الخلالية عبر اللمف الى الاوعية الدموية حيث يتم تراكمها هناك⁽¹⁴¹⁾. على ما يبدو ان علم الانزيمات في بلازما الدم يقدم القليل من المعلومات عن التشخيص والتفريق بين أمراض الكلى باستثناء الاحتشاء الكلوي⁽¹⁴²⁻¹⁴³⁾. اشارت بعض الملاحظات من الباحثين والتي تستحق ان تذكر انه يوجد تغير في نشاط الانزيم المقاس في مصل الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن CRF والذين يعالجون بالغسيل الكلوي.

كما أشار إلى ذلك الباحث Ringoire (1968) بأن متناظر انزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز [M4]-5-LDH يزداد نشاطه في مصل الدم مباشرة بعد عملية الغسيل الكلوي⁽¹⁴⁴⁾. تم توزيع نطاق الانزيمات التي يتغير نشاطها في أثناء عملية الغسيل الكلوي لتشمل 14 أنزيماً، هي :

ALAT, ALD, AspAT, CPK, GGTP, GLDH, β .GLU, G-6-PDH, LAP, LDH, MDH, NAG, PGDH and SDH⁽¹⁴⁵⁾.

ويعود السبب في زيادة نشاط الانزيمات الى الانخفاض الحاد في حجم البلازما، فضلا عن ان خلايا الدم تتعرض لضغوط ميكانيكية كبيرة في اثناء غسيل الكلى، كما ان الكلى المريضة تستبعد ان تكون كمصدر لهذه الانزيمات. وذلك لان أنماط نشاط كل أنزيم كانت تتعارض مع نمط نشاطه في البلازما. كما توجد أدلة أخرى ومباشرة ضد ان تكون الكلى المريضة مصدراً للأنزيم، اذ ان التغيرات في نشاط الانزيم في البلازما بعد غسيل الكلى كانت هي نفسها قبل وبعد استئصال الكلية الثانية.

إن الزيادة في فعالية الانزيمات بعد الغسيل الكلوي يمكن ان تفسر من الناحية النظرية هي بسبب إزالة المثبطات التي تحد من نشاط الانزيم. وقد إثبت ذلك بعض الباحثين في ان عملية الغسيل الكلوي التي تجرى للمرضى والأشخاص الاصحاء لم يكن وسط الغسيل الكلوي له تأثير كبير في نشاط الانزيمات⁽¹⁴⁶⁾.

وعلى الرغم من ان حجم البلازما يبقى ثابتاً في معظم حالات الغسيل الكلوي. ولا يوجد أي دليل في الوقت الحاضر يؤكد وجود تثبيط مؤقت للقضاء على الانزيمات في أثناء غسيل الكلى. ولاحظ الباحث Wong⁽¹⁴¹⁾ وجماعته في تجربة اجراها على 29 مريضاً في المراحل النهائية من العجز الكلوي (قبل وبعد الغسيل) ان هناك تغيراً معنوياً ملحوظاً بزيادة نشاط انزيم Amylase (10%) LDH (20%) alkaline phosphatase (ALK) (7%). وهذا يتطابق مع نتائج هذه الدراسة من حيث زيادة نشاط انزيم AAP في امصال المرضى المصابين بـ CRF قبل وبعد الغسيل الكلوي مقارنة بمجموعة السيطرة.

2.3 - تركيز هرمون الاديونكتين (ADP)

The concentration of adiponectin hormone

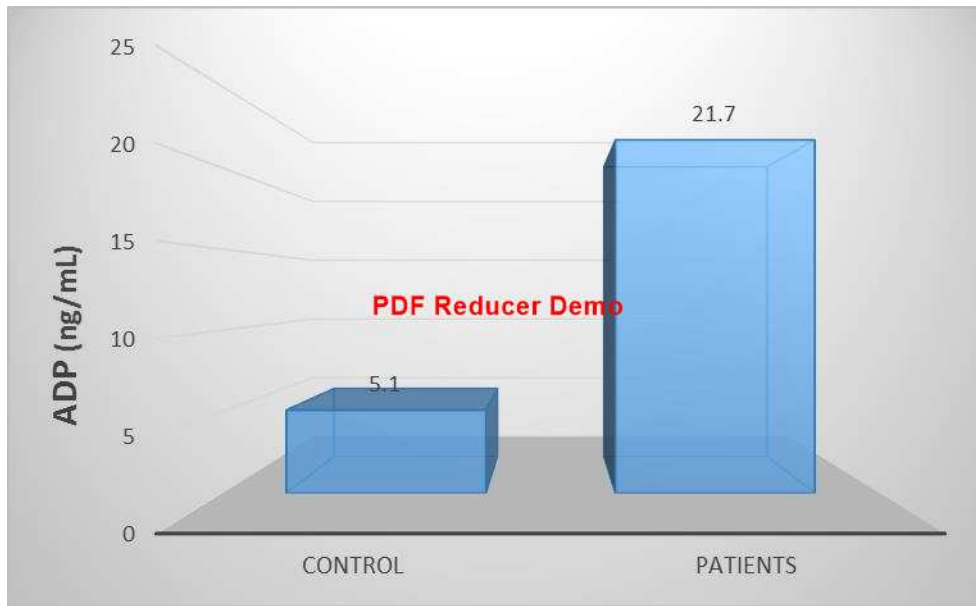
يعد هرمون الاديونكتين من الهرمونات المشتقة من الانسجة الدهنية ويؤدي دوراً مهماً في أيض الدهون والاتزان البدني للكلوكوز⁽¹⁴⁷⁾ لذا تم قياس مستوى الهرمون في امصال المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن والاصحاء بتقانة ELISA كما موضح في الفقرة (2.4.2).

يشير الجدول (3-3) الى تركيز هرمون الاديونكتين عند الاصحاء والمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن، يتضح من الجدول حدوث ارتفاع معنوي في معدل تركيز هرمون ADP في امصال الدم للمرضى المصابين CRF مقارنة مع الاصحاء وعند مستوى احتمالية $P < 0.001$ كما موضح في الشكل (3-3).

جدول (3-3): المتوسط \pm الخطأ المعياري لتركيز هرمون ADP في امصال المرضى

المصابين بـ CRF والاصحاء:

Groups	Patients n= 70 (Mean ± S.E)	Control n= 30 (Mean ± S.E)	P-Value
Parameter			
ADP ng/mL	21.7±1.0	5.1±1.0	P<0.001



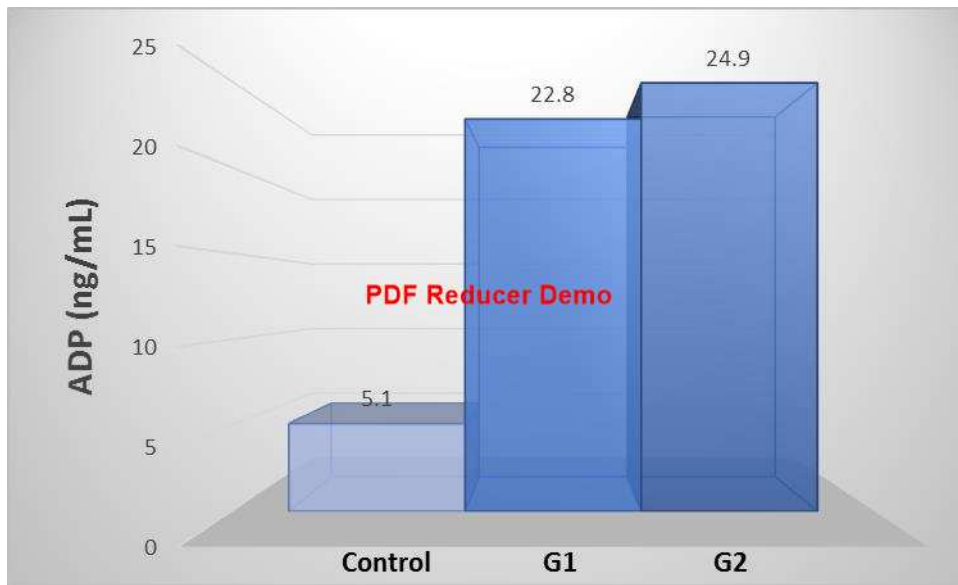
الشكل (3.3): تركيز هرمون ADP في امصال المرضى المصابين بـ CRF مقارنة بالاصحاء.

يتضح من الجدول (3-4) ان تركيز هرمون ADP يزداد في امصال دم مرض CRF، اذ بلغت قيمته في امصال دم المجموعة G1 (22.8 ± 1.2) نانوغراماً/ملي لتر، وقد ارتفعت قيمته في المجموعة G2 لتبلغ (24.9 ± 1.1) نانوغراماً/ملي لتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغت (5.1 ± 1.0) نانوغرامات/ملي لتر، كما موضح في الشكل (3-4).

جدول (3-4): المتوسط \pm الخطأ المعياري لتركيز هرمون ADP في امصال المرضى المصابين بـ CRF (قبل وبعد الغسيل الكلوي):

Groups Parameter	G1 n=35 (Mean±S.E)	G2 n=35 (Mean±S.E)	C n=30 (Mean±S.E)	Total n=70 (Mean±S.E)	P-Value			
					G1vs.G2	G1vs.C	G2vs.C	Total
ADP ng/mL	22.8±1.2	24.9±1.1	5.1±1.0	21.7±1.0	P>0.05	P<0.001	P<0.001	P<0.001

P>0.05 (N.S= NO. Significant), P* $<$ 0.05 (Significant), P** $<$ 0.001 (highly Significant)



الشكل (4.3): تركيز هرمون ADP في امصال المرضى المصابين بـ CRF (قبل وبعد الغسيل الكلوي) مقارنة بالأصحاء.

وجد بأن نتائج الدراسة الحالية تتطابق مع ما توصل اليه الباحث Anastasia وآخرون (2016) في ان مستويات هرمون الاديونكتين كانت مرتفعة في مرضى العجز الكلوي المزمن ولاسيما في المراحل النهائية من المرض (148).

يوجد هرمون الاديونكتين عادة في مصل دم جسم الانسان بتركيز عالية نسبياً، تتراوح بين (2-20) مايكروغرام /مل، مما يمثل نسبة 0.01% من مجموع بروتين البلازما (149).

يتم افراز هرمون الاديونكتين عن طريق الترشيح الكبيبي للكلية (150)، فقد وجدت دراسات سريرية سابقة تتفق مع دراستنا اكدت العلاقة العكسية بين هرمون الاديونكتين ووظائف الكلى في كل من افريقيا، والقوقاز، وآسيا (151,152). اذ وجد ان الزيادة التدريجية في تراكيز هرمون الاديونكتين لبلازما الدم تكون متوازية مع تطور

مرض العجز الكلوي المزمن, ان المستويات العالية للهرمون وجدت في المراحل الأخيرة من المرض (154,153). فقد لوحظ بأن مستويات تراكيز هرمون الاديونكتين في مرضى الغسيل الكلوي تكون بمقدار ثلاث مرات اكثر من الأشخاص الاصحاء (156,155).

يبقى السبب الكامن وراء ارتفاع مستويات هرمون الاديونكتين في الامراض الكلوية غير واضح. وقد افترض بأن مستويات هرمون الاديونكتين في المراحل المتأخرة من العجز الكلوي او الامراض الكلوية هي انعكاس لانخفاض التصفية الكلوية (157). كما اكدت دراسة أخرى اتفقت مع نتائج دراستنا وجود علاقة عكسية بين مستويات هرمون الاديونكتين ومعدل الترشيح الكبيبي لدى المرضى الذين يعانون من العجز الكلوي المزمن (158). وهناك أيضاً علاقة سلبية بين مستويات الاديونكتين مع وظيفة الكلى لدى مرضى الغسيل البريتوني (155)، والأكثر من ذلك وجد بأن مستويات هرمون الاديونكتين تنخفض بعد الزرع الكلوي بنحو واضح جداً، وهذا يدل على ان الكلى تؤدي دوراً مهماً في التحلل البايولوجي او إزالة هذا البروتين (159). مع ذلك وجد الباحث Malyszko (160) وجماعته (2010) بأن مستويات هرمون الاديونكتين كانت موجودة بنحو كاف وأكثر ملائمة لمرضى الغسيل الكلوي، وهذا يرتبط مع انخفاض معدل الوفيات.

وبموجب ما توصل اليه الباحث Cantarin (161) وجماعته (2013), ان الزيادة الحاصلة بمستويات هرمون الاديونكتين التي تم ملاحظتها في المراحل النهائية للعجز الكلوي المزمن قد كانت مصحوبة بزيادة في بروتين الاديونكتن والتعبير الجيني لـ mRNA في الانسجة الدهنية تحت الجلد والانسجة الحشوية البشرية, فقد اقترح الباحثون أنفو الذكر بأن ذلك يعمل على تحفيز انتاج الكثير من البروتين الاديونكتين بالرغم من ارتفاع مستوياته في بلازما الدم.

كما توجد دراسات اخرى تدعم نتائج الدراسة هذه اذ وجدت الباحثة Maria (162) وآخرون (2014) بأن مستويات هرمون الاديونكتين في مصل دم المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن تكون مرتفعة بحدود (2-3) مرات اكثر من الاشخاص الطبيعيين. بالرغم من ان هرمون الاديونكتين يعمل مضاداً للسكري, والالتهابات, وتصلب الشرايين بالنسبة إلى مرضى العجز الكلوي المزمن المصابين بمقاومة الانسولين والالتهابات فضلاً عن تصلب الشرايين.

وبالتالي على الرغم من زيادة انتاج هرمون الاديونكتين بمستويات عالية من الانسجة الدهنية في نهاية مرحلة العجز الكلوي المزمن, فإنه يبقى من غير الواضح فيما اذا كانت آثاره تبقى سليمة على عمليات الايض (156) ولهذا فإن مستوى هرمون الاديونكتين في مصل الدم تعتمد على وظائف الكلى وبالتالي تحصل زيادة ملحوظة بمستويات الهرمون بين المرضى الذين يعانون من ضعف في وظيفة الكلى (162).

كما اشارت دراسة اخرى تتفق مع نتائج هذه الدراسة بأن متوسط مستويات هرمون الاديونكتين لدى مجاميع المرضى قبل الغسيل الكلوي كانت منخفضة بنحو ملحوظ عن مجموعة ما بعد الغسيل الكلوي البريتوني. ان مستويات هرمون الاديونكتين ترتفع في كل مرضى العجز الكلوي المزمن عموماً (163)، فضلاً عن دراسة

اخيرة اكدت ان الضرر والنقص الحاصل في الوظيفة الكلوية من الممكن ان يؤدي دوراً مهماً في زيادة مستويات هرمون الاديونكتين في الادرار والمصل (164).

