

## دور الإجهاد التأكسدي في تكوين حصى الكلية

صباح حسين خورشيد<sup>1</sup>، شيركو محمد شريف عزيز<sup>2</sup>

<sup>1</sup>قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كركوك، كركوك، العراق

<sup>2</sup>قسم الكيمياء، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

[Sherkohama77@gmail.com](mailto:Sherkohama77@gmail.com)

### الملخص

تضمنت الدراسة (90) شخصاً لكلا الجنسين منهم (60) من المرضى المصابين بحصى الكلية (33 ذكور، 27 إناث) وتراوحت اعمارهم (20-70) سنة و(30) شخصاً من الأصحاء (16 ذكور، 14 إناث) وتراوحت اعمارهم (20-62) سنة. وتم تقدير مستويات تراكيز مالون ثنائي الدهيد (MDA) malondialdehyde وازنيم سوبر أوكسيد ديسموتيز (SOD) Superoxide dismutase وازنيم الكاتاليز (CAT) Catalase وتركيز ثايول الكلي (Total thiols) وتركيز بروتين الكلي (Total Protein) والالبومين (Albumin) في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية، وكذلك تقدير مستويات فعالية مضادات الأوكسدة الكلي (Total anti-Oxidants) وتراكيز حامض اليوريك وتراكيز الكالسيوم في الادرار مجموع خلال 24 ساعة. اظهرت الدراسة وجود ارتفاعاً معنوياً في تراكيز MDA في مصل دم المرضى وكانت النتائج (48.813±6.614nmol/l) مقارنة مع مجموعة الاصحاء (17.689±4.176 nmol/l)، وانخفاضاً معنوياً في مستويات تراكيز كل من SOD, CAT, T.thiols, T.Protein, الالبومين Alb. في مصل دم المرضى المصابين وكانت النتائج (39.467±6.95U/ml), (293.5±26.08KU\l), (223.99±18.39 μmol/ml), (6.584±0.532g\dl), (3.325±0.29mg/dl) مقارنة مع مجموعة الاصحاء (64.52±8.42U/ml), (509.01±43.41KU\l), (401.36±37.42μmol/ml), (8.500±0.321g\dl), (4.5173±0.260mg/dl) على التوالي عند مستوى الاحتمالية (P ≤ 0.05). وأظهرت الدراسة أيضاً وجود ارتفاعاً معنوياً في مستويات تراكي MAD، حامض اليوريك والكالسيوم في إدرار المرضى وكانت النتائج (166.00±8.103nmol/l), (14.273±1.511mg/dl), (9.126±1.731 mg/dl) مقارنة مع مجموعة الاصحاء (88.62±6.002 nmol/l), (6.671±0.561 mg/dl), (6.946±0.904mg/dl) على التوالي، وانخفاضاً معنوياً في مستويات (TAC) في إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية (45.90±8.063μmol\l) مقارنة مع مجموعة الاصحاء (98.0±12.757 μmol\l)، وكانت اعلى نسبة لحدوث حصى الجهاز البولي في الفئات العمرية (31-40) سنة، وكانت نسبتها في مجموعة الذكور (55.00٪) أعلى مقارنة مع مجموعة الإناث (45.00٪).  
الكلمات الدالة: حصى الكلية، الإجهاد التأكسدي، الجذور الحرة، مضادات الأوكسدة، MDA, SOD, Total antioxidant, Total thiols وBMI.

### 1. المقدمة

**1.1: الإجهاد التأكسدي: Oxidative Stress (OS)**  
الإجهاد التأكسدي OS حالة مرضية يمكن أن يزداد بسبب خفض المناعة، نقص الزنك والسيلينيوم، قلة المواد المضادة للأوكسدة Anti-Oxidants، الالتهابات، زيادة بيروكسيد الدهون lipid peroxidation (LPO)، ويتميز بإفراط زائد من أنواع الاكسجين التفاعلية Reactive Oxygen Species (ROS)، والتي يمكن أن تلحق ضرراً لجميع مكونات الخلية، بما في ذلك الحامض النووي، الدهون lipids، البروتينات Proteins [9,8,7].  
المالون ثنائي الدهيد malondialdehyde (MDA) ناتج ثانوي لتفاعلات بيروكسيدات الدهون (LPO) وهو جزيئة شديدة السمية وضارة بالصحة، إذ يتفاعل وترتبط بالبروتين والحامض النووي DNA في مجموعات (SH-) و (NH<sub>2</sub>-)، ويتكون نتيجة لعملية أكسدة الأحماض الدهنية الغير المشبعة الذي يمثل مستوى بيروكسيد الدهون داخل الخلايا ومؤشر رئيسي للجذور الحرة التي تؤثر على هياكل الأغشية الخلوية، وتقييم هذه الجزيئة من أجل تحديد مستوى الأوكسدة [10,6] وهناك عدد من الأدبيات له صلة متعلقة بين ROS وأمراض

الحصى Stones هي مجموعة غير متجانسة من المواد الحيوية المتبلورة الموجودة في الادرار وتصبح فيما بعد صلبه، تنشأ وتقع الحصى في أي مكان من الجهاز البولي Urinary System [2,1] وبعد مرض حصى الكلية من أكثر الامراض شيوعاً في الجهاز البولي في الذكور والإناث، وانتشاره في الذكور أعلى من الإناث [3] وأقدم الأمراض المعروفة للبشر [4] يتكون في الجسم أنواعاً مختلفة من الحصى واكثر الانواع الشائعة أوكزالات الكالسيوم Calcium Oxalate، حامض اليوريك Uric acid، الستروفايت Struvite والسيسيتين Cysteine [1] وزادت انتشارها باستمرار طوال فترة القرن العشرين [5]، أثبتت الدراسات بأن ازدياد مستويات مؤشرات الإجهاد التأكسدي Oxidative stress (زيادة مستويات الجذور الحرة، انخفاض مستويات مضادات الأوكسدة Anti-Oxidants) قد تسبب عدد من الامراض ومن ضمنها حصى الكلية [6]، لذا تم اجراء هذه الدراسة لقياس مستويات تراكيز مؤشرات الإجهاد التأكسدي ومضادات الأوكسدة في مصل دم و إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية والمقارنة مع الاصحاء.

