----مجلة علوم الرافدين، المجلد 28، العدد 2عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث لعلوم الكيمياء، ص1-7، 2019----

دراسة سريرية لإنزيم الرودينيز لدى مرضى العجز الكلوي

ذكرى علي علوش
قسم الكيمياء/ كلية العلوم/ جامعة الموصل
نوال ذنون يونس
قسم العلوم التمريضية الأساسية/ كلية التمريض/ جامعة الموصل
رنا فاضل جاسم
قسم الكيمياء/ كلية التربية للبنات/ جامعة الموصل

(أستلم 16/ 8 /2018 ؛ قُبل 25/ 10/2018)

الملخص

تضمن البحث دراسة سريريه لإنزيم الرودينيز لدى مرضى العجز الكلوي وعلاقته ببعض المتغيرات الكيموحيوية في مجموعة المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بينت النتائج وجود ارتفاع معنوي في فعالية إنزيمي الرودينيز وميتالواندوبتايديز، وتراكيز اليوريا، والبوتاسيوم بينما وجد انخفاض معنوي في فعالية الإنزيمات سلفيت اوكسديز وثايوسلفيت اوكسديز والاريل استريز و تراكيز الألبومين والصوديوم مقارنة مع مجموعة السيطرة.

كما بينت النتائج وجود انخفاض معنوي في فعالية إنزيم الرودينيز لدى الذكور مقارنة مع الاناث في كل من مجموعتي المرضى والاصحاء.

ودرست العلاقة ما بين فعالية إنزيم الرودينيز والمتغيرات الكيموحيوية المقاسة بإيجاد معامل الارتباط الخطي. ووجدت علاقة خطية سالبة بين فعالية إنزيم الرودينيز وفعالية انزيمي سلفيت اوكسديز وثايوسلفيت اوكسديز، وتركيز الألبومين وكذلك وجدت علاقة خطية موجبة بين فعالية إنزيم الرودينيز وفعالية إنزيم ميتالواندوبتايديز، وتركيز اليوريا لدى مرضى العجز الكلوي.

يستنتج من البحث ان إنزيم الرودينيز يعد مؤشرا لمرض العجز الكلوي وله علاقة مع عدد من المتغيرات الكيموحيوية لدى مجموعة المرضى.

الكلمات الدالة: الرودينيز، سلفيت اوكسديز، ثايوسلفيت اوكسديز، الاريل استريز، العجز الكلوي.

Clinical Study of Rhodanese Enzyme in Renal Failure Patients

Thikra A. Al-Allwsh
Department of Chemistry/ College of Science/ University of Mosul
Nawal Th. Younis
Department of Basic Nursing Science/ College of Nursing/ University of Mosul
Rana F. Jasem
Department of Chemistry/ College of Education for Girls/ University of Mosul

ABSTRACT

The research involved clinical study of rhodanese enzyme and its relation with some biochemical parameters in renal failure.

The result demonstrated a significant increase in the activity of rhodanese and metallo-endopeptidase and in concentration of urea, and potassium while a significant decrease activity of sulfate oxidase, thiosulfate oxidase and arylesterase and in concentration of albumin and sodium in renal failure patients compared with control.

The results also demonstrated a significant decrease in the activity of rhodanese in male compared with female in each of patients and control groups.

Correlation coefficients between rhodanese and biochemical parameters of renal failure patients showed that activity of rhodanese has negative correlation with activity of sulfate oxidase, thiosulfate oxidase and concentration of albumin while appositive correlation with activity of metallo –endopeptidase and concentration of urea in renal failure patients.

These results provide evidence of a major role for rhodanese enzyme in renal failure, which led to consider it as a marker for renal failure and its relation with biochemical parameters in patients group.

Keywords: rhodanese, sulfate oxidase, thiosulfate oxidase, arylesterase, renal failure.