3.3- مستويات الاجهاد التأكسدي في أمصال الدم للمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (CRF):

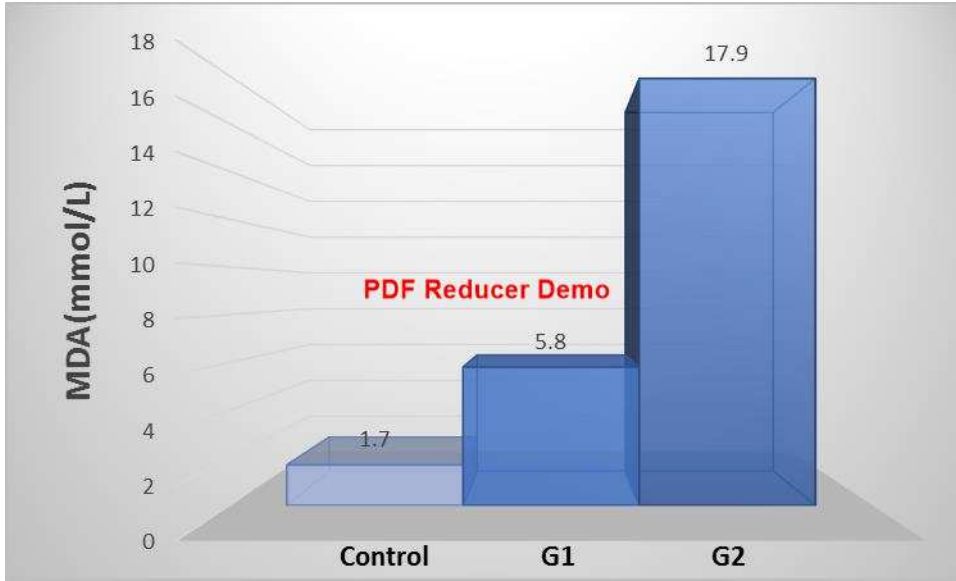
1.3.3- مستوى MDA مصل الدم: *Level of MDA in Serum*

تم قياس مستويات MDA في مصل الدم بموجب الطريقة الطيفية في أمصال دم مرضى CRF ومقارنتها بمجموعة السيطرة وبحسب الفقرة (3.4.2) يظهر الجدول (3-5) ان المتوسط \pm الخطأ المعياري لـ MDA كان (5.8 ± 0.3) ملي مولات /لتر في امصال دم المجموعتين G1 و G2 في حين كان المتوسط \pm الخطأ المعياري لـ MDA (1.7 ± 0.1) ملي مول/لتر في أمصال دم مجموعة السيطرة. أظهرت النتائج ان متوسط مستوى MDA ارتفع معنوياً ($P < 0.001$) في أمصال دم المجموعتين G1, G2 مقارنة بالإحصاء كما في الشكل (3-5).

جدول (3-5) : المتوسط \pm الخطأ المعياري لمستوى MDA في أمصال المصابين بـ CRF والاصحاء:

Groups Parameter	G1 n=35 Mean±S.E	G2 n=35 Mean±S.E	C n=30 Mean±S.E	Total n=70 Mean±S.E	P-Value			
					G1vs.G2	G1vs.C	G2vs.C	Total
MDA mmol/L	5.8±0.3	17.9±1.4	1.7±0.1	8.8±0.8	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

P>0.05 (N.S= NO. Significant), P* < 0.05 (Significant), P** < 0.001 (highly Significant)



شكل (3-5): مقارنة مستوى MDA ملي مول/لتر في أمصال دم مرضى CRF قبل وبعد الغسيل الكلوي مقارنة بالأصحاء.

تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما توصل اليه Ibrahim وجماعته (2010)، إذ وجدوا ارتفاعاً في مستويات الاجهاد التأكسدي MDA واستنزاف مضادات الاكسدة خلال عملية الغسيل الكلوي (165).

وبما ان الاجهاد التأكسدي كما تم تعريفه سابقاً بأنه حالة عدم التوازن ما بين مضادات الاكسدة الدفاعية ونواتج الاكسدة، إذ إن الأخيرة تسحق السابقة (أي مضادات الاكسدة). فالاجهاد التأكسدي ظهوره شائع جداً في CRF، إذ يظهر في المراحل المبكرة من مرض العجز الكلوي المزمن، ثم يزداد الاجهاد التأكسدي تدريجياً. مع تطور المرض ويزيد تفاقمه.

ان مرض CRF يصاحب أكسدة جزيئات البروتينات، والكربوهيدرات والدهون مؤدياً بذلك الى الاكسدة الفوقية للدهون وتراكم المنتجات النهائية لـ glycation التي تسبب ضرراً شديداً. للأنسجة. كما ان الاجهاد التأكسدي يرتبط مع فقر الدم الكلوي، وسوء التغذية، وداء النشواني وأمراض القلب، وهو بذلك يعد مؤشراً مستقلاً للوفاة والمرضى في هذه المجموعة من الامراض (166,167).

كما توجد مجموعة متزايدة من الأدلة توصل اليها الباحثين والتي تتفق مع نتائج دراستنا إذ تبين ان مرضى CRF يمكن تشخيصهم عن طريق تعزيز الاكسدة (الاجهاد التأكسدي) (168-169). إذ يزداد الاجهاد التأكسدي في المراحل الأخيرة من أمراض الكلى المزمنة ويكون أكثر حدة في المرحلة الأخيرة من CRF (170).

وقد تبين ان الاجهاد التأكسدي يسبب تغيرات جذرية في الكلى السليمة، على غرار ما يحصل في مرض CRF. كما ان الجزيئات المؤكسدة تسهم في التلف التدريجي للكلى عن طريق تعزيز نقص تروية الكلى، عن طريق تحريض إصابة الكبيبية، وموت الخلايا، وموت الخلايا المبرمج، وأخيراً تحفيز الالتهابات الشديدة. علاوة على ذلك

يعد الاجهاد التأكسدي هو العامل الرئيس في العديد من الحالات التي جعلت المريض عرضة للإصابة بالعجز الكلوي المزمن مثل السكري، وارتفاع ضغط الدم، وتصلب الشرايين التي تعزز بنحو غير مباشر تطور الاضرار الكلوية. كما لاحظ الباحث Modlinger وجماعته (2004) (172,171) بأن جزيئات الاوكسجين الفعالة تتراكم عند الإصابة بالعجز الكلوي، أي بمعنى اخر اختزال نظام مضادات الاكسدة. على وجه التحديد ان تراكم الجزيئات المؤكسدة ولاسيما جزيئة الاوكسجين (O_2) التي تؤدي الى تعطيل أوكسيد النترريك (NO) ونقصه، وهو يعد من احد مضادات الاكسدة التي تحمي وظائف الكلى عن طريق زيادة تدفق الدم الكلوي، إذ ينظم وظيفة الكبيبات الكلوية، ويعزز من فرط افراز الصوديوم بالبول والحفاظ على توازن السوائل والالكتروليتات. ان نقص NO والمستويات العالية من O_2 تعد من العوامل المطورة للاجهاد التأكسدي (173).

كما ان بعض الدراسات التي اجريت داخل جسم الكائن الحي (*in vivo*) سلطت الضوء على نقص NO في مرض العجز الكلوي المزمن. ان ارتفاع ضغط الدم في النماذج الحيوانية ادى الى ارتفاع مستويات O_2 في البطانة الداخلية للكلى فضلاً عن الكلى نفسها.

ان الحيوانات التي تعاني من نقص في NO لديها احتباس الاملاح، وارتفاع ضغط الدم، وارتفاع نسبة الالبومين في البول albuminuria وأخيراً حصول التصلب الكبيبي glomerulosclerosis. وان تعاطي المادة الأولية لـ NO وهي الحامض الاميني Arginine في الفئران التي تم استئصال كليتها أدى الى زيادة معدل الترشيح الكبيبي وتحسن وظائف الكلى (174-175).

واستنتجت العديد من الدراسات ان نقص أوكسيد النترريك نتيجة تثبيطه بوساطة جزيئة O_2 او نقصان انتاج NO الذي اسهم في تطور مرض العجز الكلوي المزمن (171). فضلاً عن ذلك فإن علامات الاجهاد التأكسدي ترتبط عكسياً مع معدل الترشيح الكبيبي، ويزداد الاجهاد التأكسدي تدريجياً مع تطور تدهور وظيفة الكلى (176).

هناك مجموعة متزايدة من الأدلة تتفق مع هذه نتائج الدراسة تشير الى ان عملية الغسيل الكلوي هي السبب في حالة الاجهاد التأكسدي المفرط عند مرضى العجز الكلوي المزمن التي تحصل نتيجة فقدان مضادات الاكسدة في أثناء عملية غسيل الكلى وتراكم نواتج الاجهاد التأكسدي. كما اقترح الباحث Chen واخرون بأن عملية الغسيل الكلوي تسمح بتكوين جزيئة O_2 ، التي تعد مصدر قوة لجزيئة الاوكسجين الفعالة (177)، كما لاحظت دراسة أخرى زيادة في اعداد جزيئة الاوكسجين الفعالة في مستويات بلازما الدم مباشرة بعد جلسة الغسيل الكلوي (178)، لان في غضون عملية الغسيل الكلوي يتعرض الدم لاغشية الغسل وهذه تعد بمنزلة الحرارة التي تنشط او تعمل على تفعيل بعض العوامل التكميلية مثل الصفائح الدموية، وخلايا الدم البيض متعددة النوى في غضون دقائق بعد البدء بجلسات الغسيل الكلوي (179-180).

كما اكد الباحث Maher واخرون (1987) انه في غضون 30 دقيقة من بدء جلسة الغسيل الكلوي، سوف تزداد نواتج الاكسدة الفوقية للدهون فضلاً عن تنشيط العوامل التكميلية او انتاج الاحماض الدهنية الحرة المستحثة بواسطة الهيبارين وربما ميكانيكية فسيولوجيا المرضى تخضع لهذه التأثيرات (181). وقد لوحظ بأن مرضى العجز

الكلوي المزمن في مراحله الأخيرة تزداد مستويات الاكسدة الفوقية للدهون MDA واختزال تراكيز مضادات الاكسدة في بلازما الدم مثل (فيتامين C, الكلوتاثايون بيروكسيداز GSH-Px والسيلينيوم) مشيراً بذلك الى ان الاجهاد التأكسدي يصبح اكثر تفاقماً عن طريق جلسات الغسيل الكلوي (180). فضلاً عن ذلك فقد لاحظ الباحث Nguyen (2001) ان العلاج بالغسيل الكلوي يعد عاملاً مستقلاً بحد ذاته لحدوث الاجهاد التأكسدي (182). قد تكون هذه الملاحظة بديهية, نظراً لطول جلسة الغسيل الكلوي (173).

يتميز مرضى الغسيل الكلوي بزيادة الالتهابات والاكسدة الفوقية للدهون (183). وقد وجد ان جزيئات الاوكسجين الفعالة تزداد بمقدار 14 مرة بعد عملية الغسيل الكلوي اكثر مما كانت قبل البدء بجلسة الغسيل (184). كما اكدت دراستان سابقتان أن مستويات جزيئات الاوكسجين الفعالة تزداد بنحو ملحوظ في البلازما في مرضى الغسيل الكلوي مقارنة بالاصحاء (185).

لتفسير هذه النتائج, اقترح الباحث Granata وجماعته (2009) (186) بأن الاعتلال الحاصل في مايتوكوندريا الجهاز التنفسي الذي يكون عادة بارز في مرضى CRF واكثر ضعفاً في مرضى الغسيل الكلوي, وربما يكون هو السبب في تحرر وانحلال جزيئات الاوكسجين الفعالة.

2.3.3- مستوى البيروكسي نايترت في مصل الدم:

Level of peroxynitrite in serum

تم قياس مستوى Peroxynitrite في امصال الدم بموجب الطريقة الطيفية في امصال دم مرضى CRF, ومقارنتها بمجموعة السيطرة وبحسب الفقرة (4.4.2).

يظهر الجدول (6.3) ان المتوسط \pm الخطأ المعياري لـ peroxynitrite كان (30.0 ± 2.0) مايكرومول/لتر, (11.3 ± 1.0) مايكرومول/لتر في امصال دم المجموعتين G1, G2 في حين كان المتوسط \pm الخطأ المعياري لـ Peroxynitrite (44.1 ± 1.8) مايكرومول/لتر في امصال دم مجموعة السيطرة.

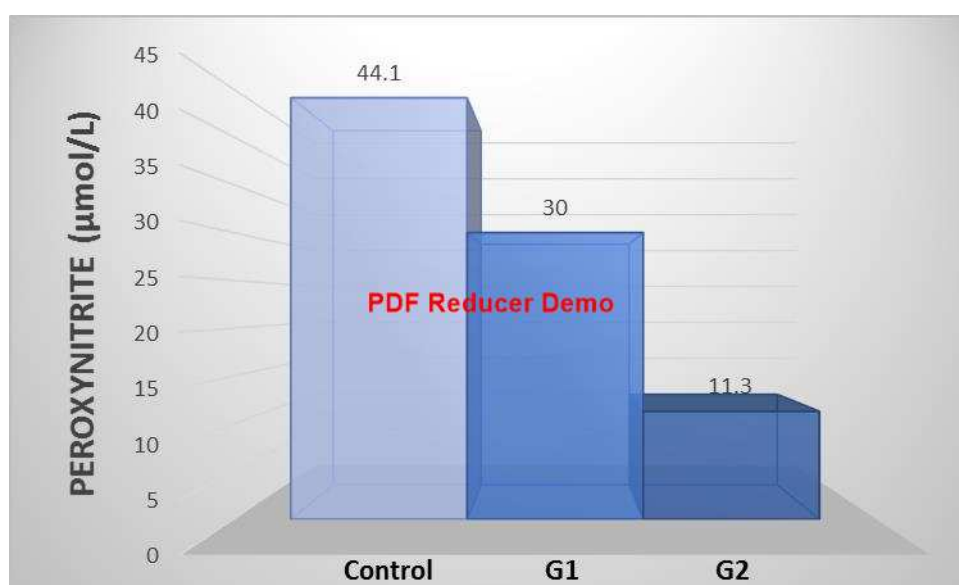
وأظهرت النتائج ان متوسط مستوى peroxynitrite انخفض معنوياً ($P < 0.001$) في امصال دم المجموعتين G1, G2 مقارنة بالاحصاء كما موضح في الشكل (6-3).

جدول (6-3): المتوسط \pm الخطأ المعياري لمستوى peroxynitrite في امصال المصابين بـ CRF والاصحاء:

Groups	G1 n=35	G2 n=35	C n=30	Total n=70	P-Value
--------	------------	------------	-----------	---------------	---------

parameter	(Mean±S.E)	(Mean±S.E)	(Mean±S.E)	(Mean±S.E)	G1vs.G2	G1vs.C	G2vs.C	Total
Peroxynitrite μmol/L	30.0±2.0	11.3±1.0	44.1±1.8	27.7±1.6	P**<0.001	P**<0.001	P**<0.001	P**<0.001

P>0.05 (N.S= NO. Significant), P* <0.05 (Significant), P** <0.001 (highly Significant)



شكل (3-6): مقارنة مستوى peroxynitrite مايكرومول/لتر في امصال دم مرضى CRF قبل وبعد الغسيل الكلوي مقارنة بالاصحاء.

وتوجد جزيئات أخرى تسهم في عملية الاجهاد التأكسدي الا وهي جزيئات النتروجين الفعالة (RNS) Reactive nitrogen species , كما هو واضح من حقيقة ضعف مسار تصنيع أوكسيد النترريك الذي يؤدي دوراً رئيساً في التوسط بحصول الاضرار الكلوية، وهذا يتفق مع ما توصلنا اليه⁽¹⁸⁷⁾. على ما يبدو هنا بأن النظام الدفاعي لمضادات الاكسدة وكما ذكر سابقاً يبدأ بالتضاؤل عند مرضى الغسيل الكلوي. وهذا يعود الى ان بعض انزيمات مضادات الاكسدة مثل:

Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT) و Glutathione peroxidase (GSH) او العناصر الدفاعية لمضادات الاكسدة خارج الخلية مثل الشكل المختزل لكلوتاثيون (GSH)⁽¹⁸⁸⁾.

فضلاً عن الفيتامينات الذائبة بالدهون كفيتامين E والذائبة بالماء كفيتامين C تتغير في اليوريميا. على سبيل المثال فان مستويات فيتامين E في كريات الدم الحمر, والخلايا احادية النوى تكون منخفضة بالرغم من المستويات الطبيعية للبلازما, فضلاً عن الاستنزاف الكبير لفيتامين C الذي يمكن ملاحظته (189).