وتم قياس تركيز MDA-TBA المتكون عند طول الموجي  $(\lambda=532\text{nm})$  في مصل الدم والإدرار، الذي يعتمد على مبدأ تحليل اللون، وحدد مستوى تركيز MDA بوحدة (نانومول/ لتر) من المعادلة ادناه:

$$\text{Conc. of (MDA)} = \frac{Ab \times 10^6 \times 10^3 \times Vs}{(1.56 \times 10^3) \times Vt}$$

Ab = امتصاصية النماذج ، Vs = حجم النموذج ( 0.1ml ) ، Vt ،

= حجم الكلي ( 1.0 ml )

1.56X10<sup>5</sup> = معمل الامتصاص المولي لمعقد MDA-TBA .

**3.2: تقدير فعالية انزيم سوپر أوكسيد ديسموتيز (SOD)**

#### Estimation of Super Oxide Dismutase

تم تقدير فعالية (SOD) في مصل الدم بواسطة عدّة التشخيص الجاهزة (Kit) المحضرة من قبل شركة (Dojido) اليابانية باستخدام جهاز ELISA، تم قياس شدة اللون عند الطول الموجي في  $(\lambda=450\text{nm})$ . يتم إيجاد فعالية SOD باستخدام المعادلة الآتية:

$$\text{SOD activity} = \frac{[(\text{Ablank 1} - \text{Ablank 3}) - (\text{Asample} - \text{Ablank 2})]}{(\text{Ablank 1} - \text{Ablank 3}) \times 100}$$

**4.2: تقدير مضادات الأكسدة الكلي في الدم (TAC)**

#### Estimation of Total Anti-Oxidants (TAC)

تم قياس مضادات الأكسدة الكلي (TAC) بطريقة FRAP [17]. باستخدام 0.25M من محلول خلات المنظم في أس هيدروجيني 2,4,6-Tripyridyltriazine Acetate buffer المتكون من (pH=3.6) و 10mM (TPTZ) و 20 mM (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) ومحلول القياسي (1mM Ferrous sulphate) عند طول الموجي  $(\lambda=593\text{nm})$ .

**تقدير تركيز الكلي Estimation Conc. of Total Thiols**

**5.2: ثايول**

تم قياس ثايول الكلي وفقاً لطريقة مورون و آخرون [18] استناداً الى تفاعل مركبات ثايول الألفايتية 400mM من Tris-HCl buffer و (DTNB), 5,5-dithiobis (2-nitro-benzoic acid) وتم قياس الكثافة الضوئية للمركب الملون عند طول الموجي  $(\lambda= 412 \text{ nm})$ .

**6.2: تقدير فعالية انزيم الكاتاليز Estimation of Catalase enzyme**

تم قياس فعالية CAT في مصل الدم كما وصف Goth.L [19] باستخدام (0.065M) من H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> التي يتكون معقد أصفر مع 32.4 ملغم مول/لتر من ammonium molybdate (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O وتقرأ امتصاصية عند الطول الموجي  $(\lambda=450\text{nm})$ . وتم حساب فعالية انزيم الكاتاليز حسب العلاقة الرياضية الآتية:

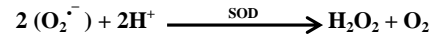
$$\text{CAT activity (KU/l)} = \frac{A_{(\text{Sample})} - A_{(\text{Blank 1})}}{A_{(\text{Blank 2})} - A_{(\text{Blank 3})}} \times 271$$

بحيث: Blank 1: Control = Blank 2 , Standard = Blank 3 , كاشف بلانك , Blank Conc. = 271

الكلية [11]. والجذور الحرة Free Radical هي أنواع شديدة التفاعل (ذرات، جزيئات والأيونات) تمتلك واحداً أو أكثر من الإلكترونات المنفردة في السطح الخارجي وعادة تكون غير مستقرة للغاية لأنها تميل إلى تكوين أزواج من الإلكترونات مع الآخر [12] تعتبر الجذور الحرة المواد المدمرة لفعاليتها في انقراض الكائنات الحية [13].

#### 2.1: مضادات الأكسدة Antioxidants

مضادات الأكسدة مركبات لها القدرة على منع وتثبيت الجذور الحرة والاصحاء على الأكسدة، وتحمي الجسم من الآثار الضارة الناتجة من الدهون المفرطة والمركبات الكيميائية الغير المرغوبة مثل الألديهيدات ، الكيتونات، الأحماض العضوية أو المواد الحافظة للأغذية، ويعد (SOD)، (CAT)، و Total thiols من المضادات الأكسدة المهمة التي تشارك في الاصحاء على ROS ومنتجاتها. ويعد SOD من مضادات الأكسدة الأنزيمية يحوى على بعض المعادن التي تحفز تحويل (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) و (H<sup>+</sup>) الى O<sub>2</sub> و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> كما مبين في المعادلة الآتية [14].



أما أنزيم الكاتاليز (CAT) الذي يتواجد في الخلايا الهوائية يعمل على تحويل H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> الى O<sub>2</sub> و H<sub>2</sub>O وجزيئة واحد من (CAT) قامت على تحويل ما يقرب من ست ملايين من جزيئات H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> الى O<sub>2</sub> و H<sub>2</sub>O في كل دقيقة [15].



#### 2 : العينات وطرائق العمل

##### 1.2 : نماذج الدم والإدرار blood and urine samples

شملت عينات الدراسة (60) عينة مرضية بحصى الكلية لكلا الجنسين (33ذكور، 27 اناث) وتراوحت اعمارهم (20-70) سنة، و(30) شخصاً من الأصحاء (16ذكور، 14 اناث) وتراوحت اعمارهم (20-62) سنة، اذ تم اخذ العينات من مستشفى بيشرفو العام في قضاء جم جمال التابعة لمحافظة سلیمانیه بعد ان تم تشخيصهم من قبل أطباء اخصائين والتأكد من اصابتهم بحصى الكلية بالاعتماد على الاشعة فوق الصوتية والاشعة السينية X-ray وفحص العام للإدرار General urine examination وتم اجراء الفحوصات كيمو حيوية في مصل دم وادرار تلك العينات.

