

دراسة في بعض وظائف الكبد ومستوى الاستجابة المناعية الخلوية غير المتخصصة عند مرضى حصى الكلى والحالب والمثانة في محافظة بابل

Study in some of the liver's functions and level of non specific immune response in the patients of kidney, ureter and urinary bladder stones in Babylon governorate

م.م. عماد هادي حميد
كلية العلوم للبنات / جامعة بابل

الخلاصة :-

اشتملت هذه الدراسة على عينات دم اصحاء (مجموعة سيطرة) وعينات دم مرضى السبيل البولي (حصى الكلى وحصى الحالب وحصى المثانة). وقد أظهرت التحليلات المختبرية لمستوى الكرياتينين (cr) واليوريا (ur) ارتفاع في مستوياتها في امصال - مرضى الحالب والكلى والمثانة- وبفروق معنوية مقارنة بمجموعة السيطرة. كما أظهرت الدراسة انخفاض واضح في مستوى البروتين الكلي (TP) ومستوى الالبومين (A) في مصول المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة. كما شملت الدراسة معرفة التأثير في النسب الفرعية للعدد التفريقي لكريات الدم البيض حيث وجد ان هنالك انخفاضا ملحوظا في اعداد الخلايا العدلة والقعدة واللمفية والخلايا وحيدة النواة مقارنة بمجموعة لسيطرة.

Summary:-

this study included test 42 of Blood samples 12 of them taken from a healthy person as a control sample versus 30 samples taken from patients suffered from kidney , ureter and urinary bladder Stone. The analysis appeared high levels of (cr) and (ur) in serums of kidney , ureter and urinary bladder stones with significant increase comparison with control groups . also this stud appeared disease increase in the levels of (TP) and Albumin (A) in the serums of disease comparison with control group. At this time we are confirmed signs ficant increase in the levels of GOT and GPT enzymes comparison with control group. And this study included the effectiveness of on the Differential Leukocytes count in it's found that significant decrease in the numbers of neutrophils , Basophils , lymphocyty , and Monocytes in comparison with control groups.

المقدمة:-

يعد الجهاز البولي (urinary system) احد اهم اجهزة الاخراج في الانسان والذي يتالف من الكليتين والحالبان والمثانة البولية والكليّة (kidney) هي غدة نيبية مركبة , كما تعد احد اعضاء الاخراج المهمة في الانسان , فهي تخلص الدم من المواد الزائدة كالنواتج النايتروجينية النهائية السامة مثل اليوريا والكرياتين , وغيرها من الدم والنسيج (Griffth M.,1981) .
فحوصات وظائف الكلية :

فحص الكرياتينين واليوريا:- الكرياتينين يترشح بواسطة الكبيبات الكلوية Glumeroli من دون اعادة امتصاصه من قبل الانابيب الكلوية وي طرح خارجا مع البول , لذا فان مستوى الكرياتينين يرتفع اذا كان هنالك تلفا كبيرا في الكلية يمنعها من الترشيح وطرح الفضلات وبالتالي فان تقدير تركيزه في مصل الدم يساعد في تشخيص امراض الكلية بمختلف انواعها. (Raap.1972). أما اليوريا فتمتاز باعادة امتصاصها جزئيا من خلال الانابيب الكلوية بعملية الترشيح الكلوي لذلك لا يعتمد عليها تقييم وظيفة الترشيح الكلوي لذا فان تقدير تركيز اليوريا يطلب دائما جنبا الى جنب مع تقدير تركيز الكرياتينين حيث انهما يساعدان في تشخيص امراض الكلى بمختلف انواعها (Matteucci,et.al,1991).

فحص بروتين الدم والالبومين: يرتفع مستوى البروتينات في مصل الدم hyperproteimia في حالات الجفاف Hydration الناتجة عن نقص تناول الماء او الاسهال الشديد او حالات البول السكري (Price,1982) كما يرتفع مستوى البروتين الكلي في حالة الامراض السرطانية , وان زيادة مستوى البروتين الكلي ينتج عن زيادة الكويولينات لا سيما كاما كلوبين (Matteucci,et.al,1991). بينما ينخفض مستوى البروتين الكلي hyperproteimia في حالة امراض الكلى نتيجة للتلف الحاصل في نسيج الكلية مما يؤدي الى فقدان وتسرب الالبومين بكميات كبيرة من خلال نسيج الكلية التالف (Price,1982)