كما وجد بأن مستويات نايترت Nitrite كانت مرتفعة في مرضى الغسيل الكلوي مقارنة بالاصحاء وهذا لا يتطابق مع نتائج دراستنا الحالية, مما يعد مؤشراً لانتاج RNS العالي في الأشخاص المصابين باليوريميا. يتفاعل NO بنحو فعال مع السوبر اوكسايد O_2^- وجزيئات الاوكسجين الفعالة الأخرى لإنتاج البيروكسي نايترت, و RNS العالية السمية. يعمل البيروكسي نايترت على حث الاكسدة الضارة لـ DNA, والدهون, والبروتينات في خلايا الاوعية الدموية, وكلها تسهم في تحطيم الخلايا وتطور تصلب الشرايين (190). ان السبب المفترض لزيادة انتاج NO في يوريا الدم ربما يكون مركبات الكوانيديدين Guanidine التي تتراكم في الدورة الدموية لمرضى اليوريميا وبالتالي تمنع تصنيع NO, من المحتمل وجود سبب اخر للتحرر الكبير لـ NO من الاوعية الدموية نتيجة التعبير المعزز Augmented expression لكل من المحرض والمبطن لتصنيع NO (190).

اشارت العديد من الدراسات الى ان الزيادة المبكرة في NO في أثناء عملية الغسيل الكلوي, قد يكون سببها الهيبارين او تفعيل كريات الدم البيض عن طريق غشاء غسيل الكلى (الديلزة), وكلاهما محفزات محتملة لإنتاج NO ومع ذلك فإن الانخفاض الكبير في NO يحصل عادة في نهاية الغسيل الكلوي (191). بخلاف المؤكسدات الأخرى مثل MDA الذي ارتفع في نهاية جلسة الغسيل الكلوي, كما اشارت دراسات أخرى تؤيد نتائج دراستنا بأن مستويات Nitrite و Nitrate في نهاية جلسة الغسيل الكلوي كانت اقل مما عليه قبل الغسيل الكلوي, وذلك يعد مؤشراً او دليلاً على إزالة NO في أثناء عملية الغسيل الكلوي, ومن ثم يعود NO الى مستوياته العالية ما بين جلسات الغسيل الكلوي (192).

4.3 - مستوى اليوريا, والكرياتينين وحامض اليوريك في مصل الدم:

Serum Level of Urea, Creatinine, and Uric acid

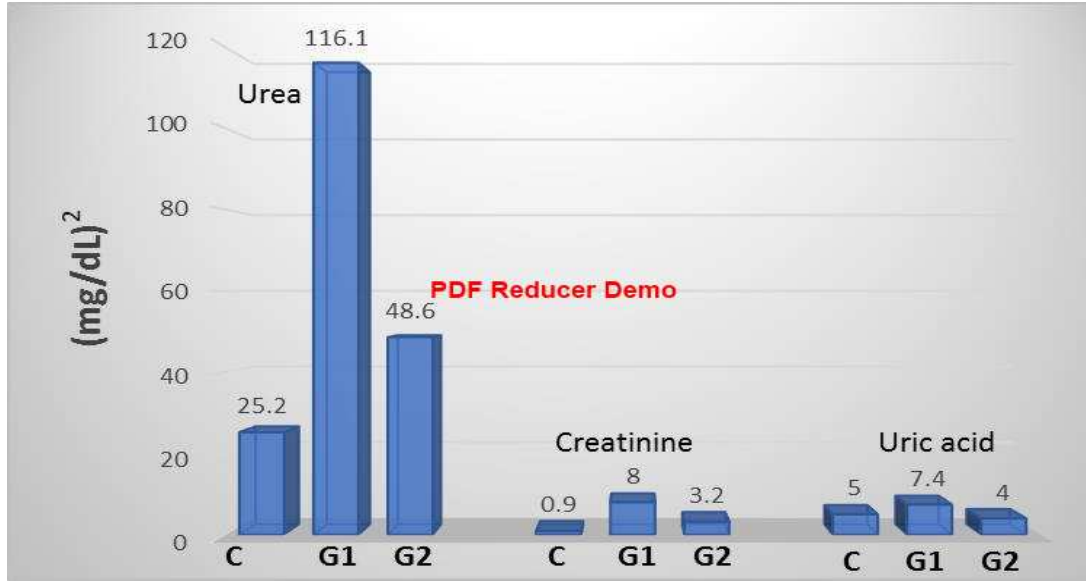
تم قياس مستويات اليوريا و الكرياتينين وحامض اليوريك في أمصال المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن والاصحاء بموجب الطريقة الطيفية وحسب الفقرات (5.4.2) (6.4.2) (7.4.2). يشير الجدول (7.3) ان المتوسط \pm الخطأ المعياري لكل من اليوريا والكرياتينين واليوريك أسد كان (116.1 ± 4.4) ملغم/دسي لتر, (8.0 ± 0.3) ملغم/دسي لتر و (7.4 ± 0.2) ملغم/دسي لتر في امصال دم المجموعة G1, اما المتوسط \pm الخطأ المعياري للمجموعة G2 فقد كان (48.6 ± 2.1) ملغم/دسي لتر, (3.2 ± 0.2) ملغم/دسي لتر و (4.0 ± 0.2) ملغم /دسي

لتر على التوالي, في حين كان المتوسط \pm الخطأ المعياري للمتغيرات الثلاث أنفة الذكر في امصال الاصحاء (25.2 \pm 0.9) ملغم/ دسي ليتر, (0.9 \pm 0.2) ملغم/ دسي ليتر, و (5.0 \pm 0.1) ملغم/ دسي ليتر على التوالي. وأظهرت النتائج ان متوسط مستوى اليوريا, الكرياتينين و اليوريك اسد قد ارتفعت معنوياً ($P<0.001$) في امصال دم المجموعتين G1,G2 مقارنة بالاصحاء. كما في الشكل (7-3).

جدول (7-3): المتوسط \pm الخطأ المعياري لمستوى اليوريا, والكرياتينين, واليوريك أسد في أمصال المصابين بـ CRF والاصحاء.

Groups Parameter	G1 n=35 Mean \pm S.E	G2 n=35 Mean \pm S.E	C n=30 Mean \pm S.E	Total n=70 Mean \pm S.E	P-Value			
					G1vs.G2	G1vs.C	G2vs.C	Total
Urea mg/dL	116.1 \pm 4.4	48.6 \pm 2.1	25.2 \pm 0.9	63.3 \pm 4.1	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$
Creatinine mg/dL	8.0 \pm 0.3	3.2 \pm 0.2	0.9 \pm 0.2	4.0 \pm 0.3	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$
Uric acid mg/dL	7.4 \pm 0.2	4.0 \pm 0.2	5.0 \pm 0.1	5.5 \pm 0.2	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$	$P^{***}<0.001$

$P>0.05$ (N.S= NO. Significant), $P^*<0.05$ (Significant), $P^{**}<0.001$ (highly Significant)



شكل (3-7): مستوى اليوريا والكرياتينين وحامض اليوريك في أمصال دم مرضى CRF قبل وبعد الغسيل الكلوي مقارنة بالأصحاء.

بما ان العجز الكلوي المزمن هو عبارة عن تدهور بطيء وتدرجي لوظائف الكلى يحصل عادةً نتيجة مضاعفات لأمراض أخرى، وهو بخلاف العجز الكلوي الحاد الذي يحصل بشكل مفاجئ وسريع. ففي العجز الكلوي المزمن يتطور بنحوٍ تدرجي لأكثر من أسبوع، اشهر او سنوات نتيجة لذلك تتوقف الكلية عن العمل مؤدياً بذلك الى المراحل النهائية من المرض. في العجز الكلوي المزمن يحصل نقصان ثابت ومستمر بالتصفية الكلوية او معدل الترشيح الكبيبي، كما ذكر آنفاً، مؤدياً بذلك الى تجمع اليوريا، والكرياتينين ومواد كيميائية أخرى بالدم. أتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل اليه الباحث Raja وآخرون (2014) في ان مرضى العجز الكلوي المزمن في مرحلة ما قبل الغسيل الكلوي تكون مستويات اليوريا أعلى من الطبيعي بنحوٍ ملحوظ (20- 40) ملغم/ديسي لتر ، في حين انخفضت مستويات اليوريا في مصل الدم بعد عملية الغسيل الكلوي وبالنسبة إلى الكرياتينين وجد بأن مستوياته تكون أعلى من المستوى الطبيعي (1.4) ملغم/ دسي ليتر في مرضى العجز الكلوي المزمن الذين يخضعون للعلاج بالغسيل الكلوي⁽¹⁹³⁾.

أغلب المرضى تكون مستويات الكرياتينين لديهم (7.6- 12) ملغم/ دسي ليتر. وجد ان الغسيل الكلوي له تأثير ايجابي في مستوى الكرياتينين في مصل الدم، اذ يختزل مستوياته باتجاه القيم الطبيعية وهذا يتفق مع نتائج هذه الدراسة⁽¹⁹³⁾. هذا فضلاً عن عوامل اخرى تؤثر في مستوى الكرياتينين في مصل الدم كالعمر، والجنس، والحالة الفيزيائية للشخص⁽¹⁹⁴⁾.

اما في ما يخص اليوريك أسد فقد اصبح في العقود الاخيرة يؤدي دوراً مهماً ومثيراً في ما يتعلق بـ CRF والاجهاد التأكسدي. فقد بينت دراسات علم الأوبئة وجود علاقة قوية ما بين ارتفاع مستويات اليوريك اسد بالدم مع ارتفاع ضغط الدم وامراض القلب والتي تؤدي فيما بعد الى العجز الكلوي المزمن⁽¹⁹⁵⁾. علاوة على ذلك فإن مركب

allopurinol يعد مثبطاً للزانتين اوكسيداز الذي يخفض من مستويات اليوريك أسد بالدم الذي يعمل بدوره كمضاد أكسدة للأشخاص الاصحاء والمرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (196-198).

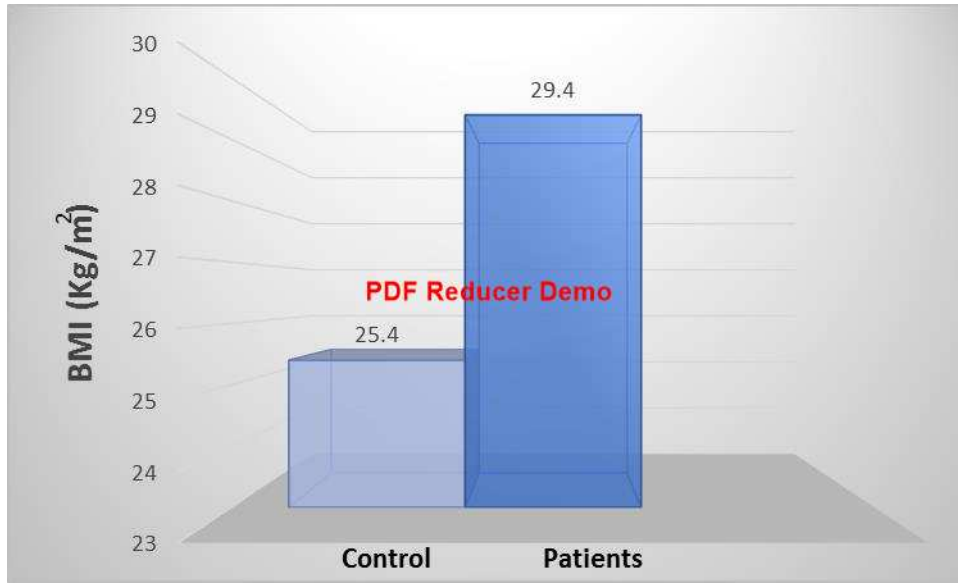
وفي ما يتعلق بالارتباط الممكن ما بين يوريك أسد الدم المرتفع والنتائج المستحصلة القليلة منه بعد عملية الغسيل الكلوي ما يزال دليلاً قابل للمناقشة، وهذا يتطابق مع نتائج دراستنا. ان اختزال مستويات اليوريك أسد في مصل الدم بعد تعاطي مادة allopurinol من قبل مرضى الغسيل الكلوي المصابين بمتلازمة الايض كانت النتيجة باهرة في تحسين مستوى الدهون ولذلك فإنه من المحتمل تقليل خطر الإصابة بالامراض القلبية (199).

5.3- مؤشر كتلة الجسم: *Body Mass index*

بينت نتائج هذه الدراسة بأن المتوسط \pm الخطأ المعياري لـ BMI للمصابين بالعجز الكلوي المزمن كان (29.4 ± 2.0) كغم/م² في حين كانت قيمته للاصحاء (25.4 ± 0.8) كغم/م²، كما موضح في الجدول (8-3). إذ أظهرت النتائج ان متوسط مستوى مؤشر كتلة الجسم لم يحدث تغير معنوي ملحوظ ($P > 0.05$) في مرضى العجز الكلوي المزمن مقارنة بمجموعة السيطرة , كما موضح في الشكل (8-3).

جدول (8.3) : المتوسط \pm الخطأ المعياري لـ BMI للمصابين بـ CRF والاصحاء:

Groups Parameter	Patients n= 70 Mean \pm S.E	Control n= 30 Mean \pm S.E	P-Value
BMI Kg/m ²	29.4 \pm 2.0	25.4 \pm 0.8	P> 0.05



شكل (3-8): مقارنة BMI للمصابين بـ CRF والاصحاء.

أصبحت زيادة الوزن والسمنة من الأمراض الخطيرة (200). وبالتالي فقد اقترح ان ذلك يؤدي في ما بعد الى حصول اضرار في الوظيفة الكلوية. أوضحت الدراسات السابقة بأنه توجد علاقة غير حاسمة (قاطعة) ما بين زيادة الوزن، والسمنة والعجز الكلوي المزمن. فعلى سبيل المثال لم تتفق نتائج دراستنا مع ما توصل اليه كل من الباحثين Hallan وجماعته (2006) و Nomura وآخرين (2009) وذلك بوجود علاقة إيجابية ما بين مؤشر كتلة الجسم والعجز الكلوي المزمن (201,202).

في حين اشارت دراسات أخرى تطابقت مع نتائجنا بأنه توجد علاقة سلبية ما بين المتغيرين أنفي الذكر (203). كما أشارت بعض الدراسات الى ان مؤشر كتلة الجسم يمكن ان يعد عاملاً تنبؤياً لحصول الاعتلال الكلوي بالمستقبل (204-206). فضلاً عن دراسة أخرى أوضحت بأن اختلاف الجنس لا يؤثر على كل من المتغيرين، في حين وجدت علاقة موجبة بين مؤشر كتلة الجسم ومرض العجز الكلوي المزمن في الذكور من دون النساء. وفي دراسات سابقة اكدت ان العلاقة الإيجابية بين مؤشر كتلة الجسم ومرض العجز الكلوي المزمن تعزى الى السمنة عند النساء، إذ يكون مؤشر كتلة الجسم ($BMI > 35 \text{ Kg/m}^2$) (207).

وبما ان السمنة هي عبارة عن ارتفاع في مؤشر كتلة الجسم ولذا تعد عامل خطراً جداً بزيادة احتمال الإصابة بالعجز الكلوي المزمن (208). فقد وجد ان انتشار السمنة يكون اكثر بالأشخاص المصابين بـ CRF مقارنة بالأشخاص غير المصابين (207). وعلى النقيض من ذلك فإن دراسات سابقة وكما ذكر آنفاً لم تجد أي ارتباط بين ارتفاع مؤشر كتلة الجسم ومجاميع المرضى المصابين بالعجز الكلوي المزمن (209-211).

ان الميكانيكيات المحتملة التي تتناول التغيرات الكلوية لدى الأشخاص المصابين بالسمنة درسها الباحثان Ritz and Koleganova (2009) في بحث امراض الكلية الرئيسية المرتبطة بالسمنة هي التصلب الكبيبي الذي يكون من احد مضاعفات السمنة المرضية (212, 213).