##### طرائق العمل

##### 2.2 : تقدير تراكيز مالون ثنائي الديهايد Estimation Conc. Of (MDA)

تم استخدام طريقة يدوية (Manual method) باستخدام مواد مختبرية يتكون من (TBA),(TCA) و Glacial acetic acid [16].

اللونية من خلال قراءة اللون الناتج عند طول الموجي ( $\lambda=450\text{nm}$ ).  
وتم حساب تركيز البروتين الكلي حسب العلاقة الرياضية الآتية:

$$\text{Conc. Of T protein} = \frac{\text{Abs. Assay}}{\text{Abs. Standard}} \times \text{Standard Concentration}$$

اللونية من خلال قراءة اللون الناتج عند طول الموجي ( $\lambda=630 \text{ nm}$ ).  
وتم حساب تركيز البروتين الكلي حسب العلاقة الرياضية الآتية:

$$\text{Conc. Of Albumin} = \frac{\text{Abs. Assay}}{\text{Abs. Standard}} \times \text{Standard Concentration}$$

من خلال قراءة اللون الناتج عند طول الموجي ( $\lambda=520 \text{ nm}$ ).  
وتم حساب تركيز البروتين الكلي حسب العلاقة الرياضية الآتية:

$$\text{Conc. Of Uric acid} = \frac{\text{Abs. Assay}}{\text{Abs. Standard}} \times \text{Standard Concentration}$$

من خلال قراءة اللون الناتج عند طول الموجي ( $\lambda=570 \text{ nm}$ ).  
وتم حساب تركيز البروتين الكلي حسب العلاقة الرياضية الآتية:

$$\text{Conc. Of Calcium} = \frac{\text{Abs. Assay}}{\text{Abs. Standard}} \times \text{Standard Concentration}$$

قد يعزى سبب الانخفاض الى وجود الأوكزالات الناجمة عن الجذور الحرة، اذ بلورات الأوكزالات تسبب الالتهابات وتلف خلايا الكلية فتزداد نسبة الجذور الحرة و ROS، لأن يقوم SOD، CAT بتخليص الدم من الجذور الحرة التي تشارك وتعزز تكوين الحصى من خلال جمع البلورات [22]، أو الى ازدياد مستويات تراكيز (MDA) لان MDA يسبب تثبيط تدريجي لفعالية انزيم CAT مع ازدياد تراكيز أوكزالات [21]، وايضاً ان MDA يؤدي الى تحطم البروتين الى جزيئات صغيرة (ثايول) وبالتالي تكوين الحصى ويحسب بمسبب الأولى لزيادة الأوكسدة [23,24,25]، مع ذلك أكد الباحثون ان الالتهابات والألم الشديد هما من الظواهر التي تحدث عند وجود حصى في الجهاز البولي خاصة الكلية، ومؤدياً الى انخفاض تركيز البروتين الإجمالي و تركيز الالبومين في نفس الوقت، اذ وجود الالتهابات قد تأكدت البروتين ومجموعة الثايول من بينهم الالبومين أكثر من المضادات الاكسدة الأخرى [26].

**7.2: تقدير تركيز البروتين الكلي Estimation Conc. of T protein**

تم قياس تركيز (T.protein) في مصل الدم بواسطة العدة التشخيصية (Kit) المحضرة من قبل شركة (Spinreact) بالطريقة

**8.2: تقدير تركيز الالبومين Estimation Conc. of Albumin**

تم قياس تركيز (Albumin) في مصل الدم بواسطة العدة التشخيصية (Kit) المحضرة من قبل شركة (Spinreact) بالطريقة

**9.2 : قياس تركيز حامض اليوريك Estimation Conc. of Uric acid**

تم قياس تركيز (Uric acid) في الادرار بواسطة العدة التشخيصية (Kit) المحضرة من قبل شركة (Biolabo) الفرنسية بالطريقة اللونية

**10.2 : قياس تركيز الكالسيوم Estimation Conc. of Calcium**

تم قياس تركيز (Calcium) في الادرار بواسطة العدة التشخيصية (Kit) المحضرة من قبل شركة (Biolabo) الفرنسية بالطريقة اللونية

**11.2 : التحليل الإحصائي Statistical Analysis**

استخدام في التحليل الإحصائي برنامج (English Ver-15 Minitab)، كتحليل دانكن Duncan's Method وباستخدام جدول **ONE-WAY ANOVA** وطريقة F-Test عن طريق مقارنة قيمة F المحسوبة مع قيمة F الجدولية بين مجموعتين، فقد اعتبر قيمة  $P \leq 0.05$  دلالة إحصائية.

**3: النتائج و المناقشة**

**1.3: تقدير تراكيز (SOD, CAT, T.thiols, T.P, Alb, MDA) في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية ومجموعة الإصحاء**

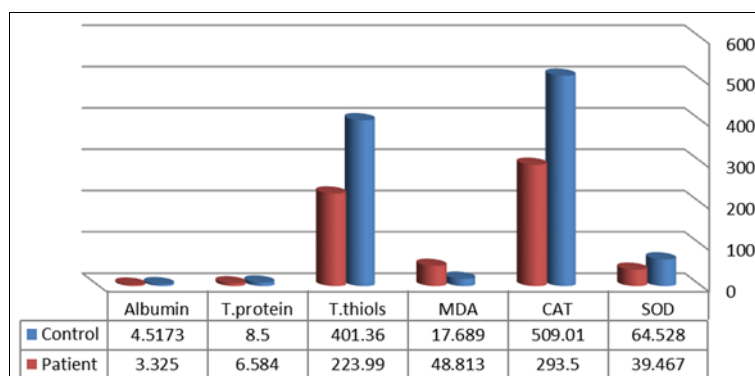
يُبين جدول (1) وشكل (1) انخفاضاً معنوياً في مستويات تراكيز (SOD, CAT, T.thiols, T.P, Alb) مع ازدياد في تراكيز MDA في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية مقارنةً بمجموعة الإصحاء عند مستوى الاحتمالية ( $P < 0.05$ )، وهذه النتائج جاءت مطابقة لما وجدته الباحثون في الأدبيات [20,21,22].