أما الألبومين فقد ينخفض مستواه في مصل الدم بسبب عوامل عديدة منها امراض الكلية حيث يفقد بكميات كبيرة بسبب الترشيح خلال الكبيبات (Guder and Heidland,1982) كما ينخفض البومين المصل اذا كان هناك تلف او نقص في اساس تكوينه في الكبد كما في حالة داء الكبد المزمن (التشمع Cirrhosis) سوء التغذية وسوء الهضم يؤدي الى نقص في الاحماض الامينية الممتصة ومن ثم عدم توفرها لتكوين الالبومين. فحصى أنزيمي Glutamic-oxaloacetate Transaminase (GOT) و Glutamic-pyruvate Transaminase (GPT) - يوجد كل من أنزيمي (GOT) و (GPT) بصورة طبيعية في عدد من الأنسجة الجسمية ولكن توجد تراكيز عالية في الخلايا الكبدية (Matteucci and Giampetro 1994) Hepatocytes. يرتفع أنزيمي (GOT) و (GPT) في أمراض عديدة منها احتشاء العضلة القلبية وقصور القلب بسبب التلف الحاصل في عضلة القلب. كما يرتفع في حالات انسداد القنوات

الصفراوية Hepatic Biliary Obstruction ومرض الالتهاب البنكرياسي الحاد Acute pancreatitis. إن تأثر أعضاء السبيل البولي بالالتهابات نتيجة تنخر خلايا أو تطور الإصابة يؤدي إلى تسرب هذين الأنزيمين بسهولة إلى مصل الدم (Jones D.D. and Robert E.L.1983).

المواد و طرائق العمل:-

جمع وفحص العينات sample collection and examination:

أ. العينات المرضية: جمعت خلال البحث 30 حالة مرضية من حصى السبيل البولي اعتماداً على تشخيص الأطباء الأخصائيين في جراحة وعلاج أمراض الجهاز البولي في (مستشفى مرجان التخصصي ومستشفى الحلة الجراحي) وقد قسمت إلى ثلاث مجاميع:- المجموعة الأولى: مرضى حصى الكلى: وشملت (14) حالة مرضية (8) ذكور و(6) إناث. المجموعة الثانية: مرضى حصى الحالب: وشملت (5) حالة مرضية (3) ذكور و(2) إناث. المجموعة الثالثة: مرضى حصى المثانة: وشملت (11) حالة مرضية (6) ذكور و(5) إناث.

ب. عينات مجموعة السيطرة: تم الحصول عليها من أشخاص طبيعيين وبلغت (12) عينه (6) ذكور و(6) إناث.

الفحص المخبري Biochemical Test

أولاً: فحص المستوى الكرياتينين creatinine Level (cr) استخدم في قياس مستوى الكرياتينين في مصل الدم العدة الجاهزة (kit) وحسب ما جاء في (Gusti and Galanti , 1984)

المواد :- R1 :- peric acid

Alkaline buffer :- R2

creatinine standard :- R3

معادلة قياس مستوى الكرياتينين

$$\text{(serum plasma)} \quad \frac{(A2-A1)\text{sample}}{(A2-A1)\text{standard}} \text{standard} = \text{mg / dl creatinin}$$

ثانياً: فحص مستوى اليوريا (ur) urea Level استخدم عدة اختبار جاهزة (kit) وحسب ما جاء في (Gusti and Galanti , 1984)

الانابيب المحالييل	انبوبة الكفيء	الانبوبة القياسية	انبوبة العينة
المحلول القياسي	—	10 µL	
المصل	—		10 µL
محلول العمل (R2-R3)	1 مل	1 مل	1 مل
	تخزن وتترك على الأقل لفترة 3 دقائق عند درجة حرارة 37 م°		
الكاشف القاعدي	µL200	µL200	µL200

تمزج وتترك لفترة 5 دقائق عند درجة حرارة 37 م° ثم تقرا الامتصاص عند طول موجي (580 nm).

$$\text{تركيز اليوريا في مصل الدم (ملغم / ملم)} \times 100 = 50 \times \frac{\text{امتصاصية العينه}}{\text{امتصاصية القياسي}}$$

ثالثاً: قياس مستوى البروتين الكلي (Total protein Level (Tp): إضافة 0.1 مل من الماء المقطر الى 5 ملم محلول البايورتي. تحضير انبوبة الفحص: إضافة 0.1 مل من المصل المراد قياسه الى 5 ملم محلول البايورتي. تخلط بواسطة الانابيب وتركت لمدة 30 دقيقة بدرجة 37 م° تم قراءة الكثافة الضوئية لانبوب الفحص على الطول الموجي 540 نانوميتر بعد تصغير الجهاز باستعمال انبوبة السيطرة.