المقدمة

يعرف العجز الكلوي الحاد على انه الفقدان المفاجئ لقدرة الكلى على أداء وظيفتها الرئيسة في طرح الـسوائل الزائـدة والفضلات الموجودة في الدم، وقد يتطور المرض بمرور الوقت بفقدان وظيفة الكلى بظهور بعض الأعراض المزمنـة فـي مراحل مبكرة عندها يدعى المرض بالعجز الكلوي المزمنChronic kidney failure يؤدي مرض العجز الكلوي الى تغيير في تركيز بعض المتغيرات السريرية الموجودة في الدم (Mahendra *et al.*, 2007).

يعد الرديبنيز Rhodanese (Ec 2.8.1.1) من إنزيمات الحماية المهمة إذ يعمل على إزالة سمية السيانيد محـولا إياهـا إلى الثايوسيانيد Thiocayate الأقل ضررا مستخدما Thiosulfate كمادة أساس وكما موضح فـي المعادلـة أدنـاه: (Allwsh and Mohammad, 2009)

$$CN^- + S_2O_3^- \xrightarrow{\text{Rhodanese}} SCN^- + SO_3$$

ولهذا يطلق عليه أيضا (Thiosulfate sulfur ransferase)، يؤدي إنزيم الردنييز دورا في تكوين بروتينات الكبريت – الحديد وفي تحوير الانزيمات الحاوية على الكبريت ويتركز في الكلية والكبد وبتركيز اقل في الرئة والـدماغ والعـضلات والمعدة (Cipollone *et al.*, 2008).

وأشارت الدراسات (Hasuike *et al.*, 2004; Ansell and Lewis, 1970) إلى إن هذا التفاعل ضـروري لإزالـة سمية السيانيد داخل الجسم وان تثبيط إنزيم Rhodanese يؤدي إلى تراكم ايونات السيانيد عبر سلـسلة انتقـال الالكترونـات والفسفرة التاكسدية Phosphorlation ومن ثم إلى سمية المايتوكوندريا في خلايا الكبد لذا يعد هذا الإنزيم ضـروريا لإزالـة سمية السيانيد وتحويله الى الثايوسيانيد الذي يطرح عن طريق الادرار واللعاب والعرق الى خارج الجسم.

يهدف البحث الى تقدير فعالية إنزيم الردنييز في مصل دم المصابين بالعجز الكلوي ودراسة العلاقـة مـا بينـه وبـين المتغيرات الكيموحيوية لدى المرضى.

طرائق العمل

النماذج المستخدمة:

تم جمع (40) نموذج دم لأشخاص أصحاء تراوحت أعمارهم بين (25-65 year) ولكلا الجنسين (22) نموذجا للذكور و (18) نموذجا للإناث كما جمع (50) نموذج دم لأشخاص مصابين بمرض العجز الكلوي، للذكور بعدد (25) وللإناث بعـدد

(25) تراوحت أعمارهم بين (year 65-25) أيضا ولكلا الجنسين وقد شخصت حالتهم من قبل أطباء مختصين في مستـشفى ابن سينا التعليمي.

تحضير مصل الدم:

جمعت عينات الدم في أنابيب جافة ونظيفة في حمام مائي بدرجة 37 ولمدة 15 دقيقة بعدها تم فصل المحلول الرائق من الجزء المتخثر بجهاز الطرد المركزي بسرعة (4000g) ولمدة 10 دقائق حيث يمثل المحلول الرائق مصل الدم (Burtis and Ashwood, 1999)

تقدير المتغيرات الكيموحيوية في مصل الدم:

تم قياس المتغيرات الكيموحيوية في مصل الدم باستخدام الطرائق الموضحة في (الجدول 1) أدناه.