جدول (1): مستويات تراكيز Alb. ,T.protein, T.thiols, MDA, CAT, SOD في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية

ومجموعة الاصحاء

Biochemical test(Serum)	Control (N= 30) Mean ±S.E.	Patient (N= 60) Mean ±S.E.	Statistical Evaluate
SOD (U / ml )	64.528 ± 8.42	39.467 ± 6.95**	<b>P &lt; 0.05</b>
CAT ( KU\l )	509.01 ± 43.41	293.50 ± 26.08**	<b>P &lt; 0.05</b>
MDA (nmol /l)	17.689 ± 4.176	48.813 ± 6.614**	<b>P &lt; 0.05</b>
T.thiols ( μmol / ml )	401.36 ± 37.42	223.99 ± 18.39**	<b>P &lt; 0.05</b>
T. protein (g/dl)	8.500 ± 0.321	6.584 ± 0.532*	<b>P &lt; 0.05</b>
Albumin (mg/dl)	4.5173 ± 0.260	3.3250 ± 0.294*	<b>P &lt; 0.05</b>

\* فروقات معنوية / \*\* فروقات معنوية كبيرة



شكل (1) : مستويات تراكيز Alb. ,T.protein ,T.thiols , MDA ,CAT , SOD في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية

ومجموعة الاصحاء

أكدت الدراسات ان السمنة هو أحد العوامل الخطر لتكوين حصى الكلية [27] لان السمنة تعني زيادة في عدد الخلايا وعملية الايض الخلوي وبالتالي يؤدي الى زيادة النواتج العرضية والمركبات الضارة بالجسم مثل الجذور الحرة [28], وتحدث حالة OS بسبب انخفاض في تراكيز مضادات الأكسدة وزيادة ROS لدى المرضى البدناء الذي يلعب دوراً رئيسياً في العمليات الفيزيولوجية وأمراض الكلية مثل الفشل الكلوي الحاد والمزمن عن طريق تلف الخلايا [29] ومضادات الأكسدة الغذائية والدوائية تثبط ROS ليخفف أو يمنع الأكسدة وبالتالي يخفف تلف الكلية [30].

2.3: تقدير مستويات تراكيز (SOD, CAT, T.thiols, T.P, Alb., MDA)

حسب BMI في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية ومجموعة الاصحاء

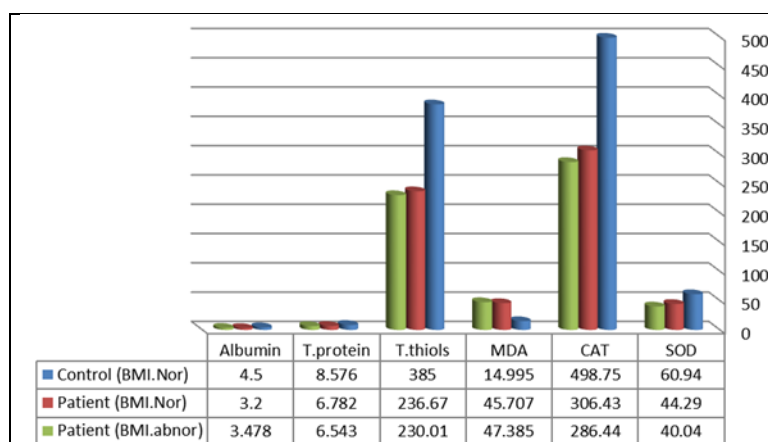
أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في مستويات فعالية SOD, CAT, وتراكيز T.thiols, T.protein, Alb. مع ازدياد تراكيز MDA كما موضح في جدول (2) وشكل (2) في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية لكلا الصنفين (BMI طبيعي وغير طبيعي) مقارنة مع مجموعة الاصحاء عند مستوى الاحتمالية (P < 0.05).

جدول (2): مستويات تراكيز Alb. ,T. protein ,T. thiols , MDA ,CAT , SOD في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية

ومجموعة الاصحاء حسب BMI

Biochemical test	Patient( N=60 )		Statistical Evaluate	
	Control (N=30)	Mean ± S.E. BMI ( Nor. ) (18.50-24.99) Kg/m <sup>2</sup>		Mean ± S.E. BMI ( Abnor. ) (25-29.99) Kg/m <sup>2</sup>
SOD ( U / ml )	60.940 ± 4.085	44.290 ± 1.785	40.040 ± 1.580**	<b>P ≤ 0.05</b>
CAT ( KU\l )	498.75 ± 27.804	306.43 ± 12.576	286.44 ± 13.625**	<b>P ≤ 0.05</b>
MDA( nmol / ml )	14.995 ± 0.493	45.707 ± 2.240	47.385 ± 1.930**	<b>P ≤ 0.05</b>
T.thiols ( μ mol / ml )	385.00 ± 15.299	236.67 ± 5.426	230.01 ± 7.183**	<b>P ≤ 0.05</b>
T. Protein (g/dl)	8.576 ± 0.203	6.782 ± 0.287	6.543 ± 0.308*	<b>P ≤ 0.05</b>
Albumin (mg/dl)	4.5000 ± 0.085	3.200 ± 0.146	3.4780 ± 0.088*	<b>P ≤ 0.05</b>

\* فروقات معنوية / \*\* فروقات معنوية كبيرة



شكل (2): مستويات تراكيز Alb. ,T.protein ,T.thiols , MDA ,CAT , SOD في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية

#### ومجموعة الاصحاء حسب BMI

الكلية لكلا الجنسين عند مستوى الاحتمالية ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع مجموعة الاصحاء وكما موضحة في جدول (3) هذه النتائج مطابقه لما وجده الباحثون في الادبيات [22,31,32,33], يعزى ذلك الى زيادة حالة الأوكسدة بسبب زيادة ROS مؤدياً الى تقليل فعالية مضادات الأوكسدة لكلا الجنسين [34,35].