رابعاً: قياس مستوى الالبومين (Albumin (A) : حسب مستوى الالبومين في المصل وفقاً لما جاء في (Gusti and Galanti , 1984)

	Blank	standard	Sample
R(ml)	1.0	1.0	1.0
Standard vot (62) ml	-	5	-
Sample (ml)	-	-	5

تمتزج وتحضن 15 دقائق في درجة حرارة 25°C تقرا امتصاصية الاليومين لعينه الفحص والعينة القياسية. خامسا : الفحص المختبري المستوى فعالية انزيم Glutamic-pyruvate Transaminase(GPT) قيست فعالية هذا الانزيم وفقا للطريقة التي ذكرها (Gusti and Galanti , 1984)

المواد	انبوبة الصيغة	انبوبة الكفيء (Blank)
المصل	0.1 سم 3	—
Buffer Gpt	0.5 سم 3	0.5 سم 3
D.W.	-	0.1 سم 3
يمزج جيدا , ويحضن بدرجة حرارة 37 م ° لمدة 30		
2,4-DNP	0.5 سم 3	0.5 سم 3
يمزج جيدا , ويحضن بدرجة حرارة 37 م ° لمدة 30		
NaoH	5 سم 3	5 سم 3
يمزج وتقرأ الاقتصادية على طول موجي 560 نانوميتر		

الحسابات : حسب النتائج النهائية للفحص بمقارنتها مع جداول قياسية معتمدة عالميا .

سادسا : تقدير مستوى فعالية انزيم Glutamic-oxaloacetate Transaminase GOT

طريقة العمل : اعتمدت نفس الطريقة السابقة الواردة في الفقرة خامسا في حساب GOT .

سابعا : احتساب النسبة المئوية لخلايا الدم البيضاء (DLC) Differential Leukocytes count

1. توضع قطرة من الدم المراد فحصه مسحوبة بواسطة انبوبة زجاجية شعرية (capillary glass) في منتصف شريحة زجاجية وعلى بعد 1 سم من حافة الشريحة. باستعمال شريحة زجاجية اخرى يتم نشر قطرة الدم بتحريكها للخلف وبزاوية 30 درجة .
3. اترك الشريحة الزجاجية الحاوية على مسحة الدم لتجف بالهواء. اغمر الشريحة بصيغة لثمن لمدة دقيقتين. اغسل الشريحة بالماء المقطر D.W. واتركها خمس دقائق لتجف. افحص بالعدسة الزيتية (Oil immersion) واحسب 100 خلية بيضاء وسجل النسبة المئوية لكل نوع من الخلايا البيضاء .

النتائج والمناقشة : -

جدول (1) معدل قيم الكرياتينين (cr) في مصل مرضى حصى السبيل البولي .

الكلية Total		اناث females		ذكور males		المجاميع
Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	
1.66 ± 0.38	14	1.63 ± 0.37	6	1.69 ± 0.39	8	حصى الكلية
1.64 ± 0.36	5	1.63 ± 0.37	2	1.65 ± 0.36	3	حصى الحالب
1.53 ± 0.29	11	1.62 ± 0.32	5	1.44 ± 0.25	6	حصى المثانة
0.87 ± 0.25	12	0.79 ± 0.17	6	0.95 ± 0.29	6	مجموعة السيطرة