الجدول 1: المتغيرات الكيموحيوية المقاسة في مصل الدم

ت	المتغيرات الكيموحيوية المقاسة	طريقة القياس	المصدر
1	فعالية إنزيم Rhodanese U/ml	تكوين معقد الثايوسيانيد	(Urbanska *et al.*, 2002)
2	فعالية sulfate oxidase U/ml	باستخدام كاشف فيروسيانيد البوتاسيوم	(Woo *et al.*, 2003)
3	فعالية thiosulfate oxidase U/ml	تكوين كاشف فيروسيانيد البوتاسيوم	(Mark *et al.*, 1972)
4	فعالية Arylesterase µ mole /ml	باستخدام مادة الاساس فنيل اسيتيت	(Tomas *et al.*, 2000)
5	فعالية metalloendopeptidase U/ml	باستخدام مادة الاساس الكازئين	(Kanazawa and Johnston , 2007)
6	Albumin Conce. gm/100ml	باستخدام كاشف البروموكريسول الاخضر	(Annino and Giese, 1976)
7	Urea Conce. m mol/L	باستخدام الطريقة الانزيمية	(Toro and Ackermann , 1975)
8	Sodium, Potassium Conce. m mol/L	باستخدام تقنية طيف الانبعاث باللهب	(Bishop *et al.*, 2000)

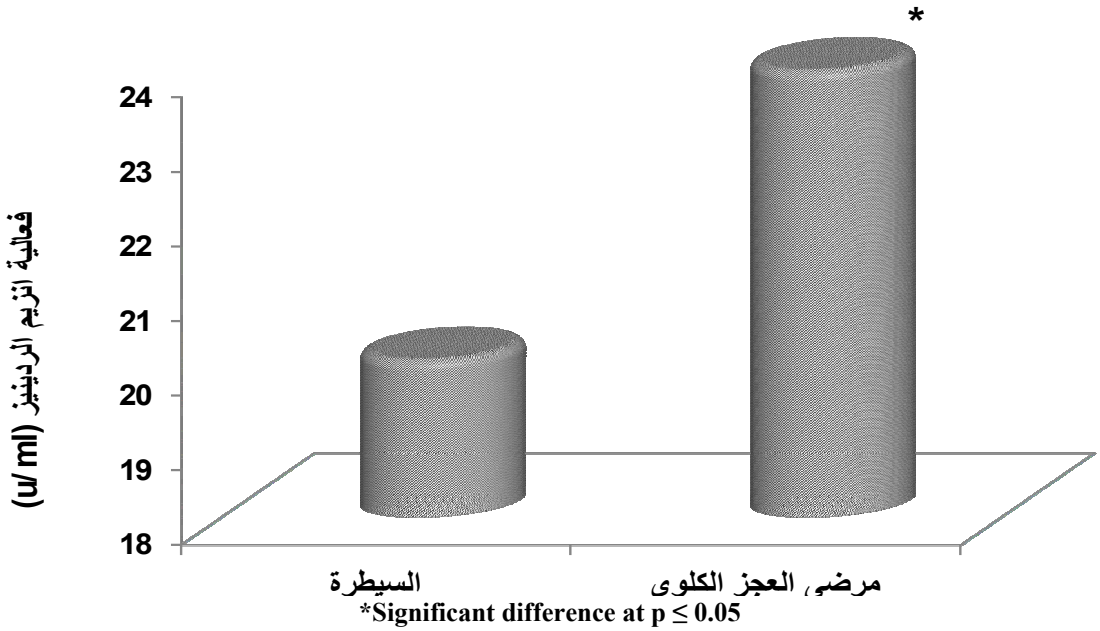
التحليل الإحصائي

تم إيجاد المعدل والانحراف القياسي وتحليل النتائج إحصائياً باستخدام اختبار T-test لبيان الاختلاف بـين مجمـوعتين وكذلك تم إيجاد معامل الارتباط الخطي Correlation coefficients لبيان العلاقة بين فعالية إنـزيم الرديني ـز والمتغيـرات الكيموحيوية المقاسة في مجموعة المرضى (Kirkwood, 1988).