3.3: تقدير تركيز (Alb.,T.P,T.thiols ,CAT,SOD) حسب الجنس في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية ومجموعة الاصحاء . أظهرت النتائج انخفاضاً في تركيز لكل (T.thiols ,CAT,SOD) وازدياد تركيز (MDA) في مصل دم المرضى المصابين بحصى

جدول (3) : مستويات تراكيز Alb. ,T. protein ,T. thiols , MDA ,CAT , SOD في مصل دم المرضى المصابين بحصى الكلية

#### ومجموعة الاصحاء حسب SEX

Biochemical test	Sex Group	Male	Female	Statistical Evaluate
		Mean±S.E.	Mean±S.E.	
SOD ( U / ml )	Control (N=10)	63.131 ± 3.09	65.370 ± 3.92	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	43.354 ± 1.94**	41.555 ± 1.39**	$P \leq 0.05$
CAT ( KU\ 1 )	Control (N=10)	513.76 ± 30.95	508.76 ± 39.28	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	305.27±13.34**	298.19±13.51**	$P \leq 0.05$
MDA(nmol/ml)	Control (N=10)	15.403 ± 0.535	17.455 ± 0.996	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	51.387 ± 2.60**	45.977 ± 2.26**	$P \leq 0.05$
T.thiols(μmol/ml)	Control (N=10)	373.69 ± 8.90	378.04 ± 13.04	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	222.98 ± 14.1**	226.45 ± 7.18**	$P \leq 0.05$
T. Protein(g/dl)	Control (N=10)	8.3162 ± 0.106	6.570±0.292	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	8.6025 ± 0.178	6.785±0.233 <sup>n.s</sup>	$P \leq 0.05$
Albumin(mg/dl)	Control (N=10)	4.3962 ± 0.096	3.734 ± 0.117	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	4.3013 ± 0.056	3.670 ± 0.061 <sup>n.s</sup>	$P \leq 0.05$

\* فروقات معنوية / \*\* فروقات معنوية كبيرة / n.s لا توجد فروقات معنوية

التأكسدي OS اذ تم اثبات أن OS كتطور في امراض الكلية, او الى مجموعة من الالتهابات مثل الالتهاب المزمن الناجم من أمراض المناعة الذاتية النيولوجية, والكيميائية مثل الأدوية والسموم البيئية والتهابات الخلايا الناتجة من الجذور الحرة في أشكال أنواع الاكسجين التفاعلية ROS [26,36], وتعد MDA مؤشر لتأكسد الدهون في الجسم الحي وازدياد تركيزه في الادرار يعزى الى قلة تركيز فيتامين E والسترات وتراكيز عالية للأحماض الدهنية في الجسم, أو بسبب خلل في النظام الغذائية, تشير الدراسات ان عدم انتظام النظام الغذائي مؤدياً الى ارتفاع MDA البولية في جميع الفئات العمرية [38].

ان ما تبين من النتائج من ارتفاع الكالسيوم قد يكون ناتج من تناول كمية زائدة من ملح الطعام NaCl والذي يؤدي الى قلة السترات البولية

#### 4.3: تقدير مستويات Uric acid, Calcium, Total anti-Oxidants

Malondialdehyde, في إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية مقارنة مع مجموعة الاصحاء أظهرت النتائج وكما موضح في جدول (4) وشكل (3) انخفاضاً معنوياً في مستويات Total anti-Oxidants (TAC) بينما ثبتت النتائج ارتفاعاً معنوياً في تراكيز UA , MDA و Ca في إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية مقارنة مع مجموعة الاصحاء عند مستوى الاحتمالية ( $P < 0.05$ ), هذه النتائج كانت مطابقه لما وجده الباحثون في الادبيات [26,36,37].

أكدت الدراسات ان انخفاض مستويات TAC قد يعزى الى زيادة استهلاكه في البيئة المؤكسدة (بيئة الكلية) بسبب حالة الإجهاد

تناول اللحوم في الوجبات الغذائية يسبب ازدياد تراكيز UA وانخفاض درجة الحموضة لإدرار [39].

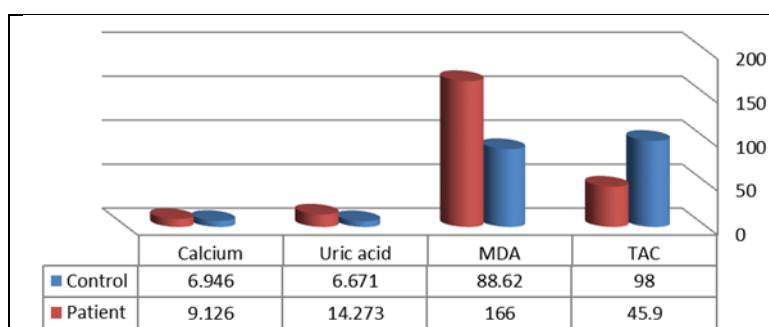
وبالتالي زيادة نسبة الكالسيوم في الإدرار [37] أو بسبب وجود خلل في وظيفة ترشح الكلية بسبب تلف بعض النفرونات الناجمة من ROS والجذور الحرة [47]، وأكدت الدراسات أيضاً أن الاكثار من

جدول (4): مستويات Uric acid, Calcium, Malondialdehyde, Total anti-Oxidants في إدرار المرضى المصابين بحصى

الكلية مقارنة مع مجموعة الإصحاء

Biochemical test	Control (N= 30) Mean ± S.E.	Patient (N= 60) Mean ± S.E.	Statistical Evaluate
TAC ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	98.0 ± 12.757	45.90 ± 8.063**	<b>P ≤ 0.05</b>
MDA (nmol /l)	88.62 ± 6.002	166.00 ± 8.103**	<b>P ≤ 0.05</b>
Uric acid (mg/dl)	6.671 ± 0.561	14.273 ± 1.511*	<b>P ≤ 0.05</b>
Calcium (mg/dl)	6.946 ± 0.904	9.126 ± 1.731**	<b>P ≤ 0.05</b>