تبين من الدراسة تأثيراً واضحاً لخصى السبيل البولي على المستويات المختلفة للكرياتينين واليوريا والألبومين والبروتين الكلي فضلاً عن مستوى أنزيمي GOT و GPT وهنا تشير نتائج هذه الدراسة وكما هو موضح في جدول (1) ارتفاع مستوى الكرياتينين (Cr) لمرضى حصى الكلية وحصى الحالب وحصى المثانة إذ بلغت معدلاتها في الذكور (1.89 ± 0.39) و (1.65 ± 0.36) , (1.44 ± 0.25) على التوالي مقابل (1.63 ± 0.37), (1.63 ± 0.37), (1.62 ± 0.23) على التوالي للإناث بفرق معنوي $p < 0.05$ بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. إن فحص الكرياتينين من العلامات التشخيصية المهمة والمعول عليها في فحص وظائف الكلية Renal Function لأنه من النواتج الأيضية عديمة الفائدة والتي لا يعاد امتصاصها في أنابيب الكلية, إلا أنه عندما يرتفع مستوى الكرياتينين (Cr) في الدم تساهم الأنابيب الكلوية في طرحه لذا فإن أي تلف أو تغيير فسلجي في الكلية يؤثر على وظائفها ومن ثم يؤدي إلى ارتفاع مستوى (Cr) في مصل الدم (Raap, 1972).

جدول (2) معدل قيم اليوريا (ur) في مصل مرضى حصى السبيل البولي .

الكلية Total		اناث females		ذكور males		المجاميع
Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	
49.0 ± 25.0	14	48.0 ± 25.0	6	49.0 ± 25.0	8	حصى الكلية
48.0 ± 25.0	5	48.0 ± 25.0	2	48.0 ± 25.0	3	حصى الحالب
45.0 ± 23.0	11	43.0 ± 23.0	5	4.0 ± 24.0	6	حصى المثانة
28.6 ± 11.3	12	27.0 ± 11.00	6	29.5 ± 12.7	6	مجموعة السيطرة

تأثير خصى السبيل البولي على مستوى اليوريا (Ur) في مصل الدم: أظهرت نتائج الدراسة هذه ارتفاعاً في مستوى اليوريا (Ur) في مصل الأشخاص المصابين بأمراض السبيل البولي حيث يعتبر فحص اليوريا فحصاً مهماً فضلاً عن فحص الكرياتينين في تقييم وظيفة الكلية وان ارتفاع اليوريا في مصل الدم يشير إلى حجم الضرر الحاصل في أداء الكلية لوظيفتها. إذ سجلت ارتفاعاً لقيم تركيز اليوريا الكلية حيث تراوحت بين (49.0 ± 25.0) لمرضى حصى الكلية و(48.0 ± 25.0) لمرضى حصى الحالب و(46.0 ± 24.0) لمرضى حصى المثانة للذكور مقابل (0.84 ± 25.0) و(48.0 ± 25.0) و(93.0 ± 23.0) من التركيز الكلي على التوالي للإناث وبفارق معنوي $p < 0.05$ مقارنة بمجموعة السيطرة.

جدول (3) معدل قيم تركيز البروتين الكلي (غم/لتر) في امصال مرضى حصى السبيل البولي .

الكلي Total		اناث females		ذكور males		المجاميع
Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	
6.02 ± 0.8	14	6.01 ± 0.8	6	6.03 ± 0.8	8	حصى الكلي
6.10 ± 0.82	5	6.10 ± 0.82	2	6.11 ± 0.82	3	حصى الحالب
6.15 ± 0.82	11	6.11 ± 0.82	5	6.20 ± 0.82	6	حصى المثانة
7.2 ± 0.93	12	7.1 ± 0.95	6	7.4 ± 0.96	6	مجموعة السيطرة

تأثير حصى السبيل البولي على مستوى البروتين الكلي في المصل: تشير نتائج هذه الدراسة كما موضح في جدول (3) إلى انخفاض واضح في مستوى البروتين الكلي (Tp) حيث تراوحت بين (06.03 ± 0.8) لمرضى حصى الكلي و(6.11 ± 0.82) لمرضى حصى الحالب و(6.20 ± 0.82) لمرضى حصى المثانة للذكور مقابل (6.01 ± 0.8) و(6.10 ± 0.82) و(6.11 ± 0.82) من التركيز الكلي على التوالي للإناث وبفارق معنوي $p < 0.05$ مقارنة بمجموعة السيطرة . وكانت النتائج هذه موافقة للنتائج التي توصل لها الباحث كروز وجماعته وقد أعزى سبب هذا الانخفاض إلى تضرر الكلية و تسرب وفقدان البروتين والألبومين وبكميات كبيرة خلال النسيج المتضرر (Kruse,et.al,1984).