أظهرت بعض الدراسات بأن المرضى الذين يعانون من التصلب الكبيبي المرتبطة بالسمنة لديهم كبيبات كبيرة مع حدوث تصلب كلي⁽²¹⁴⁾. اما الأسباب الثانوية الأخرى فيمكن ان تعود الى العلاقة بين السمنة وامراض الكلى المزمنة المترتبة عليها (مضاعفاتها). وتعد السمنة احد مكونات الخلل الايضي الذي يحدث بسبب مقاومة الانسولين⁽²¹⁵⁾. ويعتقد بأن الأشخاص الاصحاء يحصل لديهم ارتفاع الانسولين بالدم بعد تناول الطعام مما يؤدي الى احتباس الصوديوم عادة ما يتم معادلته عن طريق أكسيد النتريك الذي يعمل على توسيع الاوعية الدموية. مع ذلك فإن المرضى الذين يعانون من مقاومة الانسولين, تضعف لديهم وظيفة الخلايا البطانية مما يؤثر في انتاج أكسيد النتريك الموسع للأوعية الدموية مؤدياً الى زيادة حساسية الصوديوم وارتفاع ضغط الدم⁽²¹⁶⁾.

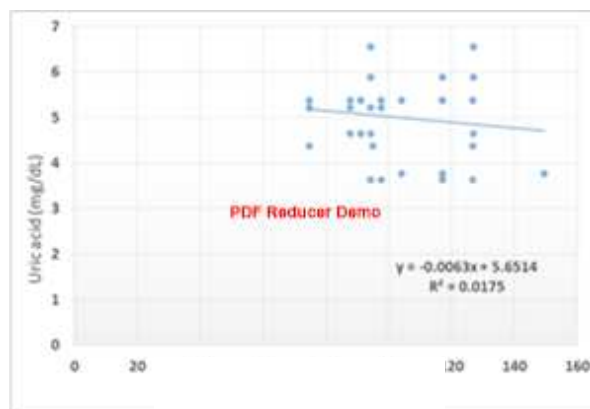
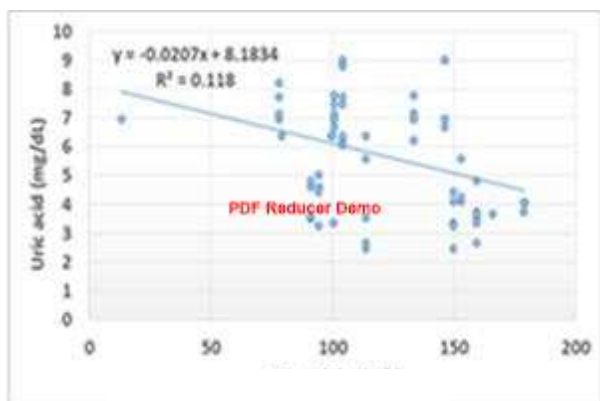
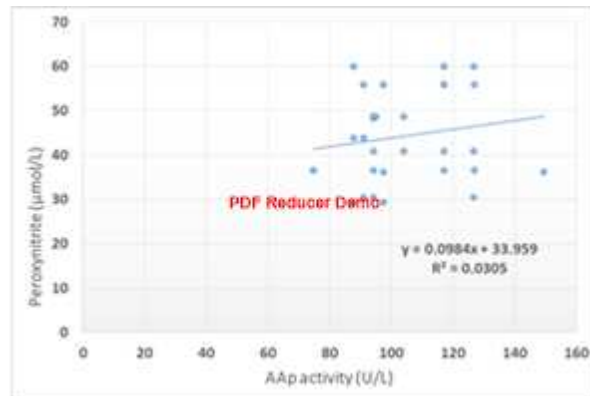
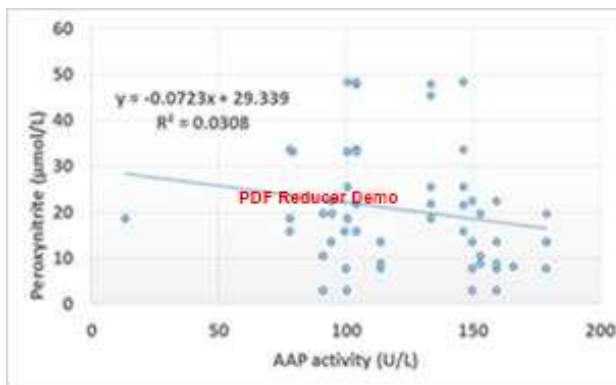
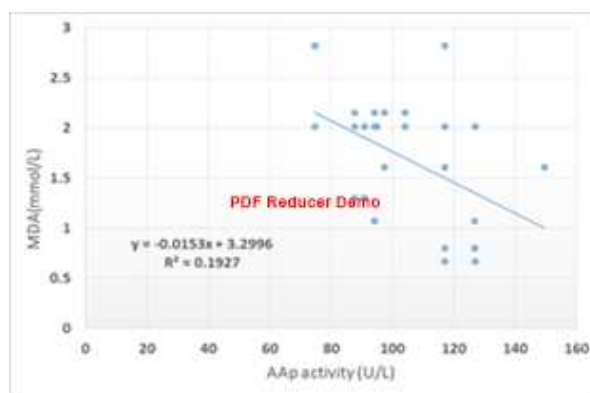
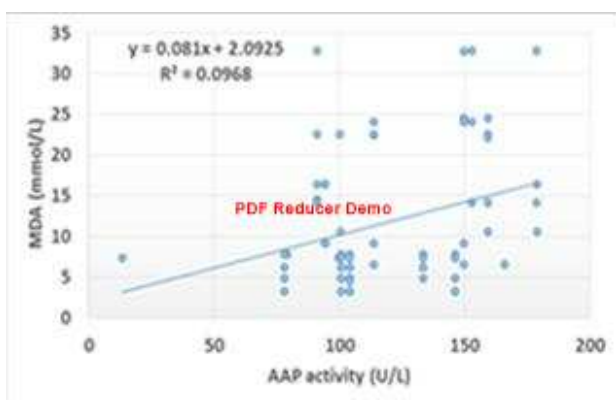
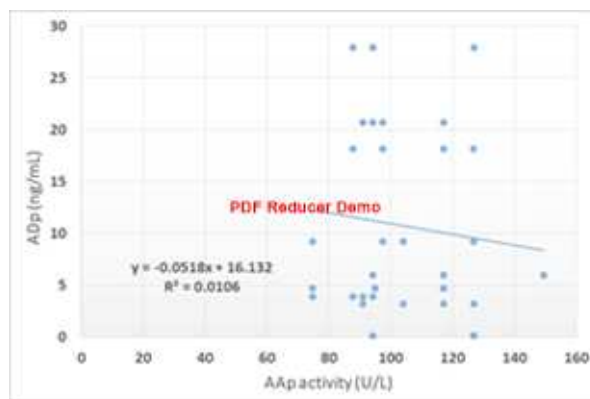
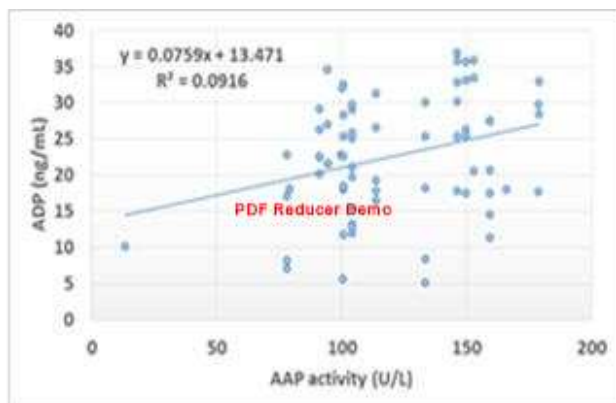
الميكانيكية الأخرى التي تفسر ارتباط السمنة مع امراض الكلى المزمنة هو زيادة نشاط نظام الرنين-انجيوتنسين الموجود في الانسجة الدهنية التي قد تؤدي الى زيادة ضارة في مستويات الانجيوتنسين II⁽²¹⁷⁾. فضلاً عن مستويات هرمون الالدوستيرون الذي وجد عند الاشخاص المصابين بمتلازمة الايض والسمنة الذي من الممكن ان يؤثر في وظيفة الكلى⁽²¹⁸⁾. علاوة على ذلك, النقص في مستويات هرمون الاديونكتين في المرضى ربما يؤدي الى الاجهاد التأكسدي في الكلية والالبومين يوريا⁽²¹⁹⁾. واخيراً فقد وجد في الدراسات التي اجريت على الحيوانات ان اتباع نظام غذائي عالي الفركتوز يقلل من معدل الترشيح الكبيبي ويقلل من تدفق البلازما الى الكبيبة⁽²²⁰⁾.

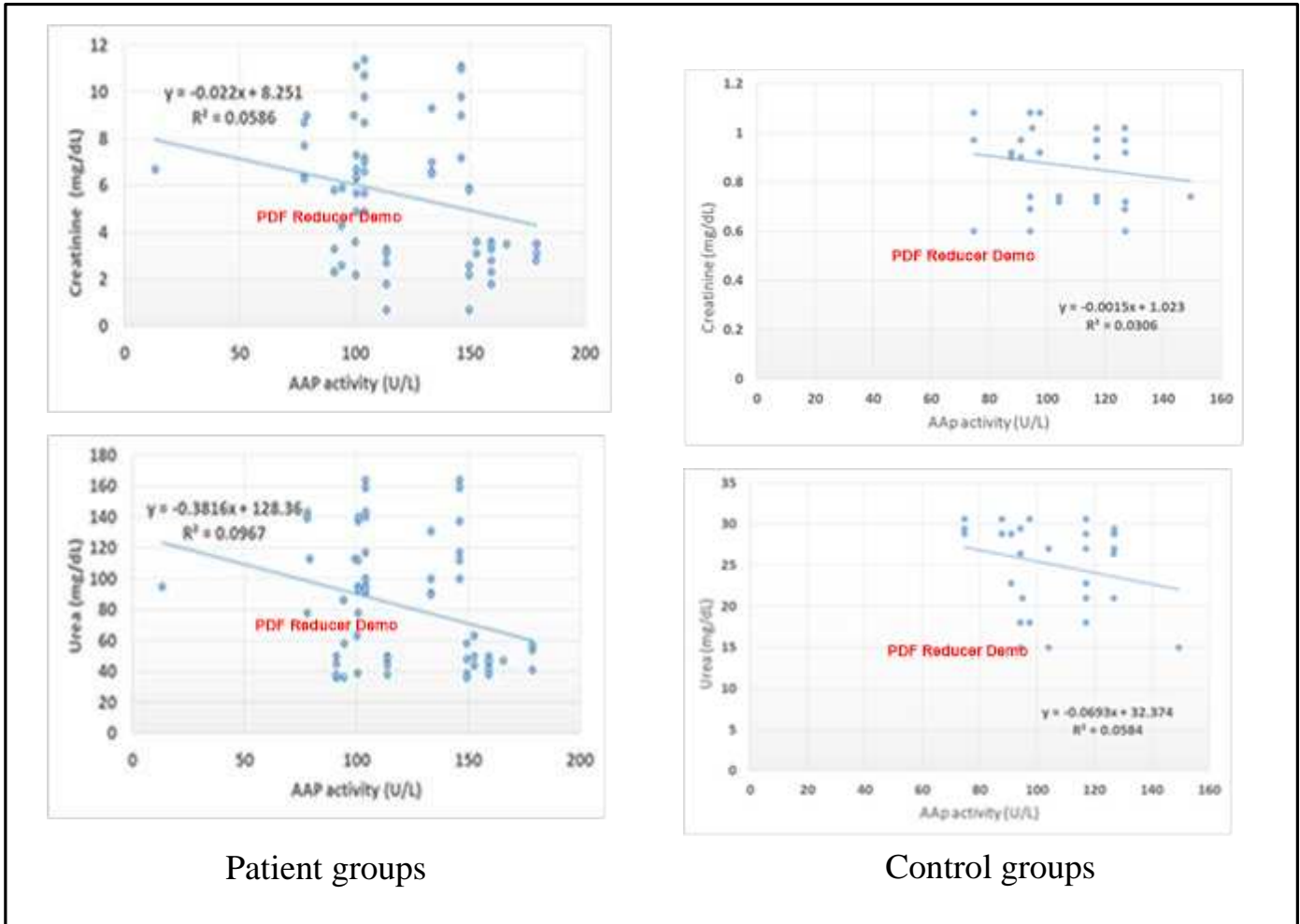
6.3 - العلاقة بين انزيم الانين امينوببتيديز AAP والمتغيرات الكيموحيوية:

تم إيجاد معامل الارتباط Correlation coefficient لدراسة علاقة الارتباط بين فعالية انزيم AAP مع المتغيرات الكيموحيوية (هرمون الاديونكتين, والمالوندايديهايد, والبيروكسي نايتريت, واليوريك اسد, والكرياتينين, واليوريا) ، إذ يلاحظ من الجدول (3-9) ان العلاقة الخطية لإنزيم AAP مع هرمون الـ ADP و MDA لأمصال مرضى العجز الكلوي المزمن تكون إيجابية كما مبينة بقيم معامل الارتباط الخطي (r), اما في الأشخاص الاصحاء فقد كانت علاقة الارتباط الخطية (سلبية). وقد تمت دراسة العلاقة الخطية بين إنزيم AAP وتركيز كلٍّ من (اليوريا، والكرياتينين، واليوريك اسد) في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن مع الاصحاء. واتضح من الجدول (3-9), ان العلاقة الخطية بين الانزيم والمتغيرات الثلاثة أنفة الذكر سلبية في كل من المرضى والاصحاء. اما العلاقة الخطية للمرضى المصابين بـ CRF بين انزيم AAP وتركيز البيروكسي نايتريت فهي علاقة سلبية، في حين كانت العلاقة إيجابية في الاصحاء.

جدول (9-3): معامل الارتباط الخطي بين AAP وبعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال الدم لمرضى CRF والاصحاء.