\* فروقات معنوية / \*\* فروقات معنوية كبيرة



شكل (3): مستويات Uric acid, Calcium, Malondialdehyde, Total anti-Oxidants في إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية

مقارنة مع مجموعة الإصحاء

الأشخاص البدناء ناتج عن زيادة إنتاجه في الدم بسبب تناول وجبات غذائية التي يحتوي على اللحوم ويقلل درجة الحموضة للإدرار [40,27]. ومع ذلك ان السمنة يمكن أن تسهم في تطوير تكوين الحصى الكالسيوم عن طريق زيادة إفرازه في الإدرار [27]. وان ارتفاع MDA يعود بسبب تلف خلايا الاثيوب الكلوية مع وجود البيئة المؤكسدة في نسيج الكلية وزيادة حالة الاكسدة وانخفاض في نظام المضادة للأكسدة خاصة للأشخاص البدناء [42]، أو الى فرط الأوكزالات الناتجة لزيادة بيروكسيد الدهون خاصة لدى المرضى المصابين بحصى أوكزالات الكالسيوم والذين يعانون من الوزن الزائد [43].

5.3: تقدير مستويات Uric acid, Calcium,

Malondialdehyde, Total anti-Oxidants حسب BMI

في إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية مقارنة مع مجموعة الإصحاء

أظهرت النتائج وكما موضح في جدول (5) وشكل (4) ارتفاعاً في تراكيز كل من MDA, Ca., U.A وانخفاضاً في مستويات TAC في إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية لكلا الصنفين (BMI طبيعي وغير طبيعي) عند مستوى الاحتمالية ( $P < 0.05$ ) مقارنة مع مجموعة الإصحاء، هذه النتائج جاءت مطابقة مع الدراسات [41].

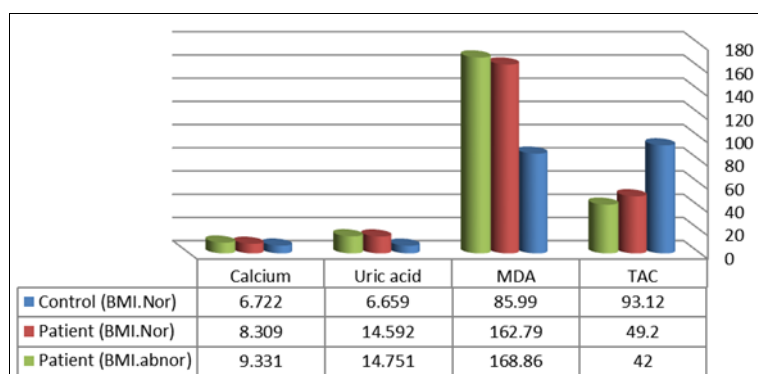
أكد الباحثون أن UA هو أحد عوامل الخطر لتكوين حصى الكلية والذي يرتبط ارتباطاً إيجابياً مع السمنة، وارتفاع تركيزه في الإدرار عند

جدول (5): مستويات Uric acid, Calcium, Malondialdehyde, Total anti-Oxidants في الإدرار المرضى المصابين بحصى

الكلية مقارنة بالمجموعة الإصحاء حسب BMI

Biochemical test	Control ( N=30 )	Patient ( N=60 )		Statistical Evaluate
	Mean ± S.E. BMI ( Nor. ) (18.50-24.99) Kg/m <sup>2</sup>	Mean ± S.E. BMI ( Nor. ) (18.50-24.99) Kg/m <sup>2</sup>	Mean ± S.E. BMI ( Abnor. ) (25-29.99) Kg/m <sup>2</sup>	
TAC ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	93.12 ± 7.473	49.20 ± 4.167	42.00 ± 3.692**	<b>P ≤ 0.05</b>
MDA (nmol /l)	85.99 ± 2.634	162.79 ± 4.355*	168.86 ± 4.304*	<b>P ≤ 0.05</b>
Uric acid (mg/dl)	6.659 ± 0.4676	14.592 ± 0.1915	14.751 ± 0.4626*	<b>P ≤ 0.05</b>
Calcium (mg/dl)	6.722 ± 0.5832	8.309 ± 0.8907	9.331 ± 0.9018*	<b>P ≤ 0.05</b>

\* فروقات معنوية / \*\* فروقات معنوية كبيرة



شكل (4): مستويات Uric acid, Calcium, Malondialdehyde, Total anti-Oxidants في الإدرار المرضى المصابين بحصى

#### الكلية مقارنة بالمجموعة الاصحاء حسب BMI

لكلا الجنسين ونقص مستويات مضادات الاكسدة [43] أكد الباحثون في دراساتهم ان زيادة تركيز UA في الإدرار يعزى اما الى اضطرابات في الجهاز الهضمي [37] أو الى النظام الغذائي غير المتوازن بين الأغذية النباتية والحيوانية الحاوية على البيورين الرجال أكثر معرضة للإصابة بالنقرس الذي يسببه حامض اليوريك [39] أو بسبب قلة حجم و درجة الحموضة ادرار نتيجة لقلة شرب السوائل خاصة الماء [45] وأكدت الدراسات الى أن زيادة تركيز الكالسيوم في الإدرار له اساس وراثي لكلا الجنسين [46].