جدول (4) معدل قيم تركيز الالبومين (A) في امصال مرضى حصى السبيل البولي .

الكلي Total		اناث females		ذكور males		المجاميع
Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	
3.21 ± 0.56	14	3.04 ± 0.4	6	3.05 ± 0.4	8	حصى الكلي
3.19 ± 0.5	5	3.18 ± 0.5	2	3.20 ± 0.51	3	حصى الحالب
3.18 ± 0.5	11	3.17 ± 0.5	5	3.20 ± 0.51	6	حصى المثانة
4.20 ± 0.61	12	4.10 ± 0.6	6	4.30 ± 0.63	6	مجموعة السيطرة

تأثير حصى السبيل البولي على مستوى الألبومين في المصل: تشير نتائج هذه الدراسة كما موضح في جدول (4) إلى انخفاض واضح في مستوى الألبومين حيث تراوحت بين (3.05 ± 0.4) لمرضى حصى الكلي و(3.20 ± 0.51) لمرضى حصى الحالب و(3.20 ± 0.51) لمرضى حصى المثانة للذكور مقابل (3.04 ± 0.4) و(3.18 ± 0.5) و(3.17 ± 0.5) على التوالي للإناث.

جدول (5) معدل مستوى انزيم (GPT) Glutamic-pyruvate Transaminase في امصال مرضى حصى السبيل البولي .

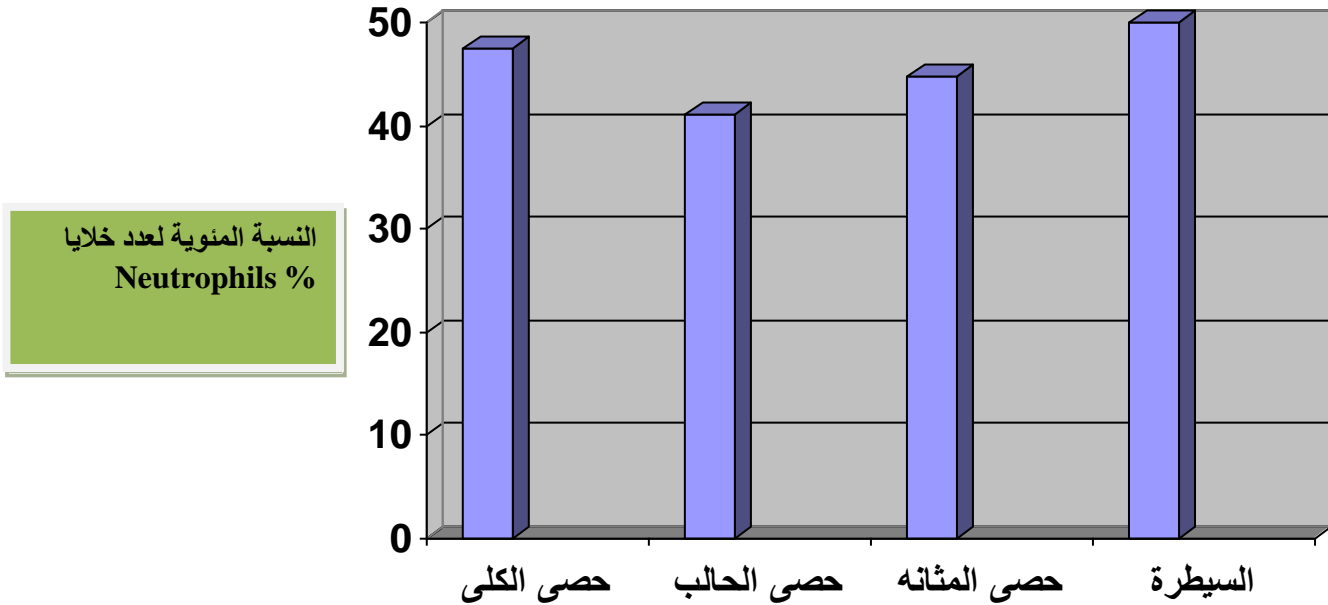
الكلي Total		اناث females		ذكور males		المجاميع
Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	
55.23 ± 4.8	14	52.10 ± 4.8	6	58.33 ± 4.9	8	حصى الكلي
35 ± 3.1	5	35.6 ± 3.1	2	35.6 ± 3.1	3	حصى الحالب
18.4 ± 2.5	11	17.00 ± 2.2	5	20.6 ± 2.7	6	حصى المثانة
5.8 ± 1.47	12	15.8 ± 1.4	6	15.8 ± 1.4	6	مجموعة السيطرة