Parameters	Patient	P-value	Control	P<value
ADP	0.302	<0.05	-0.1029	NS
MDA	0.311	<0.001	-0.4389	<0.001
Peroxynitrite	-0.175	<0.05	0.1745	NS
Uric acid	-0.343	<0.001	-0.1323	NS
Creatinine	-0.242	<0.05	-0.1748	NS
Urea	-0.310	<0.001	-0.2415	NS





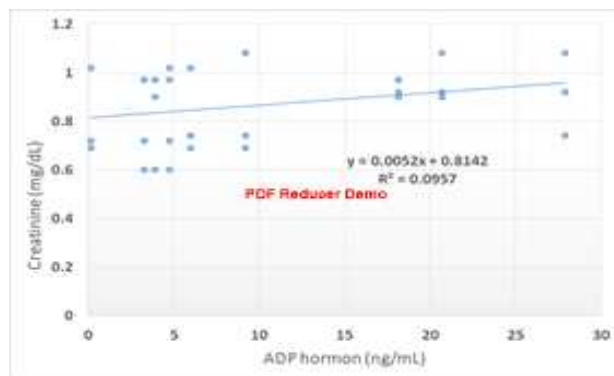
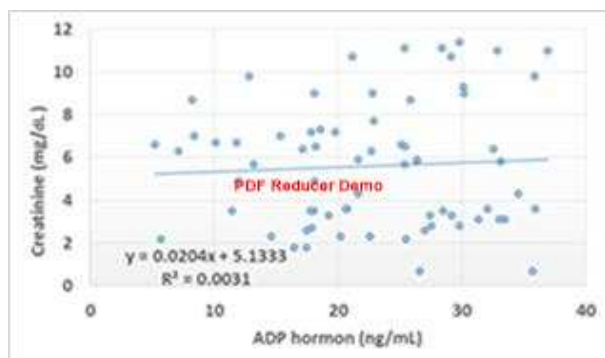
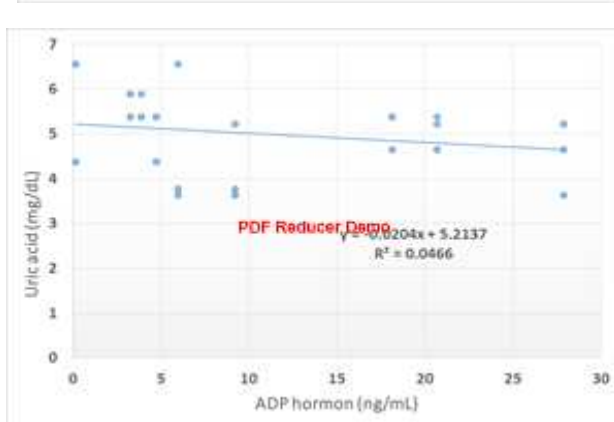
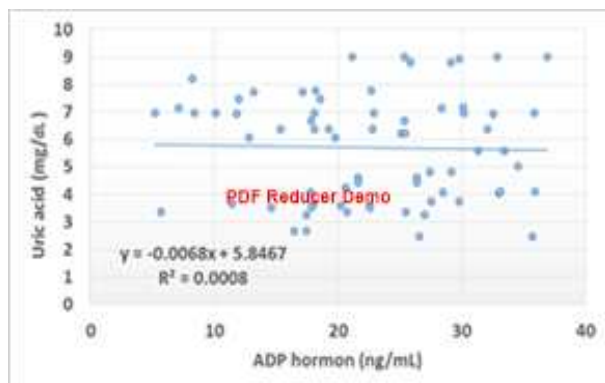
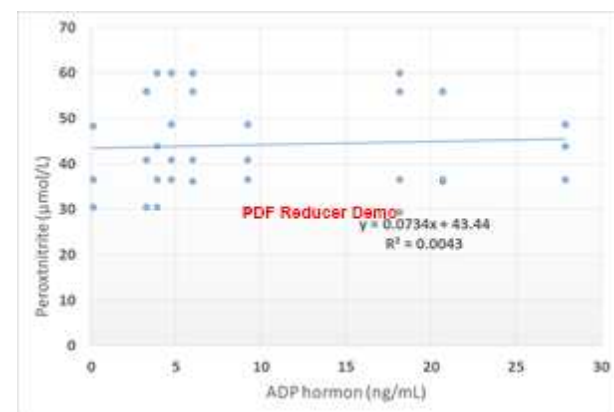
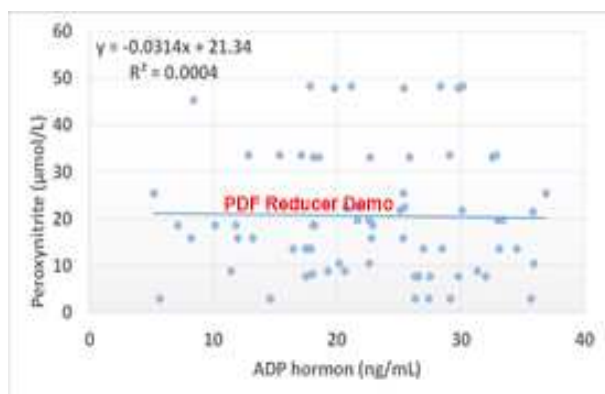
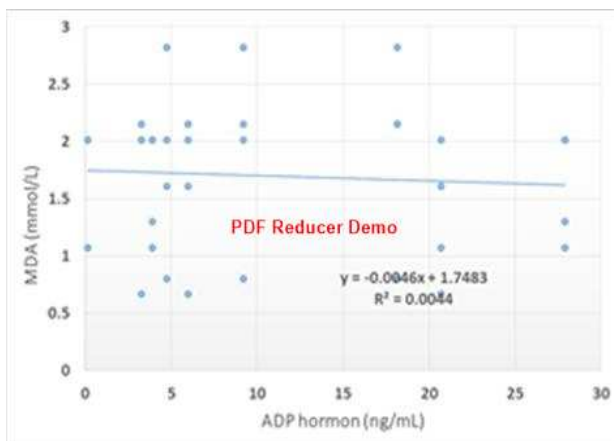
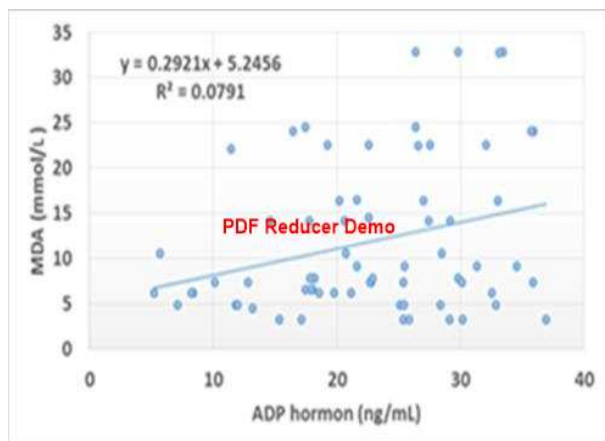
شكل (9.3): معامل الارتباط الخطي بين انزيم AAP وبعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال الدم لمرضى CRF

7.3- العلاقة بين هرمون الاديونكتين ADP والمتغيرات الكيموحيوية.

بينت نتائج الدراسة وجود علاقة إيجابية ما بين هرمون ADP وكل من MDA و الكرياتينين واليوريا في امصال المرضى المصابين بـ CRF بينما كانت العلاقة سلبية ما بين هرمون ADP و الـ MDA واليوريا وإيجابية مع الكرياتينين كما موضح في الجدول (3-10), في حين كانت العلاقة الخطية ما بين هرمون الـ ADP واليوريك اسد سلبية في كل من المرضى والاصحاء كما موضح في الشكل (3-10). وأخيراً هرمون ADP والبيروكسي نايتريت التي كانت نتائجها علاقة خطية سلبية في مرضى CRF وإيجابية في الاصحاء .

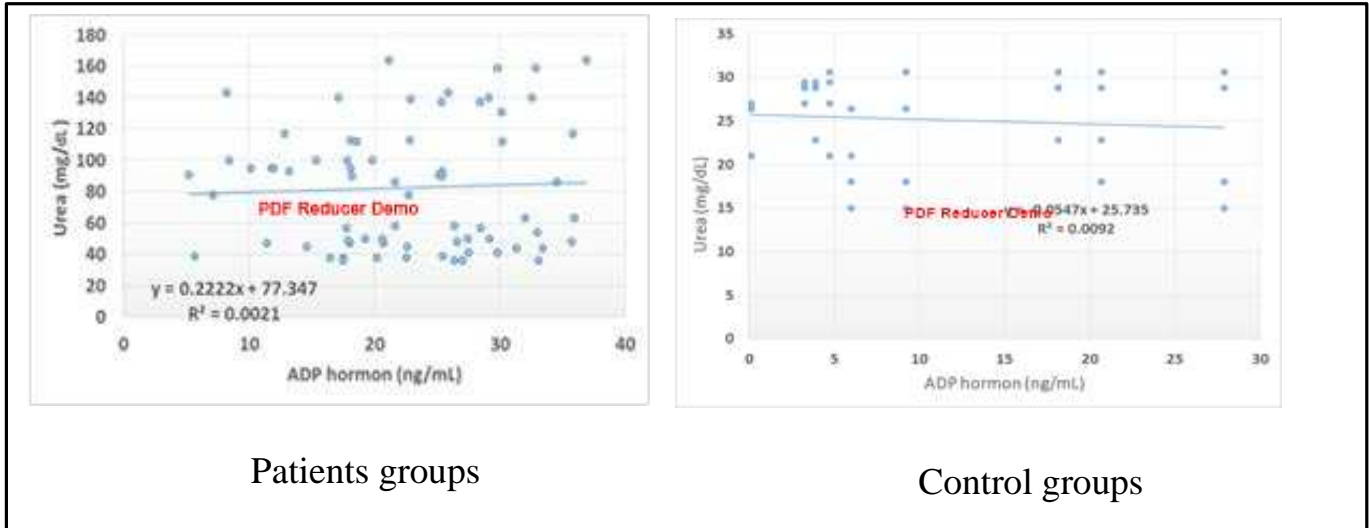
جدول (3-10): معامل الارتباط الخطي بين ADP وبعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال الدم لمرضى CRF والاصحاء

Parameters	patient	P-value	Control	P<value
MDA	0.2812	<0.05	-0.0665	NS
Peroxynitrite	-0.0191	NS	0.0653	NS
Uric acid	-0.0283	NS	-0.2158	NS
Creatinine	0.0561	NS	0.3093	<0.05
Urea	0.0453	NS	-0.0958	NS



Patients groups

Control groups



شكل (10.3): معامل الارتباط الخطي بين هرمون الـ ADP وبعض المتغيرات الكيموحيوية في امصال الدم لمرضى CRF.

الاستنتاجات

Conclusion

الاستنتاجات :- Conclusion

- 1- ارتفاع فعالية انزيم الالنين امينو ببتيديز AAP في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن مقارنة مع الاصحاء.
- 2- ارتفاع تركيز هرمون الاديونكتين في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن مقارنة بالأصحاء.
- 3- ارتفاع تركيز مالونداالدهايد, اليوريا, الكرياتينين, وحامض اليوريك في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن مقارنة مع الاصحاء.
- 4- انخفاض تركيز البيروكسي نايتريت في امصال مرضى العجز الكلوي المزمن مقارنة بالأصحاء.
- 5- لم يحدث أي تغير معنوي ملحوظ في مؤشر كتلة الجسم (BMI).
- 6- ارتباط انزيم الالنين امينو ببتيديز AAP بعلاقة خطية سلبية مع كل من (يوريا, يوريك اسد, الكرياتينين والبيروكسي نايتريت) في امصال دم مرضى العجز الكلوي المزمن.
- 7- ارتباط انزيم الالنين امينو ببتيديز AAP بعلاقة خطية موجبة مع كل من (المالونداالدهايد وهرمون الاديونكتين) في امصال الدم لمرضى العجز الكلوي المزمن.

التوصيات

Recommendations

التوصيات :- Recommendations

- 1- دراسة فعالية انزيم الالنين امينو بيتيديز AAP بصورة أوسع في امصال المرضى المصابين بأمراض الكلى المزمنة مثل الكلى متعددة الاكياس, التهاب الحويضة المزمن و التهاب كبيبات الكلى.
- 2- دراسة انزيم الالنين امينو بيتيديز من الناحية الجينية (الوراثية).
- 3- فصل وتنقية متناظرات انزيم الالنين امينو بيتيديز AAP من امصال دم مرضى العجز الكلوي المزمن.
- 4- الدراسة الحركية لمتناظرات انزيم الالنين امينو بيتيديز AAP.
- 5- دراسة فعالية الانزيم مع متغيرات كيموحيوية أخرى مثل فيتامين E,C فضلا عن مضادات الاكسدة الانزيمية.
- 6- مقارنة فعالية انزيم الالنين امينو بيتيديز وهرمون الاديونكتين في السوائل الحياتية الأخرى كاللعاب, سائل النخاع الشوكي والادرار.

المصادر

REFERENCES

1. Hanna-Wakim, R. H., Ghanem, S. T., El Helou, M. W., Khafaja, S. A., Shaker, R. A., Hassan, S. A., ... & Bakhsh, M. (2015). Epidemiology and characteristics of urinary tract infections in children and adolescents. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 5, 45.
2. Tan, C. W., & Chlebicki, M. P. (2016). Urinary tract infections in adults. *Singapore medical journal*, 57(9), 485.
3. Creager, J. G. (1983). *Human anatomy and Physiology*. Wadsworth Publishing Company.
4. عبدالله، خالد، "امراض الكلية"، دار الكتب للطباعة والنشر- جامعة الموصل، (1982)، ص11.
5. Dichi, I., Breganó, J. W., & Cecchini, R. (Eds.). (2014). *Role of oxidative stress in chronic diseases*. CRC Press.
6. Byham-Gray, L. D., Burrowes, J. D., & Chertow, G. M. (Eds.). (2014). *Nutrition in kidney disease*. Springer Science & Business Media.
7. Yadav, P., Malik, D., Kumar, S., & Malik, V. (2014, January). Effect of elevated creatinine level in blood serum of Chronic Renal Failure Patients. In *Biological Forum* (Vol. 6, No. 1, p. 48). Research Trend.
8. Seeley, R. R., Stephens, T. D., & Tate, P. (2002). *Essentials of anatomy and physiology*. McGraw-Hill.
9. Ferenbach, D. A., & Bonventre, J. V. (2015). Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nature Reviews Nephrology*, 11(5), 264.
10. Brunskill, E. W., Georgas, K., Rumballe, B., Little, M. H., & Potter, S. S. (2011). Defining the molecular character of the developing and adult kidney podocyte. *PloS one*, 6(9), e24640.
11. Kobayashi, A., Mugford, J. W., Krautzberger, A. M., Naiman, N., Liao, J., & McMahon, A. P. (2014). Identification of a multipotent self-renewing stromal progenitor population during mammalian kidney organogenesis. *Stem cell reports*, 3(4), 650-662.
12. Tavafi, M., Hasanvand, A., & Ashoory, H. (2018). Proximal convoluted tubule cells in ischemia and post-injury regeneration. *Acta Persica Pathophysiologica*, 1.
13. Plain, A., Wulfmeyer, V. C., Milatz, S., Klietz, A., Hou, J., Bleich, M., & Himmerkus, N. (2016). Corticomedullary difference in the effects of dietary Ca²⁺ on tight junction properties in thick ascending limbs of Henle's loop. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 468(2), 293-303.

14. Alessi, D. R., Zhang, J., Khanna, A., Hochdörfer, T., Shang, Y., & Kahle, K. T. (2014). The WNK-SPAK/OSR1 pathway: master regulator of cation-chloride cotransporters. *Sci. Signal.*, 7(334), re3-re3.
15. Bazúa-Valenti, S., Chávez-Canales, M., Rojas-Vega, L., González-Rodríguez, X., Vázquez, N., Rodríguez-Gama, A., ... & García-Valdés, J. (2015). The effect of WNK4 on the Na⁺-Cl⁻ cotransporter is modulated by intracellular chloride. *Journal of the American Society of Nephrology*, 26(8), 1781-1786.
16. Ostermann, M., & Joannidis, M. (2016). Acute kidney injury 2016: diagnosis and diagnostic workup. *Critical Care*, 20(1), 299.
17. Schwartz, G. J., Munoz, A., Schneider, M. F., Mak, R. H., Kaskel, F., Warady, B. A., & Furth, S. L. (2009). New equations to estimate GFR in children with CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20(3), 629-637.
18. Levey, A. S., Stevens, L. A., Schmid, C. H., Zhang, Y. L., Castro, A. F., Feldman, H. I., ... & Coresh, J. (2009). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of internal medicine*, 150(9), 604-612.
19. Anderson, J., (1989). Muir's text book of pathology. Longman Group Ltd., 12th edition, 183-260.
20. Musso, C. G., Michelángelo, H., Vilas, M., Reynaldi, J., Martinez, B., Algranati, L., & Núñez, J. F. M. (2009). Creatinine reabsorption by the aged kidney. *International urology and nephrology*, 41(3), 727-731.
21. Pottel, H., Hoste, L., Dubourg, L., Ebert, N., Schaeffner, E., Eriksen, B. O., ... & Glassock, R. J. (2016). An estimated glomerular filtration rate equation for the full age spectrum. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 31(5), 798-806.
22. WILLIAMS, M. S. (2010). Renal and Urinary Systems. *CHARGE Syndrome*, 159.
23. Wadei, H. M., & Textor, S. C. (2012). The role of the kidney in regulating arterial blood pressure. *Nature Reviews Nephrology*, 8(10), 602.
24. Findlay, M., & Isles, C. (2015). Structure and Function of the Kidney. In *Clinical Companion in Nephrology* (pp. 3-9). Springer, Cham.
25. Tortora, G. J., & Nielsen, M. (2009). *Principles of human anatomy*. John Wiley & Sons Incorporated.