#### 6.3: تقدير مستويات Calcium, Uric acid, Malondialdehyde, Total anti-Oxidants حسب الجنس

في إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية مقارنة مع مجموعة الاصحاء

أظهرت النتائج في الجدول (6) ارتفاع مستويات (MDA, U.A, Ca.) وانخفاض مستويات TAC في إدرار المرضى المصابين بحصى الكلية لكلا الجنسين مقارنة مع مجموعة الاصحاء عند مستوى الاحتمالية ( $P < 0.05$ ) هذه النتائج جاءت مطابقة الدراسات [44]. أكدت الدراسات ان ارتفاع MDA يعزى الى زيادة بيروكسيد الدهون

جدول (6) : مستويات Uric acid, Calcium, Malondialdehyde, Total anti-Oxidants في إدرار المرضى المصابين بحصى

#### الكلية مقارنة بالمجموعة الاصحاء حسب SEX

Biochemical test	Sex	Male	Female	Statistical Evaluate
	Group	Mean±S.E.	Mean±S.E.	
TAC ( $\mu\text{mol} / \text{l}$ )	Control (N=10)	104.87 ± 4.926	94.75 ± 8.680	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	48.47 ± 4.482**	45.66 ± 7.39**	$P \leq 0.05$
MDA (nmol /l)	Control (N=10)	88.11 ± 4.670	90.45 ± 3.389	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	165.73 ± 6.370**	163.0 ± 4.711**	$P \leq 0.05$
Uric acid (mg/dl)	Control (N=10)	6.921 ± 0.171	6.684 ± 0.544	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	13.455 ± 0.300**	15.461 ± 0.251**	$P \leq 0.05$
Calcium (mg/dl)	Control (N=10)	6.515 ± 0.438	6.854 ± 0.264	$P \leq 0.05$
	Patient (N=15)	9.121 ± 0.960**	8.011 ± 0.570**	$P \leq 0.05$

\* فروقات معنوية / \*\* فروقات معنوية كبيرة

#### المصادر

- Schulsinger, D. A. (Ed.). (2014). *Kidney Stone Disease: Say NO to Stones!*. Springer.
- Moran, M. E. (2014). A History of Histories. In *Urolithiasis* (pp. 1-3). Springer New York.
- Parker, J. N., & Parker, P. M. (2002). *The Official Patient's Sourcebook on Peyronie's Disease*.
- Aggarwal, K. P., Narula, S., Kakkar, M., & Tandon, C. (2013). Nephrolithiasis: molecular mechanism of renal stone formation and the critical role played by modulators. *BioMed research international*, 2013.
- Tamošaitytė, S., Hendrixson, V., Želvys, A., Tyla, R., Kučinskienė, Z. A., Jankevičius, F., ... & Šablinskas, V. (2013). Combined studies of chemical composition of urine sediments and kidney stones by

- means of infrared microspectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 18(2), 027011-027011.
- Armstrong, D. (2015). Preface. Advanced protocols in oxidative stress III. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*, 1208, v.
- Jakob, U., & Reichmann, D. (2013). Oxidative Stress and Redox Regulation (pp. 1-42). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Shahidi, F. (Ed.). (2015). *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. Woodhead Publishing.
- Armstrong, D. (2015). Advanced Protocols in Oxidative Stress III. *Methods in Molecular Biology*.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological

- marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316-328.
- 11- Balat, A., Resic, H., Bellinghier, G., & Anarat, A. (2012). Devil's Triangle in Kidney Diseases: Oxidative Stress, Mediators, and Inflammation. *International journal of nephrology*, 2012.
- 12- Miller, J., Le Prell, C. G., & Rybak, L. (2015). Free Radicals in ENT Pathology. *Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice*.
- 13- Laher, I. (Ed.). (2014). *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. Springer.
- 14- Korotkova, I. V., Nikolaeva, M.A., Bozhedomov, V. A., Golubeva, E. L., Krutskikh, A. Y., Ter-Avanesov, G. V., & Sukhikh, G. T. (2001). Free radical generation in ejaculate samples from infertile patients. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 131(6), 555-557.
- 15- Silva, F. Moreira da, Marques, A. and Chaveiro, A. Reactive Oxygen Species: A Double-Edged Sword in Reproduction. *Angra do Heroísmo, Portugal : The Open Veterinary Science Journal*, 2010, Vol. 4, pp. 127-133.
- 16- Sørensen, G., & Jørgensen, S. S. (1996). A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 202(3), 205-210.
- 17- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- 18- Moron, M. S., Joseph W. Depierre And Bengt Mannervik. *Levels Of Glutathione, Glutathione Reductase And Glutathione S-Transferase Activities In Rat Lung And Liver*. Stockholm (Sweden) : Biochimica et Biophysica Acta, 1979, Vol. 582, pp. 70-71.
- 19- Goth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*, 196(2), 143-151.
- 20- Haide, R. F., Ewadh, M. J., & Al-Jaff, E. H. (2015). Biochemical Evaluation of Metabolically Active Urinary Stones.
- 21- Padalkar, R. K., Shinde, A. V., & Patil, S. M. (2012). Lipid profile, serum malondialdehyde, superoxide dismutase in chronic kidney diseases and type 2 diabetes mellitus. *Biomedical Research*, 23(2), 207-210.
- 22- Thamilselvan, S., Khan, S. R., & Menon, M. (2003). Oxalate and calcium oxalate mediated free radical toxicity in renal epithelial cells: effect of antioxidants. *Urological research*, 31(1), 3-9.
- 23- Mahmoud, R. H., Ewadh, M. J., & Al-Hamadani, K. J. (2009). Clinical Assessment of glutathione peroxidase and catalase to the status of malondialdehyde in urolithiasis. *Pak J Med Sci*, 25(5), 738-743.
- 24- Carrasco-Valiente, J., Anglada - Curado, F. J., Aguilar-Melero, P., Gonzalez-Ojeda, R., Muntane-Relat, J., Padillo-Ruiz, F. J., & Requena-Tapia, M. J. (2012). State of acute phase markers and oxidative stress in patients with kidney stones in the urinary tract. *Actas Urológicas Españolas (English Edition)*, 36(5), 296-301.
- 25- Khan, S. R. (2014). Reactive oxygen species, inflammation and calcium oxalate nephrolithiasis. *Translational andrology and urology*, 3(3), 256.
- 26- Mallikarjunappa, S., & Prakash, M. (2007). Urine protein thiols in chronic renal failure patients. *Indian Journal of Nephrology*, 17(1), 7.
- 27- Taylor, E. N., Stampfer, M. J., & Curhan, G. C. (2005). Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones. *Jama*, 293(4), 455-462.
- 28- Abdel-Halim, R. E. (2005). Urolithiasis in adults. Clinical and biochemical aspects. *Saudi medical journal*, 26(5), 705-713.
- 29- Powell, C. R., Stoller, M. L., Schwartz, B. F., Kane, C., Gentle, D. L., Bruce, J. E., & Leslie, S. W. (2000). Impact of body weight on urinary electrolytes in urinary stone formers. *Urology*, 55(6), 825-830.
- 30- Singh, D., Kaur, R., Chander, V., & Chopra, K. (2006). Antioxidants in the prevention of renal disease. *Journal of medicinal food*, 9(4), 443-450.
- 31- AL-Jaff, E. H., Smaism, M. F., & Ali, S. A. (2015). Clinical and Biochemical Study in urinary stone patients in Babylon Province.
- 32- Kaniaw R. K. (2013). A study of some physiological and biochemical changes in renal stone former patients, Msc thesis, Vol. 3(A), No.1,( pp.9-14).
- 33- Mahmoud, R. H., Ewadh, M. J., & Al-Hamadani, K. J. (2009). Roles of Malondialdehyde and Catalase in Serum of Urolithiasis. *Medical Journal of Babylon*, 6(1), 147-153.
- 34- Chen, L., Zhang, X., Hao, T., Liang, R., Man, S. Y. B., Huang, G., & Tang, S. (2016). Research progress on antioxidant activity of natural products . *European Journal of Bio Medical Research*, 2(1), 36-40.
- 35- Khan, S. R. (2013). Reactive oxygen species as the molecular modulators of calcium oxalate kidney stone formation: evidence from clinical and experimental investigations. *The Journal of urology*, 189(3), 803-811.
- 36 - Prakash, M., Shetty, J. K., Dash, S., Barik, B. K., Sarkar, A., Awanti, S. M., & Prabhu, R. (2008). Urinary protein thiols in different grades of proteinuria. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 23(4), 404-406.
- 37- Massey, L. K. (1995). Dietary salt, urinary calcium, and kidney stone risk. *Nutrition reviews* 53(5), 131-134.
- 38- Dhanakoti, S. N., & Draper, H. H. (1987). Response of urinary malondialdehyde to factors that stimulate lipid peroxidation in vivo. *Lipids*, 22(9), 643-646.