جدول (6) معدل مستوى أنزيم (GOT) Glutamic-oxaloacetate Transaminase في امصال مرضى حصى السبيل البولي

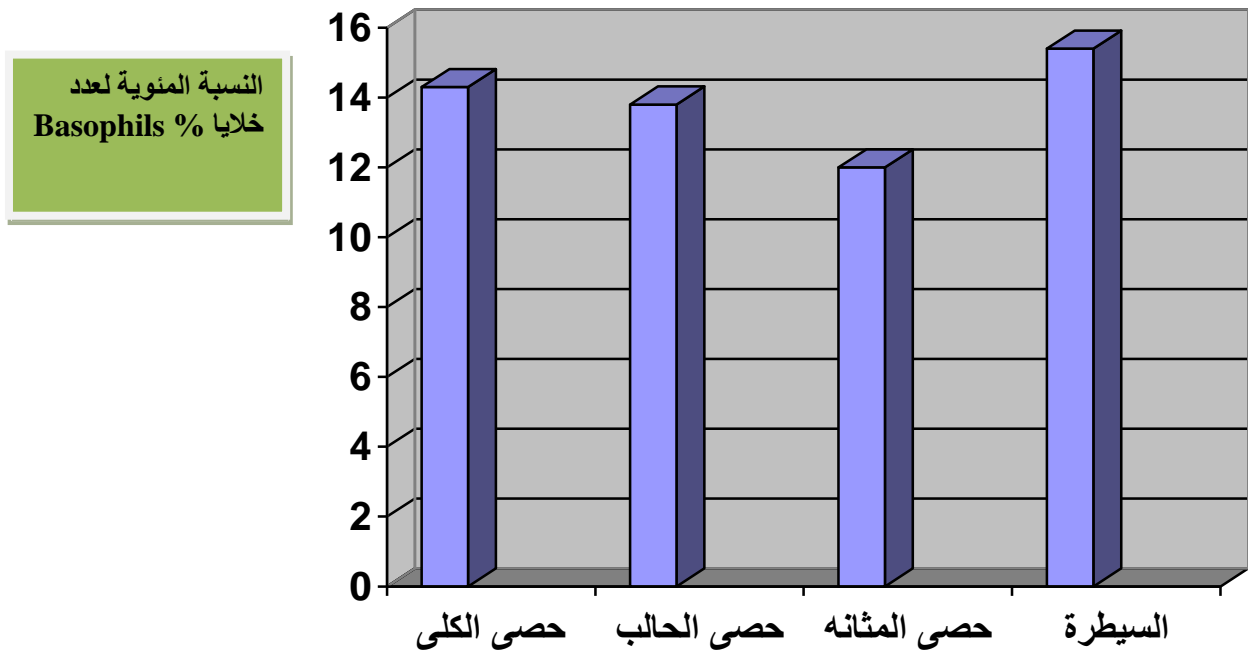
الكلية Total		اناث females		ذكور males		المجموع
Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	Mean ±SD	No.	
51.8 ± 4.4	14	52.8 ± 4.4	6	51.8 ± 4.4	8	حصى الكلية
39.1 ± 3.8	5	38.00 ± 3.8	2	40.2 ± 3.9	3	حصى الحالب
29.6 ± 2.4	11	30.01 ± 2.4	5	29.2 ± 2.4	6	حصى المثانة
12.05 ± 1.4	12	12.00 ± 1.3	6	13.3 ± 1.7	6	مجموعة السيطرة