النتائج والمناقشة

فعالية انزيم الرديناز في مجموعتي السيطرة والمرضى

يظهر الشكل (1) ارتفاعا معنويا في فعالية انزيم Rhodanese عند مـستوى الاحتماليـة$P\leq0.05$ لـدى مجموعـة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة وهذا ما اكده الباحثون (Hasuike *et al.*, 2004 ; Allwsh and younis , 2010) من زيادة نسبة الثايوسيانيد عند مرضى العجز الكلوي مما يشير إلى ارتفاع فعالية الانزيم من تحويله للسيانيد الى الثايوسيانيد الأقل سمية، وان الخلل في وظيفة الترشيح الكلوي لدى المرضى يؤدي إلى قلة استخلاص الثايوسيانيد في الجسم.

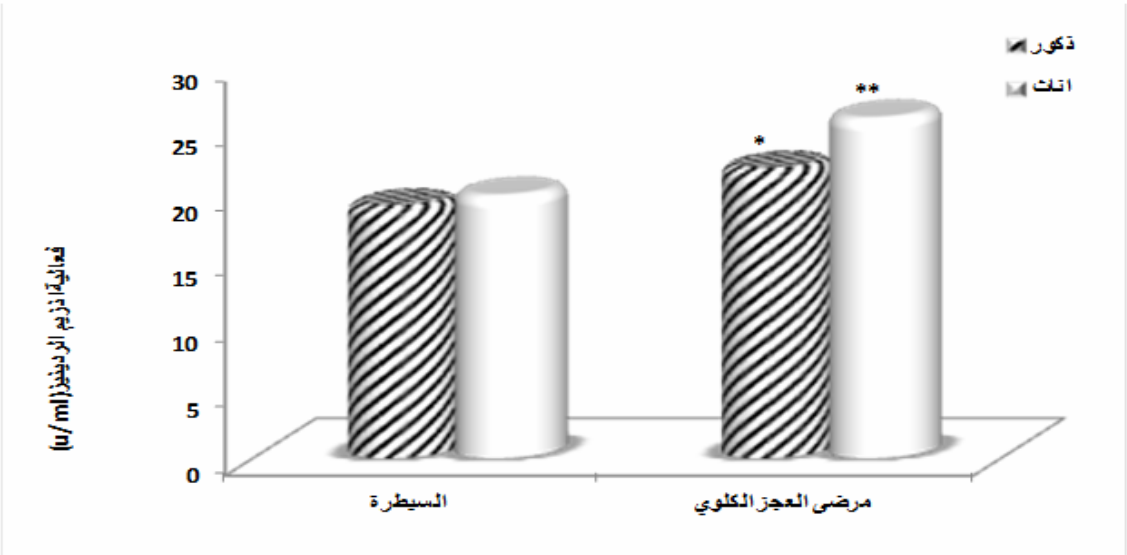


*Significant difference at $p \leq 0.05$

الشكل 1: فعالية إنزيم الرديناز في مجموعتي السيطرة والمرضى

تأثير الجنس على فعالية إنزيم الرديناز:

بينت النتائج في الشكل (2) إن هناك انخفاضا معنويا عند مستوى الاحتمالية $P \leq 0.05$ في فعالية إنـزيم Rhodanase لدى الذكور مقارنة بالإناث في مجموعة المرضى وهذه النتيجة تتفق مـع مـا جـاء بـه (Allwsh and younis, 2010; Hasuike *et al.*, 2004) من إن مستوى الثايوسيانيد عند الإناث أعلى من مستواه عند الذكور والذي يدل علـى إن فعاليـة الإنزيم أعلى في الإناث منه في الذكور. بينما لم يظهر فرق معنوي في فعالية إلانزيم بين الإنـاث والـذكور فـي مجموعـة السيطرة.