26. Mente, A., Honey, R. J. D. A., McLaughlin, J. M., Bull, S. B., & Logan, A. G. (2006). High urinary calcium excretion and genetic susceptibility to hypertension and kidney stone disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(9), 2567-2575.
27. Kim, H. H., Choi, Y. H., Lee, S. B., Baba, Y., Kim, K. W., & Suh, S. H. (2015). Numerical analysis of the urine flow in a stented ureter with no peristalsis. *Bio-medical materials and engineering*, 26(s1), S215-S223.
28. Vahidi, B., & Fatourae, N. (2007, August). A numerical simulation of peristaltic motion in the ureter using fluid structure interactions. In *Engineering in Medicine and Biology Society, 2007. EMBS 2007. 29th Annual International Conference of the IEEE* (pp. 1168-1171). IEEE.
29. Kim, K. W., Choi, Y. H., Lee, S. B., Baba, Y., Kim, H. H., & Suh, S. H. (2015). Numerical analysis of the effect of side holes of a double J stent on flow rate and pattern. *Bio-medical materials and engineering*, 26(s1), S319-S327.
30. Boulpaep, E. L., & Boron, W. F. (2016). Foundations of Physiology. *Medical Physiology E-Book*, 1.
31. Walker-Smith, J., & Murch, S. (1999). *Diseases of the small intestine in childhood*. CRC Press.
32. Patel, U., & Rickards, D. (2010). *Imaging and urodynamics of the lower urinary tract*. London: Springer.
33. Fry, C. H., & Vahabi, B. (2016). The role of the mucosa in normal and abnormal bladder function. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 119(S3), 57-62.
34. Draczevski, L., & Teixeira, M. L. (2011). Avaliação do perfil bioquímico e parâmetros hematológicos em pacientes submetidos à hemodiálise. *Saúde e Pesquisa*, 4(1).
35. Chielle, E. O., Rigon, K. A., Arcari, I. A., Stein, V., & Santos, G. A. D. (2015). Influence of hemodialysis on the plasma concentration of adenosine deaminase in patients with chronic kidney disease. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 51(3), 153-157.
36. Sarhat, E. R., & Murtadha, N. A. Biochemical Changes in Chronic Renal Failure Pre and Post Hemodialysis.
37. Mehta, R. L., Cerdá, J., Burdmann, E. A., Tonelli, M., García-García, G., Jha, V., & Cruz, D. (2015). International Society of Nephrology's Oby25

- initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology. *The Lancet*, 385(9987), 2616-2643.
38. Yang, L., Xing, G., Wang, L., Wu, Y., Li, S., Xu, G., & Zhu, Z. (2015). Acute kidney injury in China: a cross-sectional survey. *The Lancet*, 386(10002), 1465-1471.
 39. Zuk, Anna, and Joseph V. Bonventre. "Acute kidney injury." *Annual review of medicine* 67 (2016): 293-307.
 40. Peng, J., Li, X., Zhang, D., Chen, J. K., Su, Y., Smith, S. B., & Dong, Z. (2015). Hyperglycemia, p53, and mitochondrial pathway of apoptosis are involved in the susceptibility of diabetic models to ischemic acute kidney injury. *Kidney international*, 87(1), 137-150.
 41. Clements, M. E., Chaber, C. J., Ledbetter, S. R., & Zuk, A. (2013). Increased cellular senescence and vascular rarefaction exacerbate the progression of kidney fibrosis in aged mice following transient ischemic injury. *PLoS one*, 8(8), e70464.
 42. Kellum, J. A., Chawla, L. S., Keener, C., Singbartl, K., Palevsky, P. M., Pike, F. L., & Angus, D. C. (2016). The effects of alternative resuscitation strategies on acute kidney injury in patients with septic shock. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 193(3), 281-287.
 43. Farooqi, S., & Dickhout, J. G. (2016). Major comorbid disease processes associated with increased incidence of acute kidney injury. *World journal of nephrology*, 5(2), 139.
 44. Koza, Y. (2016). Acute kidney injury: current concepts and new insights. *Journal of Injury and Violence Research*, 8(1), 58.
 45. Schrezenmeier, E. V., Barasch, J., Budde, K., Westhoff, T., & Schmidt-Ott, K. M. (2017). Biomarkers in acute kidney injury—pathophysiological basis and clinical performance. *Acta physiologica*, 219(3), 556-574.
 46. Cao, W., Jin, L., Zhou, Z., Yang, M., Wu, C., Wu, L., & Cui, S. (2016). Overexpression of intrarenal renin-angiotensin system in human acute tubular necrosis. *Kidney and Blood Pressure Research*, 41(6), 746-756.
 47. Khalili, H., Bairami, S., & Kargar, M. (2013). Antibiotics induced acute kidney injury: incidence, risk factors, onset time and outcome. *Acta Medica Iranica*, 51(12), 871.
 48. Masola, V., Zaza, G., Secchi, M. F., Gambaro, G., Lupo, A., & Onisto, M. (2014). Heparanase is a key player in renal fibrosis by regulating TGF- β

- expression and activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1843(9), 2122-2128.
49. Liang, S., Le, W., Liang, D., Chen, H., Xu, F., Chen, H., ... & Zeng, C. (2016). Clinico-pathological characteristics and outcomes of patients with biopsy-proven hypertensive nephrosclerosis: a retrospective cohort study. *BMC nephrology*, 17(1), 42.
50. Sato, W., & Sato, Y. (2014). Midkine in nephrogenesis, hypertension and kidney diseases. *British journal of pharmacology*, 171(4), 879-887.
51. Ghosh, J., Gupta, D., & Chattopadhyay, N. (2016). Hemolytic Uremic Syndrome. *J Nephrol Ther*, 6(239), 2161-0959.
52. Shirali, A. C., Perazella, M. A., & Gettinger, S. (2016). Association of acute interstitial nephritis with programmed cell death 1 inhibitor therapy in lung cancer patients. *American Journal of Kidney Diseases*, 68(2), 287-291.
53. Brisco, M. A., Zile, M. R., Hanberg, J. S., Wilson, F. P., Parikh, C. R., Coca, S. G., ... & Testani, J. M. (2016). Relevance of changes in serum creatinine during a heart failure trial of decongestive strategies: insights from the DOSE trial. *Journal of cardiac failure*, 22(10), 753-760.
54. Woo, K. T. (2011). Acute Kidney Injury (Acute Renal Failure). In *Clinical Nephrology* (pp. 433-448).
55. Burtis, C. A., Ashwood, E. R., & Bruns, D. E. (2012). *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences.
56. Mehta, R. L., Burdmann, E. A., Cerdá, J., Feehally, J., Finkelstein, F., García-García, G., ... & Lewington, A. (2016). Recognition and management of acute kidney injury in the International Society of Nephrology Oby25 Global Snapshot: a multinational cross-sectional study. *The Lancet*, 387(10032), 2017-2025.
57. Bank, W. GNI per capita, Atlas method (current US \$). 2015.
58. Zhou, H., Chen, M., Zhu, Y., Wang, B., Liu, X. N., Zuo, Z., & Tang, F. Y. (2016). Polymorphisms in NADPH oxidase CYBA gene modify the risk of ESRD in patients with chronic glomerulonephritis. *Renal failure*, 38(2), 262-267.
59. Lapidus, J., Diokno, A. C., Silber, S. J., & Lowe, B. S. (1972). Clean, intermittent self-catheterization in the treatment of urinary tract disease. *J urol*, 107(3), 458-61.

60. Choudhry, N., Li, K., Zhang, T., Wu, K. Y., Song, Y., Farrar, C. A., ... & Sacks, S. H. (2016). The complement factor 5a receptor 1 has a pathogenic role in chronic inflammation and renal fibrosis in a murine model of chronic pyelonephritis. *Kidney international*, 90(3), 540-554.
61. McGuire, C. (2017). Polycystic Kidney Disease.
62. O'Sullivan, E. D., Hughes, J., & Ferenbach, D. A. (2016). Renal aging: causes and consequences. *Journal of the American Society of Nephrology*, ASN-2015121308.
63. Ferenbach, D. A., & Bonventre, J. V. (2015). Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nature Reviews Nephrology*, 11(5), 264.
64. Razmaria, A. A. (2016). Chronic kidney disease. *Jama*, 315(20), 2248-2248.
65. Lisowska-Myjak, B. (2014). Uremic toxins and their effects on multiple organ systems. *Nephron Clinical Practice*, 128(3-4), 303-311.
66. عبدالله، خالد. امراض الكلية. دار الكتب للطباعة والنشر 1982، ص(11-67).
67. Lucove, J., Vupputuri, S., Heiss, G., North, K., & Russell, M. (2008). Metabolic syndrome and the development of CKD in American Indians: the Strong Heart Study. *American Journal of Kidney Diseases*, 51(1), 21-28.
68. Phukan, R. R., & Goswami, R. K. (2016). A study of serum sodium and calcium status in both hemodialysed and conservatively treated chronic kidney disease patients attending a tertiary care hospital of Assam, India. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 4(12), 5405-5410.
69. Koury, M. J., & Haase, V. H. (2015). Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy. *Nature Reviews Nephrology*, 11(7), 394.
70. Mallat, S. G., Al Kattar, S., Tanios, B. Y., & Jurjus, A. (2016). Hyperuricemia, hypertension, and chronic kidney disease: an emerging association. *Current hypertension reports*, 18(10), 74.
71. Becker, S., Walter, S., Witzke, O., Körber, A., Bienholz, A., Kottmann, T., ... & Mitchell, A. (2016). Edema, hyperpigmentation, induration: 3 skin signs heralding danger in patients on maintenance hemodialysis. *Medicine*, 95(12).
72. Chang, W. X., Arai, S., Tamura, Y., Kumagai, T., Ota, T., Shibata, S., ... & Uchida, S. (2016). Time-dependent risk factors associated with the decline of estimated GFR in CKD patients. *Clinical and experimental nephrology*, 20(1), 58-70.

73. Kumar, J., McDermott, K., Abraham, A. G., Friedman, L. A., Johnson, V. L., Kaskel, F. J., ... & Melamed, M. L. (2016). Prevalence and correlates of 25-hydroxyvitamin D deficiency in the Chronic Kidney Disease in Children (CKiD) cohort. *Pediatric nephrology*, *31*(1), 121-129.
74. Tomson, C., & Bailey, P. (2011). Management of chronic kidney disease. *Medicine*, *39*(7), 407-413.
75. Stanifer, J. W., Muiro, A., Jafar, T. H., & Patel, U. D. (2016). Chronic kidney disease in low-and middle-income countries. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *31*(6), 868-874.
76. Obi, Y., Streja, E., Rhee, C. M., Ravel, V., Amin, A. N., Cupisti, A., ... & Kalantar-Zadeh, K. (2016). Incremental hemodialysis, residual kidney function, and mortality risk in incident dialysis patients: a cohort study. *American Journal of Kidney Diseases*, *68*(2), 256-265.
77. Gurkan, A., r Pakyuz, S. Ç., & Demir, T. (2015, June). Stress coping strategies in hemodialysis and kidney transplant patients. In *Transplantation proceedings* (Vol. 47, No. 5, pp. 1392-1397). Elsevier.
78. Edelstein, C. L. (2017). Biomarkers in acute kidney injury. In *Biomarkers of Kidney Disease (Second Edition)* (pp. 241-315).
79. Golper, T. A., Fissell, R., Fissell, W. H., Hartle, P. M., Sanders, M. L., & Schulman, G. (2014). Hemodialysis: core curriculum 2014. *American Journal of Kidney Diseases*, *63*(1), 153-163.
80. Ziemska, J., & Solecka, J. (2016). Tyrosine kinase, aurora kinase and leucine aminopeptidase as attractive drug targets in anticancer therapy-characterisation of their inhibitors. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, *67*(4).
81. Al-Mudhaffar, S. and Salihi, F. (1978). *Folia bioch, et. boil. Graeca*. *14*; 44-53.
82. Luan, Y., & Xu, W. (2007). The structure and main functions of aminopeptidase N. *Current medicinal chemistry*, *14*(6), 639-647.
83. Mina-Osorio, P. (2008). The moonlighting enzyme CD13: old and new functions to target. *Trends in molecular medicine*, *14*(8), 361-371.
84. Quesada, A., Vargas, F., Montoro-Molina, S., O'Valle, F., Rodríguez-Martínez, M. D., Osuna, A., ... & Wangenstein, R. (2012). Urinary aminopeptidase activities as early and predictive biomarkers of renal dysfunction in cisplatin-treated rats. *PloS one*, *7*(7), e40402.

85. Dd He, X., Xu, Y., Shi, W., & Ma, H. (2017). Ultrasensitive Detection of Aminopeptidase N Activity in Urine and Cells with a Ratiometric Fluorescence Probe. *Analytical chemistry*, 89(5), 3217-3221.
86. Tang, J., Qu, F., Tang, X., Zhao, Q., Wang, Y., Zhou, Y., ... & Liu, Z. (2016). Molecular characterization and dietary regulation of aminopeptidase N (APN) in the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Gene*, 582(1), 77-84.
87. Byzia, A., Szeffler, A., Kalinowski, L., & Drag, M. (2016). Activity profiling of aminopeptidases in cell lysates using a fluorogenic substrate library. *Biochimie*, 122, 31-37.
88. Sanderink, G. J., Artur, Y., Paille, F., & Siest, G. (1989). Clinical significance of a new isoform of serum alanine aminopeptidase; relationship with liver disease and alcohol consumption. *Clinica chimica acta*, 179(1), 23-31.
89. Hütter, H. J., Grävingshoff, J., & Böhme, I. (1980). Alanine aminopeptidase in human small intestine mucosa--purification and characteristics. *Zeitschrift fur medizinische Laboratoriumsdiagnostik*, 21(1), 9-17.
90. Hughes, A. L. (2014). Evolutionary diversification of aminopeptidase N in Lepidoptera by conserved clade-specific amino acid residues. *Molecular phylogenetics and evolution*, 76, 127-133.
91. Masoud, H. M., Darwish, D. A. K., Helmy, M. S. E., & Abdel-Monsef, M. M. (2017). Purification and properties of an alanine aminopeptidase from camel liver. *Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol*, 7(05), 123-128.
92. Bogra, P., Singh, J., & Singh, H. (2009). Purification and characterization of aminopeptidase B from goat brain. *Process Biochemistry*, 44(7), 776-780.
93. Azam, M. A., & Jayaram, U. (2016). Inhibitors of alanine racemase enzyme: a review. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 31(4), 517-526.
94. Zaltkovic, M. M., Cukuranovic, R., and stefanovic, N. (1988). *J. med and boil.*, 5(1); 40-43.
95. Kim, H. Y., Bae, E. H., Ma, S. K., Chae, D. W., Choi, K. H., Kim, Y. S., ... & Kim, S. W. (2016). Association of serum adiponectin level with albuminuria in chronic kidney disease patients. *Clinical and experimental nephrology*, 20(3), 443-449.
96. Heidari, M., Nasri, P., & Nasri, H. (2015). Adiponectin and chronic kidney disease; a review on recent findings. *Journal of nephropharmacology*, 4(2), 63.