تأثير أمراض حصى السبيل البولي على مستوى فعالية أنزيمي (GPT) و (GOT): تشير نتائج هذه الدراسة وكما هو موضح في الجدولين (5) و(6) إلى ارتفاع معنوي $p < 0.05$ لقيم أنزيمي (GPT) و (GOT) بين مرضى حصى الكلية والحالب والمثانة حيث بلغ مستوى فعالية أنزيم (GPT) للذكور (58.33 ± 4.9), (35.6 ± 3.1), (20.6 ± 2.7) مقابل (52.10 ± 4.8), (35.6 ± 3.1), (17.00 ± 2.2) للإناث على التوالي. أما مستوى أنزيم GOT فقد سجل ارتفاعاً واضحاً هو الآخر في مرضى حصى السبيل البولي مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة حيث بلغ للذكور (51.8 ± 4.4), (40.2 ± 3.9), (29.2 ± 2.4) مقابل (52.8 ± 4.4), (38.00 ± 3.8), (30.01 ± 2.4) للإناث على التوالي. قد يعزى هذا الارتفاع لهذين الانزيمين إلى الضرر الحاصل في نسيج أنسجة الجسم (نسيج الكلية والحالب والمثانة) وهذا مما يرفع من نسبة تحرر هذين الانزيمين في مصل الدم.

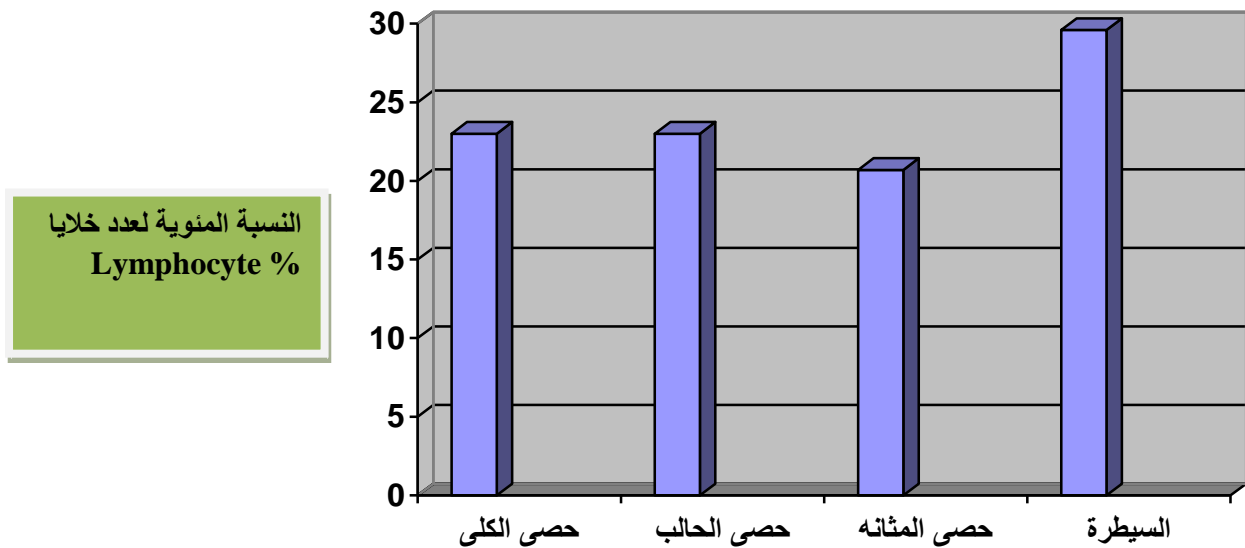
شكل (1) :- النسبة المئوية لعدد خلايا % (Neutrophils) بين مرضى حصى السبيل البولي ومجموعة السيطرة .