*Significant difference at $p \leq 0.05$, ** Significant difference at $p \leq 0.01$

الشكل 2: تأثير الجنس على فعالية إنزيم الرديناز في مجموعتي السيطرة والمرضى

المتغيرات السريرية المقاسة:

يبين (الجدول 2) أن هناك انخفاضا معنويا عند مستوى الاحتمالية P≤0.05 في فعالية إنزيم sulfate oxidase في مصل دم المرضى المصابين بالعجز الكلوي مقارنة مع معدل تركيزه في مصل دم مجموعة السيطرة وربما يعود السبب في قلة كفاءة عمل الإنزيم إلى نقص المولبيديوم كعامل مساعد للإنزيم وهذا يؤدي الى زيادة نسبة thiosulfate, sulphocystein, sulfite في البلازما والإدرار وذلك بسبب انخفاض كفاءة الإنزيم في تحويل sulfite إلى sulfate الأقل سمية (Allwsh and younis, 2010)، كما إن انخفاض فعالية إنزيم sulfite oxidase لدى مرضى العجز الكلوي يؤدي إلى زيادة نسبة الكبريتيت sulfite الذي يؤثر على انتقال الالكترونات ضمن السلسلة التنفسية وبالتالي يؤدي إلى انخفاض إنتاج الطاقة على شكل اداينوسين ثلاثي الفوسفات ATP في المايتوكوندريا ضمن الخلايا (Tan *et al.*, 2005).

كما يوضح (الجدول 2) أيضا وجود انخفاض معنوي في فعالية إنزيم thiosulfate oxidase عند مستوى الاحتمالية P≤0.01 في مصل دم مجموعة المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا يتفق مع ما جاء به (Allwsh and younis, 2010) من زيادة نسبة thiosulfate في مرضى العجز الكلوي حيث يشير ذلك إلى انخفاض فعالية الإنزيم الذي يعمل على أكسدة thiosulfate والتقليل من سميته.

ويشير (الجدول 2) ان هناك انخفاضا معنويا في فعالية انزيم Arylesterase عند مستوى الاحتمالية P≤0.001 لدى مجموعة المرضى مقارنة بالسيطرة وهذا ما أكدته الدراسة (Balasubramaniam *et al.*, 2011) من إن تركيز الإنزيم يقل لدى مرضى العجز الكلوي.

الجدول 2: المتغيرات الكيموحيوية المقاسة في مصل دم مرضى العجز الكلوي مقارنة مع مجموعة السيطرة

ت	المتغيرات الكيموحيوية المقاسة	مجموعة السيطرة المعدل± الانحراف القياسي	مجموعة مرضى العجز الكلوي المعدل± الانحراف القياسي
1	sulfate oxidase U/ml	0.29 ± 0.52	0.16 ± 0.28*
2	thiosulfate oxidase U/ml	0.24 ± 0.45	0.14 ± 0.17 * *
3	Arylesterase µ mole/ml	5.67 ± 116.5	7.1 ± 76.25 * * *
4	metalloendopeptidase U/ml	0.36 ± 15.29	0.53 ± 18.63 **
5	Albumin gm/100ml	0.03 ± 4.11	0.05 ± 2.8 *
6	Urea m mol/L	0.8 ± 5.61	2.5 ± 18.23 * * *
7	Sodium m mol/L	0.9 ± 162.5	1.6 ± 120 * *
8	Potassium m mol/L	0.09 ± 5.2	0.21 ± 7.02*

*Significant difference at $p \leq 0.05$, ** Significant difference at $p \leq 0.01$
*** Significant difference at $p \leq 0.001$

واظهر (الجدول 2) أيضا ارتفاعا معنويا في فعالية إنزيم metalloendopeptidase عند مستوى الاحتمالية P≤0.01 لدى المرضى مقارنة مع السيطرة وهذا يتفق مع ما جاء به الباحثون (Al-Mustafa *et al.*, 2011) من زيادة مستوى الإنزيم لدى مرضى العجز الكلوي, كما أكد الباحثون (Charles *et al.*, 1998) من إن الإنزيم يسبب زيادة الإدرار diuresis وزيادة طرح الصوديوم فيه مما يؤدي إلى انخفاض الصوديوم في الدم كما يسبب الإنزيم انخفاضا في هرمون الالدوستيرون المضاد للإدرار.