- 39 - Siener, R., & Hesse, A. (2003). The effect of a vegetarian and different omnivorous diets on urinary risk factors for uric acid stone formation. *European journal of nutrition*, 42(6), 332-337.
- 40- Sarica, K., Altay, B., & Erturhan, S. (2008). Effect of being overweight on stone-forming risk factors. *Urology*, 71(5), 771-774.
- 41- Qaader, D. S., Yousif, S. Y., & Mahdi, L. K. (2006). Prevalence and etiology of urinary stones in hospitalized patients in Baghdad.
- 42- Tungsanga, K., Sriboonlue, P., Futrakul, P., Yachantha, C., & Tosukhowong, P. (2005). Renal tubular cell damage and oxidative stress in renal stone patients and the effect of potassium citrate treatment. *Urological research*, 33(1), 65-69.
- 43- Thamilselvan, S., Hackett, R. L., & Khan, S. R. (1997). Lipid peroxidation in ethylene glycol induced hyperoxaluria and calcium oxalate nephrolithiasis. *The Journal of urology*, 157(3), 1059-1063.
- 44- Shavit, L., Ferraro, P. M., Johri, N., Robertson, W., Walsh, S. B., Mochhala, S., & Unwin, R. (2015). Effect of being overweight on urinary metabolic risk factors for kidney stone formation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 30(4), 607-613.
- 45- Sofia, N. H., & Walter, T. M. (2016). PREVALENCE AND RISK FACTORS OF KIDNEY STONE. *Global Journal For Research Analysis*, 5(3).
- 46- 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.

## Role Oxidative stress in formation Of kidney stones

Sabah H. khurshid<sup>1</sup>, Sherko M. Sharif<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology , College of Education pure Sciences , Kirkuk University , Kirkuk , Iraq.

<sup>2</sup> Department of Chemistry , College of Education pure Sciences , Tikrit University , Tikrit , Iraq

### Abstract

The study includes (90) people of males and females, whom (30) healthy peoples (16 males, 14 females) and (60) patients have kidney stones (33 males, 27 females) that aged ranged from (20 – 62) years.

The study was conducted to evaluated (MDA, SOD, Catalase ,total concentration of thiols, total concentration of protein and albumin) in blood serum of kidney stone patients. Also evaluated level of TAC, MDA, and Biochemical test (uric acid and Calcium) for 24 hours urine collection.

The study showed significantly increase concentration of (MDA) that value in the serum of patients (48.813±6.614nmol/l) compared with control groups (17.689±4.176 nmol/l) in addition to significantly decrease in the level of (SOD, Catalase, total thiols, total proteins and albumin) in blood serum of patients, They were (39.46±6.95 U/ml), (293.5±26.08KU\l), (223.9±18.39µmol/ml), (6.584±0.532g\dl), (3.325±0.29 mg/dl) compared with control (64.52±8.42 U/ml), (509.01±43.41 KU\l), (401.36±37.42 µmol/ml), (8.500±0.321 g\dl), (4.5173±0.26 mg/dl) respectively at the level of probability (P ≤ 0.05)

The study also showed the presence of a significantly increase concentration of MDA, Uric acid, Calcium of urine patients they were (166.0±8.103nmol/l), (14.27±1.511mg/dl), (9.126±1.731mg/dl) comparing with controlling group which were (88.62±6.002 nmol/l), (6.671±0.561 mg/dl), (6.946±0.904 mg/dl) respectively, the significantly decrease of the level of total anti-Oxidants in the urine of patients of urinary stones (45.90±8.063 µmol\l) compared with controlling group (98.0±12.757µmol\l) ,The highest incidence of urinary tract stones in the age group (31- 40) years and that the high percentage prevalence of kidney stones in male group (55%) compared with a female groups (45%).