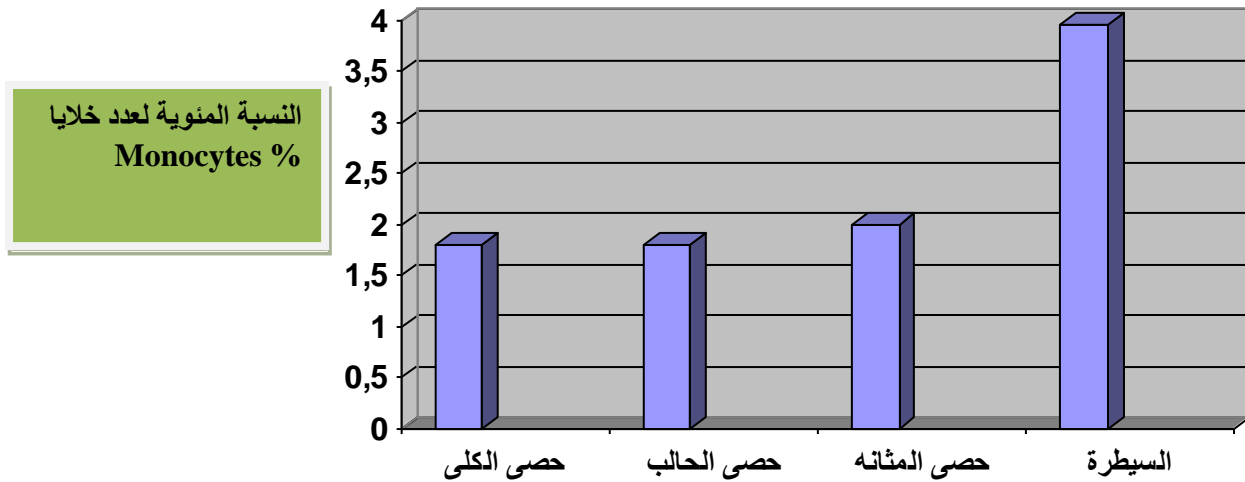
شكل (2) :- النسبة المئوية لعدد خلايا % (Basophils) بين مرضى حصي السبيل البولي ومجموعة السيطرة .



شكل (3) :- النسبة المئوية لعدد خلايا % (Lymphocyte) بين مرضى حصي السبيل البولي ومجموعة السيطرة .



شكل (4) :- النسبة المئوية لعدد خلايا % (Monocytes) بين مرضى حصى السبيل البولي ومجموعة السيطرة .



تأثير حصى السبيل البولي في أعداد خلايا الدم البيض: أظهرت النتائج أن هنالك انخفاضا طفيفا في العدد التقريبي لخلايا الدم البيض مقارنة بمجموعة السيطرة حيث سجلت أعداد الخلايا العدلة (Neutrophils) لمرضى حصى الكلى والحالب والمثانة بنسبة مئوية (47.5+1.3) و(41.1+0.3) و(44.8) % على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت (50+1.1) % شكل(1). في حين سجلت أعداد الخلايا العدلة Basophils للحالات المرضية الثلاث بنسبة مئوية (14.3+0.2) و(13.8+11) و(12+0.9) % على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت (15.4+0.5) % شكل(2). أما أعداد الخلايا اللمفاوية Lymphocytes للحالات المرضية الثلاث فقد سجلت نسبة مئوية (23+1.2) و(23+12) و(20.7+0.1) % على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت (29.6+0.6) % شكل(3). كما سجلت خلايا وحيدة النواة monocytes للحالات المرضية الثلاث نسبة مئوية (108+0.2) و(1.8+0.2) و(2.0+0.6) % على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت (3.96+0.3) % شكل(4).

References :

- 1.C.W.yang, S.J.Alm,J.Y.Woodand Y.S. Kim(1993).J.Kidney Int.44,190 .
- 2.Davidson, (1999).principle and praction of medicine , p:112 .
- 3Griffth M. ,(1981).Introduction to human physiology , Macmilan publishing company ,p663.
- 4.Guder W.G. and pelligrini L.(1991) How can temperature effect enzyme activities in urine enzyme , 46 : 35 – 51.
- 5.H.C.Kim,S.B.Lee,and K.G. Park , (1993) J. Kidney Int. 44,172 .
- 6.J.F,Zilva, R.peter, and P.R pannul,(1988).Clinical Chemistry of Diagnosis and Ttreatment,Lloyd Lukedlee .
- 7.Jones D.D. and Robert E.L.(1983). The Estimationof serum Glutamic-oxaloacetate Transaminase in kidney disease .J. Clin. Chem, 21:835-840 .
- 8.Krusek , kracht kruse U .(1984) Urinary Calicinm exeretion and screening for hyper caliciuria in children and adolescents.Eur J pediatri , 143 :25-31.
- 9.Matteucci E. and Giampetro O.(1994) Urine enzmes . kidmey.suppl 47:S58-S59.
- 10.Price , R.G.(1982) Urinary enzymes nephrotoxicity and renaldisease .toxicology , 23:99-134.
- 11.Raap.WP.(1972) Diagnostic value of urinary enzyme determinations clin –chem . 18:6.25.