97. Kuczera, P., Adamczak, M., Machnik, G., Okopień, B., & Wiecek, A. (2015). Treatment with cinacalcet increases plasma adiponectin concentration in hemodialyzed patients with chronic kidney disease and secondary hyperparathyroidism. *Endocrine Practice*, 21(7), 743-749.
98. Oh, J., & Rabb, H. (2013). Adiponectin: an enlarging role in acute kidney injury. *Kidney international*, 83(4), 546-548.
99. Berg, A. H., Combs, T. P., & Scherer, P. E. (2002). ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 13(2), 84-89.
100. Scherer, P. E., Williams, S., Fogliano, M., Baldini, G., & Lodish, H. F. (1995). A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *Journal of Biological chemistry*, 270(45), 26746-26749.
101. Hossain, M. M., Mukheem, A., & Kamarul, T. (2015). The prevention and treatment of hypoadiponectinemia-associated human diseases by up-regulation of plasma adiponectin. *Life sciences*, 135, 55-67.
102. Tsao, T. S., Tomas, E., Murrey, H. E., Hug, C., Lee, D. H., Ruderman, N. B., ... & Lodish, H. F. (2003). Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity different oligomers activate different signal transduction pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 278(50), 50810-50817.
103. Wang, Y., Lam, K. S., Chan, L., Chan, K. W., Lam, J. B., Lam, M. C., ... & Xu, A. (2006). Post-translational modifications of the four conserved lysine residues within the collagenous domain of adiponectin are required for the formation of its high molecular weight oligomeric complex. *Journal of Biological Chemistry*, 281(24), 16391-16400.
104. Coope, A., Milanski, M., Araújo, E. P., Tambascia, M., Saad, M. J., Geloneze, B., & Velloso, L. A. (2008). AdipoR1 mediates the anorexigenic and insulin/leptin-like actions of adiponectin in the hypothalamus. *FEBS letters*, 582(10), 1471-1476.
105. Modaresi, A., Nafar, M., & Sahraei, Z. (2015). Oxidative stress in chronic kidney disease. *Iranian journal of kidney diseases*, 9(3).
106. Tucker, P. S., Scanlan, A. T., & Dalbo, V. J. (2015). Chronic kidney disease influences multiple systems: describing the relationship between oxidative stress, inflammation, kidney damage, and concomitant disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.

107. Mileo, A. M., & Miccadei, S. (2016). Polyphenols as modulator of oxidative stress in cancer disease: new therapeutic strategies. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
108. Siti, H. N., Kamisah, Y., & Kamsiah, J. (2015). The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular pharmacology*, 71, 40-56.
109. Miranda-Díaz, A. G., Pazarín-Villaseñor, L., Yanowsky-Escatell, F. G., & Andrade-Sierra, J. (2016). Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease. *Journal of diabetes research*, 2016.
110. Perez-Campo, R., Lopez-Torres, M., Cadenas, S., Rojas, C., & Barja, G. (1998). The rate of free radical production as a determinant of the rate of aging: evidence from the comparative approach. *Journal of Comparative Physiology B*, 168(3), 149-158.
111. Kelly, F. J. (2003). Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Occupational and environmental medicine*, 60(8), 612-616.
112. Forman, H. J., Augusto, O., Brigelius-Flohe, R., Dennery, P. A., Kalyanaraman, B., Ischiropoulos, H., ... & Davies, K. J. (2015). Even free radicals should follow some rules: a guide to free radical research terminology and methodology. *Free Radical Biology and Medicine*, 78, 233-235.
113. Bansal, A. K., & Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary Medicine International*, 2011.
114. Al-Mamun, M., Yamaki, K., Masumizu, T., Nakai, Y., Saito, K., Sano, H., & Tamura, Y. (2007). Superoxide anion radical scavenging activities of herbs and pastures in northern Japan determined using electron spin resonance spectrometry. *International journal of biological sciences*, 3(6), 349.
115. Anjum, N. A. (2015). Book review: oxidative damage to plants-antioxidant networks and signaling. *Frontiers in plant science*, 6, 452.
116. Hirata, Y., Yamamoto, E., Tokitsu, T., Fujisue, K., Kurokawa, H., Sugamura, K., ... & Hokimoto, S. (2015). The pivotal role of a novel biomarker of reactive oxygen species in chronic kidney disease. *Medicine*, 94(25).
117. Sureshbabu, A., Ryter, S. W., & Choi, M. E. (2015). Oxidative stress and autophagy: crucial modulators of kidney injury. *Redox biology*, 4, 208-214.
118. Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology*, 3(1), 28.

119. Ishizaka, Y., Yamakado, M., Toda, A., Tani, M., & Ishizaka, N. (2013). Relationship between estimated glomerular filtration rate, albuminuria, and oxidant status in the Japanese population. *BMC nephrology*, 14(1), 191.
120. السعدي، علي حمود، الشريف، عباس نور، الطريحي، منى نجاح. مبادئ الاكسدة ومضاداتها. دار الرضوان للنشر والتوزيع. عمان - الاردن 2012: 15-34-26.
121. Hekimi, S., Lapointe, J., & Wen, Y. (2011). Taking a “good” look at free radicals in the aging process. *Trends in cell biology*, 21(10), 569-576.
122. Pandey, S. K., & Banik, R. M. (2012). Selection and optimization of nutritional constituents for enhanced production of alkaline phosphatase by *Bacillus licheniformis* MTCC 1483. *Journal of Agricultural Technology* 2012, 8(4), 1317-1333.
123. Tsikas, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical biochemistry*, 524, 13-30.
124. Osorio-Esquivel, O., Álvarez, V. B., Dorantes-Álvarez, L., & Giusti, M. M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*, 44(7), 2160-2168.
125. Gopal, N., Selvam, A., Srinivasan, A. R., Saha, S., & Muddegowda, P. H. (2012). Serum Gamma Glutamyl Transferase levels in Obese South Indian adults with reference to atherogenic lipid risk factors and lipid peroxides. *Int J Med Health Sci*, 1(2), 35-42.
126. Rahman, M., Sing, S., Golabkesh, Z., Fiskesund, R., Gustafsson, T., Jogestrang, T., ... & Frostegård, J. (2016). IgM antibodies against malondialdehyde and phosphorylcholine are together strong protection markers for atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: regulation and underlying mechanisms. *Clinical Immunology*, 166, 27-37.
127. المفرجي، محمد محمود احمد تفاح. تقدير مستوى بعض مضادات الاكسدة في مصل الدم البالغين المصابين بالربو القصبي. رسالة ماجستير، كلية التربية- جامعة تكريت 2010.
128. Zhang, H., Liu, J., Sun, Y. Q., Huo, Y., Li, Y., Liu, W., ... & Guo, W. (2015). A mitochondria-targetable fluorescent probe for peroxynitrite: fast response and high selectivity. *Chemical Communications*, 51(13), 2721-2724.
129. ul Islam, B., Habib, S., Ahmad, P., Allarakha, S., & Ali, A. (2015). Pathophysiological role of peroxynitrite induced DNA damage in human diseases: a special focus on Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP). *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(4), 368-385.

130. Khan, M. A., Dixit, K., Arif, Z., Ashraf, J. M., & Alam, K. (2013). Peroxynitrite-modified H3 histone is highly immunogenic and binds circulating SLE autoantibodies better than native DNA. *Am. J. Biomed. Sci*, 5(1), 69-79.
131. Fernandes, M. S. (2012). Determinação de Parâmetros Oxidativos e Bioquímicos em Indivíduos Multitransfundidos.
132. Radi, R. (2013). Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. *Journal of Biological Chemistry*, 288(37), 26464-26472.
133. Jung, K., and Scholz, D. (1980). *Clin.*, 26(9); 1251-1254.
134. Guidet, B. E. R. T. R. A. N. D., & Shah, S. V. (1989). Enhanced in vivo H₂O₂ generation by kidney in glycerol-induced renal failure. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 257(3), F440-F445.
135. El-Missiry, M. A., Fayed, T. A., El-Sawy, M. R., & El-Sayed, A. A. (2007). Ameliorative effect of melatonin against gamma-irradiation-induced oxidative stress and tissue injury. *Ecotoxicology and environmental safety*, 66(2), 278-286.
136. Vanuffelen, B. E., Van Der Zee, J., De Koster, B. M., Vansteveninck, J., & Elferink, J. G. (1998). Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to stimulation of human neutrophil migration. *Biochemical Journal*, 330(Pt 2), 719.
137. Tietz N.W (1999). Text book Clinical Chemistry 3rd Ed. C. A. Burtis, E. R. Ash wood, W.B. Saunders; (pp1245-1250)
138. Jaffe, M. Z., (1869), *physiol. Chem.* 391.
139. Weatherurn ., M. W., (1967), *Aul. Chem.*, 39, 971..
140. Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. (2011). *Biochemistry*. Lippincott Williams & Wilkins.
141. Mattenheimer, H. E. R. M. A. N. N. (1977). Enzymes in renal diseases. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 7(5), 422-432.
142. Mattenheimer, H. E. R. M. A. N. N. (1977). Enzymes in renal diseases. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 7(5), 422-432.
143. Wilkinson, J. H. (1970). Enzyme tests in renal diseases. In *Laboratory Diagnosis of Kidney Diseases* (p. 243). Warren H. Green, Inc St. Louis.
144. Ringoir, S. (1968). Correlations between kidney, serum and urinary enzyme activity. *Current problems in clinical biochemistry*, 2, 177-199.

145. Friedel, R. and Mottenheimer, H.: Änderungen von Enzymaktivitäten im Blutplasma während der Hämodialyse(1973). Presented at the annual meeting of the German Society of Clinical Chemistry, Hannover, Germany.
146. Friedel, R., Mottenheimer, H., Trautschold, I., & Forster, G. (1976). Der vorgetäuschte Enzymaustritt. Verteilung und Transport von Zellenzymen im extrazellulären Raum, I. Mitteilung. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 14(1-12), 109-118.
147. Li, Y., Zhou, J., Zhang, L., Shao, K., Fang, F., & Wang, J. (2016). The Developmental Changes and Correlation of Adiponectin, Adiponectin Receptors and Hormones of the Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis in Growing Wannan Spotted Gilts. *Journal of Biomedical Sciences*, 5(2).
148. Markaki, A., Psylinakis, E., & Spyridaki, A. (2016). Adiponectin and end-stage renal disease. *Horm.(Athens)*, 15(3), 345-354.
149. Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J. I., ... & Kuriyama, H. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and biophysical research communications*, 257(1), 79-83.
150. Madsen, E. L., Rissanen, A., Bruun, J. M., Skogstrand, K., Tonstad, S., Hougaard, D. M., & Richelsen, B. (2008). Weight loss larger than 10% is needed for general improvement of levels of circulating adiponectin and markers of inflammation in obese subjects: a 3-year weight loss study. *European Journal of Endocrinology*, 158(2), 179-187.
151. Lim, C. C., Teo, B. W., Tai, E. S., Lim, S. C., Chan, C. M., Sethi, S., ... & Sabanayagam, C. (2015). Elevated serum leptin, adiponectin and leptin to adiponectin ratio is associated with chronic kidney disease in asian adults. *PLoS one*, 10(3), e0122009.
152. Park, J. T., Yoo, T. H., Kim, J. K., Oh, H. J., Kim, S. J., Yoo, D. E., ... & Kang, S. W. (2013). Leptin/adiponectin ratio is an independent predictor of mortality in nondiabetic peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International*, 33(1), 67-74.
153. Doumatey, A. P., Zhou, J., Huang, H., Adeleye, J., Balogun, W., Fasanmade, O., ... & Eghan, B. (2012). Circulating adiponectin is associated with renal function independent of age and serum lipids in west africans. *International journal of nephrology*, 2012.
154. Iwashima, Y., Horio, T., Kumada, M., Suzuki, Y., Kihara, S., Rakugi, H., ... & Ogihara, T. (2006). Adiponectin and renal function, and implication as

- a risk of cardiovascular disease. *American Journal of Cardiology*, 98(12), 1603-1608.
155. Huang, J. W., Yen, C. J., Chiang, H. W., Hung, K. Y., Tsai, T. J., & Wu, K. D. (2004). Adiponectin in peritoneal dialysis patients: a comparison with hemodialysis patients and subjects with normal renal function. *American Journal of Kidney Diseases*, 43(6), 1047-1055.
156. Martinez Cantarin, M. P., Keith, S. W., Waldman, S. A., & Falkner, B. (2014). Adiponectin receptor and adiponectin signaling in human tissue among patients with end-stage renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 29(12), 2268-2277.
157. Adamczak, M., Chudek, J., & Więcek, A. (2009, July). PROGRESS IN UREMIC TOXIN RESEARCH: Adiponectin in Patients with Chronic Kidney Disease. In *Seminars in dialysis*(Vol. 22, No. 4, pp. 391-395). Blackwell Publishing Ltd.
158. Guebre-Egziabher, F., Bernhard, J., Funahashi, T., Hadj-Aissa, A., & Fouque, D. (2004). Adiponectin in chronic kidney disease is related more to metabolic disturbances than to decline in renal function. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(1), 129-134.
159. Chudek, J., Adamczak, M., Karkoszka, H., Budziński, G., Ignacy, W., Funahashi, T., ... & Wiecek, A. (2003, September). Plasma adiponectin concentration before and after successful kidney transplantation. In *Transplantation proceedings* (Vol. 35, No. 6, pp. 2186-2189). Elsevier.
160. Małyszko, J., Małyszko, J. S., Brzosko, S., Wołczynski, S., & Myśliwiec, M. (2005). Markers of endothelial cell activation/injury: CD146 and thrombomodulin are related to adiponectin in kidney allograft recipients. *American journal of nephrology*, 25(3), 203-210.
161. Cantarin, M. P. M., Waldman, S. A., Doria, C., Frank, A. M., Maley, W. R., Ramirez, C. B., ... & Falkner, B. (2013). The adipose tissue production of adiponectin is increased in end-stage renal disease. *Kidney international*, 83(3), 487-494.
162. Heidari, M., Nasri, P., & Nasri, H. (2015). Adiponectin and chronic kidney disease; a review on recent findings. *Journal of nephro pharmacology*, 4(2), 63.
163. Kir, H. M., Eraldemir, C., Dervisoglu, E., Caglayan, C., & Kalender, B. (2012). Effects of chronic kidney disease and type of dialysis on serum levels

- of adiponectin, TNF-alpha and high sensitive C-reactive protein. *Clinical laboratory*, 58(5-6), 495-500.
164. Zha, D., Wu, X., & Gao, P. (2017). Adiponectin and Its Receptors in Diabetic Kidney Disease: Molecular Mechanisms and Clinical Potential. *Endocrinology*, 158(7), 2022-2034.
165. Varan, H. I., Dursun, B., Dursun, E., Ozben, T., & Suleymanlar, G. (2010). Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: comparison of two dialysis membranes. *International journal of nephrology and renovascular disease*, 3, 39.
166. Locatelli, F., Canaud, B., Eckardt, K. U., Stenvinkel, P., Wanner, C., & Zoccali, C. (2003). Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18(7), 1272-1280.
167. Stenvinkel, P., Heimbürger, O., Paultre, F., Diczfalusy, U., Wang, T., Berglund, L., & Jogestrand, T. (1999). Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney international*, 55(5), 1899-1911.
168. Annuk, M. B. O. K. T. M., Fellström, B., Akerblom, O., Zilmer, K., Vihalemm, T., & Zilmer, M. (2001). Oxidative stress markers in pre-uremic patients. *Clinical nephrology*, 56(4), 308-314.
169. Zhu, C., & Mertens, P. R. (2012). IgA nephropathy and oxidative stress: news on clinically evaluated biomarkers hits the stage. *International urology and nephrology*, 44(4), 1277-1280.
170. Boudouris, G., Verginadis, I. I., Simos, Y. V., Zouridakis, A., Ragos, V., Karkabounas, S. C., & Evangelou, A. M. (2013). Oxidative stress in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) and the significant role of vitamin C and E supplementation. *International urology and nephrology*, 45(4), 1137-1144.
171. Modlinger, P. S., Wilcox, C. S., & Aslam, S. (2004, July). Nitric oxide, oxidative stress, and progression of chronic renal failure. In *Seminars in nephrology* (Vol. 24, No. 4, pp. 354-365). Elsevier.
172. Haugen, E., & Nath, K. A. (1999). The involvement of oxidative stress in the progression of renal injury. *Blood purification*, 17(2-3), 58-65.
173. Liakopoulos, V., Roumeliotis, S., Gorny, X., Dounousi, E., & Mertens, P. R. (2017). Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.

174. Aiello, S., Noris, M., Todeschini, M., Zappella, S., Foglieni, C., Benigni, A., ... & Remuzzi, G. (1997). Renal and systemic nitric oxide synthesis in rats with renal mass reduction. *Kidney international*, 52(1), 171-181.
175. Gschwend, S., Buikema, H., Navis, G., Henning, R. H., de Zeeuw, D., & van Dokkum, R. P. (2002). Endothelial dilatory function predicts individual susceptibility to renal damage in the 5/6 nephrectomized rat. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(12), 2909-2915.
176. Yilmaz, M. I., Saglam, M., Caglar, K., Cakir, E., Sonmez, A., Ozgurtas, T., ... & Tasar, M. (2006). The determinants of endothelial dysfunction in CKD: oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. *American Journal of Kidney Diseases*, 47(1), 42-50.
177. Chen, M. F., Chang, C. L., & Liou, S. Y. (1998). Increase in resting levels of superoxide anion in the whole blood of uremic patients on chronic hemodialysis. *Blood purification*, 16(5), 290-300.
178. Nguyen, A. T., Lethias, C., Zingraff, J., Herbelin, A., Naret, C., & Descamps-Latscha, B. (1985). Hemodialysis membrane-induced activation of phagocyte oxidative metabolism detected in vivo and in vitro within microamounts of whole blood. *Kidney international*, 28(2), 158-167.
179. Ross, R. (1999). Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England journal of medicine*, 340(2), 115-126.
180. Clermont, G., Lecour, S., Cabanne, J. F., Motte, G., Guillard, J. C., Chevet, D., & Rochette, L. (2001). Vitamin E-coated dialyzer reduces oxidative stress in hemodialysis patients. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(2), 233-241.
181. Maher, E. R., Wickens, J. F. A., Griffin, J. F. A., Kyle, P., Curtis, J. R., & Dormandy, T. L. (1987). Increased free-radical activity during haemodialysis?. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2(3), 169-171.
182. Nguyen-Khoa, T., Massy, Z. A., De Bandt, J. P., Kebede, M., Salama, L., Lambrey, G., ... & Thévenin, M. (2001). Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16(2), 335-340.
183. Bayés, B., Pastor, M. C., Bonal, J., Junca, J., & Romero, R. (2001). Homocysteine and lipid peroxidation in haemodialysis: role of folic acid and vitamin E. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16(11), 2172-2175.

184. Yang, C. C., Hsu, S. P., Wu, M. S., Hsu, S. M., & Chien, C. T. (2006). Effects of vitamin C infusion and vitamin E-coated membrane on hemodialysis-induced oxidative stress. *Kidney international*, *69*(4), 706-714.
185. Fiorillo, C., Oliviero, C., Rizzuti, G., Nediani, C., Pacini, A., & Nassi, P. (1998). Oxidative stress and antioxidant defenses in renal patients receiving regular haemodialysis. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, *36*(3), 149-153.
186. Granata, S., Zaza, G., Simone, S., Villani, G., Latorre, D., Pontrelli, P., ... & Pertosa, G. (2009). Mitochondrial dysregulation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *BMC genomics*, *10*(1), 388.
187. Aiello, S., Noris, M., & Remuzzi, G. (1999). Nitric oxide/L-arginine in uremia. *Mineral and electrolyte metabolism*, *25*(4-6), 384-390.
188. Dursun, B., Dursun, E., Capraz, I., Ozben, T., Apaydin, A., & Suleymanlar, G. (2008). Are uremia, diabetes, and atherosclerosis linked with impaired antioxidant mechanisms?. *Journal of Investigative Medicine*, *56*(2), 545-552.
189. Galli, F., Canestrari, F., & Buoncrisiani, U. (1999). Biological effects of oxidant stress in haemodialysis: the possible roles of vitamin E. *Blood purification*, *17*(2-3), 79-94.
190. Ballinger, S. W., Patterson, C., Yan, C. N., Doan, R., Burow, D. L., Young, C. G., ... & Runge, M. S. (2000). Hydrogen peroxide–and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Circulation research*, *86*(9), 960-966.
191. Clermont, G., Lecour, S., Lahet, J. J., Siohan, P., Vergely, C., Chevet, D., ... & Rochette, L. (2000). Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovascular research*, *47*(3), 618-623.
192. Gonzalez-Diez, B., Cavia, M., Torres, G., Abaigar, P., & Muniz, P. (2008). Effect of a hemodiafiltration session with on-line regeneration of the ultrafiltrate on oxidative stress. *Blood purification*, *26*(6), 505-510.
193. Amin, N., Mahmood, R. T., Asad, M. J., Zafar, M., & Raja, A. M. (2014). Evaluating urea and creatinine levels in chronic renal failure pre and post dialysis: a prospective study. *Journal of Cardiovascular Disease*, *2*(2), 1-4.
194. Astor, B. C., Muntner, P., Levin, A., Eustace, J. A., & Coresh, J. (2002). Association of kidney function with anemia: the Third National Health and

- Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Archives of internal medicine*, 162(12), 1401-1408.
195. Filiopoulos, V., Hadjiyannakos, D., & Vlassopoulos, D. (2012). New insights into uric acid effects on the progression and prognosis of chronic kidney disease. *Renal failure*, 34(4), 510-520.
196. Siu, Y. P., Leung, K. T., Tong, M. K. H., & Kwan, T. H. (2006). Use of allopurinol in slowing the progression of renal disease through its ability to lower serum uric acid level. *American Journal of Kidney Diseases*, 47(1), 51-59.
197. Glantzounis, G. K., Tsimoyiannis, E. C., Kappas, A. M., & Galaris, D. A. (2005). Uric acid and oxidative stress. *Current pharmaceutical design*, 11(32), 4145-4151.
198. Tsutsumi, Z., Moriwaki, Y., Takahashi, S., Ka, T., & Yamamoto, T. (2004). Oxidized low-density lipoprotein autoantibodies in patients with primary gout: effect of urate-lowering therapy. *Clinica chimica acta*, 339(1-2), 117-122.
199. Shelmadine, B., Bowden, R. G., Wilson, R. L., Beavers, D., & Hartman, J. (2009). The effects of lowering uric acid levels using allopurinol on markers of metabolic syndrome in end-stage renal disease patients: a pilot study/Ürik asit seviyelerinin allopurinol ile azaltılmasının son dönem böbrek hastalarındaki metabolik sendrom belirleyicilerine etkisi: Pilot çalışma. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi: AKD*, 9(5), 385.
200. James, P. T., Leach, R., Kalamara, E., & Shayeghi, M. (2001). The worldwide obesity epidemic. *Obesity*, 9(S11).
201. Hallan, S., de Mutsert, R., Carlsen, S., Dekker, F. W., Aasarød, K., & Holmen, J. (2006). Obesity, smoking, and physical inactivity as risk factors for CKD: are men more vulnerable?. *American journal of kidney diseases*, 47(3), 396-405.
202. Nomura, I., Kato, J., & Kitamura, K. (2009). Association between body mass index and chronic kidney disease: a population-based, cross-sectional study of a Japanese community. *Vascular health and risk management*, 5, 315.
203. Kramer, H., Luke, A., Bidani, A., Cao, G., Cooper, R., & McGee, D. (2005). Obesity and prevalent and incident CKD: the Hypertension Detection and Follow-Up Program. *American Journal of Kidney Diseases*, 46(4), 587-594.

204. Hsu, C. Y., McCulloch, C. E., Iribarren, C., Darbinian, J., & Go, A. S. (2006). Body mass index and risk for end-stage renal disease. *Annals of internal medicine*, 144(1), 21-28.
205. Gelber, R. P., Kurth, T., Kausz, A. T., Manson, J. E., Buring, J. E., Levey, A. S., & Gaziano, J. M. (2005). Association between body mass index and CKD in apparently healthy men. *American Journal of Kidney Diseases*, 46(5), 871-880.
206. Iseki, K., Ikemiya, Y., Kinjo, K., Inoue, T., Iseki, C., & Takishita, S. (2004). Body mass index and the risk of development of end-stage renal disease in a screened cohort. *Kidney international*, 65(5), 1870-1876.
207. Cohen, E., Fraser, A., Goldberg, E., Milo, G., Garty, M., & Krause, I. (2013). Association between the body mass index and chronic kidney disease in men and women. A population-based study from Israel. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28(suppl_4), iv130-iv135.
208. Lu, J. L., Kalantar-Zadeh, K., Ma, J. Z., Quarles, L. D., & Kovesdy, C. P. (2014). Association of body mass index with outcomes in patients with CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*, ASN-2013070754.
209. Madero, M., Sarnak, M. J., Wang, X., Scepta, C. C., Greene, T., Beck, G. J., ... & Menon, V. (2007). Body mass index and mortality in CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, 50(3), 404-411.
210. Kalantar-Zadeh, K., Kopple, J. D., Kilpatrick, R. D., McAllister, C. J., Shinaberger, C. S., Gjertson, D. W., & Greenland, S. (2005). Association of morbid obesity and weight change over time with cardiovascular survival in hemodialysis population. *American journal of kidney diseases*, 46(3), 489-500.
211. Kovesdy, C. P., Anderson, J. E., & Kalantar-Zadeh, K. (2007). Paradoxical association between body mass index and mortality in men with CKD not yet on dialysis. *American Journal of Kidney Diseases*, 49(5), 581-591.
212. Ritz, E., & Koleganova, N. (2009). Obesity and chronic kidney disease. In *Seminars in nephrology* (. 29, (5), pp. 504-511). WB Saunders.
213. Weisinger, J. R., Kempson, R. L., Eldridge, F. L., & Swenson, R. S. (1974). The nephrotic syndrome: a complication of massive obesity. *Annals of internal medicine*, 81(4), 440-447.
214. Chen, H. M., Liu, Z. H., Zeng, C. H., Li, S. J., Wang, Q. W., & Li, L. S. (2006). Podocyte lesions in patients with obesity-related glomerulopathy. *American journal of kidney diseases*, 48(5), 772-779.

215. Eckel, R. H., Alberti, K. G. M. M., Grundy, S. M., & Zimmet, P. Z. (2010). The metabolic syndrome. *The Lancet*, 375(9710), 181-183.
216. Sarafidis, P. A., Whaley-Connell, A., Sowers, J. R., & Bakris, G. L. (2006). Cardiometabolic syndrome and chronic kidney disease: what is the link?. *Journal of the cardiometabolic syndrome*, 1(1), 58-65.
217. Cassis, L. A., Police, S. B., Yiannikouris, F., & Thatcher, S. E. (2008). Local adipose tissue renin-angiotensin system. *Current hypertension reports*, 10(2), 93.
218. Vogt, B., Bochud, M., & Burnier, M. (2007, September). The association of aldosterone with obesity-related hypertension and the metabolic syndrome. In *Seminars in nephrology* (Vol. 27, No. 5, pp. 529-537). Elsevier.
219. Sharma, K., RamachandraRao, S., Qiu, G., Usui, H. K., Zhu, Y., Dunn, S. R., ... & Falkner, B. (2008). Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. *The Journal of clinical investigation*, 118(5), 1645-1656.
220. Sánchez-Lozada, L. G., Tapia, E., Jiménez, A., Bautista, P., Cristóbal, M., Nepomuceno, T., ... & Herrera-Acosta, J. (2007). Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *American journal of physiology-renal physiology*, 292(1), F423-F429.

الملاحق

APPENDIX

استمارة استبانة

عنوان البحث: دراسة العلاقة بين نشاط إنزيم الالنين امينوببتديز ومستوى هرمون الاديونكتين

مع بعض المتغيرات الكيموحيوية في أمصال مرضى الغسيل الكلوي

رقم خاص للمريض	تاريخ	2017 / /
----------------	-------	----------

1	الأسم	
2	العمر	
3	الجنس	
4	الوزن	
5	الطول	
6	مدة المرض	
7	فترة الغسيل	
8	تاريخ العائلة	
9	التحصيل الدراسي	
10	اليوريا	
11	الكرياتينين	
12	اليوريك أسد	
13	الادوية المتناولة	

الباحثة: بركات كريم

ملاحظات اخرى:

Summary

Chronic Renal Failure (CRF) is disease that caused by a loss of Kidney function, therefore the patient needs a "long" treatment that is a substitute for kidneys. Kidney dialysis is one of the alternative treatments by which waste are Products removed, which includes creatinine, urea and water.

The study aimed to estimate the effectiveness of the Alanine aminopeptidase (AAP) enzyme in the serums of patients with chronic renal failure, as well as the estimation of some biochemical variables such as adiponectin (ADP), antioxidants (malondialdehyde, peroxy nitrite), as well as urea, creatinine, uric acid, Body Mass Index (BMI) also was measured .

The study included (70) samples of the serum ients with of patchronic renal failure of both sexes, aged (30-70) years, who were reviewed Al Karama Teaching Hospital -Baghdad. The samples were divided into two groups, the first group (G1) is of (35) samples before dialysis. The second group (G2) is of (35) samples after dialysis, as well as (30) samples of apparently healthy individuals persons (C) as a comparison group, aged (25-65) years.

The results showed a significant increase ($P < 0.001$) in general in the enzyme Alanine aminopeptidase (AAP) in the serum of chronic renal failure patients (116.0 ± 3.4) U/L while the efficacy rate is (105.5 ± 3.4) U/L in healthy persons .

It was also observed during the study that the concentration of adiponectin, malondialdehyde, urea, and uric acid showed a "significant" increase ($P < 0.001$) compared to healthy persons. There are significant decrease ($P < 0.001$) with peroxy nitrite

concentration compared to healthy persons. There was also no significant difference ($P > 0.05$) in BMI compared to healthy persons.

The correlation between linear alginate alanine aminopeptidase (AAP), adiponectin hormone, oxidative stress (malondialdehyde, peroxy nitrite) as well as urea, creatinine, uric acid and BMI was studied in blood serum for patients with chronic renal failure. It was found that the correlation coefficient (r) between the level of the enzyme Alanine aminopeptidase (AAP) and the other criteria based on the regression schema and there is a negative relationship between the level of the enzyme with (urea, uric acid, creatinine and peroxy nitrite) in the stage of chronic renal failure, while a positive relationship was found between the enzyme and adiponectin, malondialdehyde in patients.

As noted in this study, there is a positive relationship between adiponectin hormone with (AAP, urea, creatinine and malondialdehyde) and a negative relationship with both uric acid and peroxy nitrite in patients with chronic renal failure.

**Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
Scientific Research
University of Baghdad
College of Education for Pure Science
(Ibn Al-Haitham) Department of Chemistry**



Study of the relationship between the activity of the enzyme Alenine Aminopteidase and the level of adiponectin hormone with some of the biochemical variables in the dialysis kidney

A thesis

Submitted to the College of Education for Pure Sciences / Ibn Al-Haitham of the University of Baghdad in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Master of Science in Biochemistry

By

Barakat Kareem Hussain

B.Sc. in Chemistry (2014) College of Education for Pure Sciences/ Ibn Al-Haitham of the University of Baghdad

Supervised By

Asst. Prof. Dr. Taghreed Uloom Mohammad

2018 A.D.

1439 A.H.