كما بينت النتائج الموضحة في (الجدول 2) إن هناك انخفاضا معنويا عند مستوى الاحتمالية P≤0.05 في تركيز الألبومين لدى مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة وربما يعود السبب إلى قلة البروتين في الغذاء المتناول أو إلى قلة تكوين الألبومين وزيادة تأيضه داخل الجسم (Allon and Stephen, 2014; Skarger, 2015)

ويشير (الجدول 2) إن هناك ارتفاعا معنويا في تركيز اليوريا عند مستوى الاحتمالية $P\leq0.001$ في مصل دم مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة وهذا يتفق مع ما جاء به (Join, 2013) من زيادة نسبة اليوريا في الـدم عنـد مرضـى العجز الكلوي نتيجة القصور في ترشيح الكلى.

كما بينت الدراسة إن هناك انخفاضا معنويا في معدل تركيز الصوديوم عند مستوى الاحتمالية $P\leq0.01$ عند مجموعـة المرضى وهذا يتفق مع (Al-Mustafa *et al.*, 2011) من زيادة استخلاصه خلال الترشيح الكلوي عن طريق الإدرار, بينما وجد ارتفاع معنوي في تركيز البوتاسيوم عند مستوى الاحتمالية $P\leq0.05$ في مصل دم مجموعة المرضى مقارنة بمجموعـة السيطرة وربما بسبب العلاقة العكسية ما بين الايونين (Giorgina *et al.*, 2010).

العلاقة بين أنزيم الرديناز والمتغيرات السريرية المقاسة:

لإيجاد العلاقة ما بـين انـزيم الرديناز والمتغيـرات الـسريرية المقاسـة تـم ايجـاد معامـل الارتبـاط الخطـي (Correlation Cofficient "r") حيث يظهر (الجدول 3) إن الرديناز يرتبط بعلاقة خطية سالبة مع sulfate oxidase وربما يعود السبب إلى انخفاض فعالية الإنزيم عند مجموعة المرضى نتيجة نقص المولبيدينيوم كعامل مساعد للإنزيم وارتفـاع فعالية إنزيم الرديناز عند مجموعة المرضى (Allwsh and younis, 2010) كما يرتبط إنزيم الرديناز بعلاقة خطية سـالبة مع thiosulfate oxidase كما موضح في (الجدول 3) وذلك لانخفاض فعالية الإنزيم عند مجموعة مرضى العجز الكلوي مما يـؤدي إلـى انخفـاض أكـسدة thiosulfate وارتفـاع فعاليـة إنـزيم الرديناز عنـد مجموعـة المرضـى (Allwsh and younis, 2010). كما يبين (الجدول 3) وجود علاقة خطية سالبة لإنزيم الرديناز مع الالبـومين وذلـك لان الالبومين يساعد على نقل ايون الكبريتيد في الجسم الى السيانيد CN^- ليحوله الى الثايوسيانيد SCN^- لذا فان انخفاضه عنـد مرضى العجز الكلوي يؤدي الى زيادة تحفيز الرديناز ليقوم بالعمل نفسه (Westley *et al.*, 1983).

في حين كان الارتباط خطيا موجبا ما بين إنزيم الرديناز وإنزيم ميتالواندوبيبتايديز كما موضـح فـي (الجـدول 3) وأيضا كان الارتباط خطيا موجبا ما بين إنزيم الرديناز واليوريا عند مرضى العجز الكلوي وذلك قد يعود إلى القـصور فـي الترشيح الكلوي لليوريا مما يؤدي إلى قلة الترشيح الكلوي لها والى زيادتها في الدم مع فضلات أخرى كالسيانيد الـذي يحفـز على ارتفاع فعالية إنزيم الرديناز للتقليل من سميته (Allwsh and younis, 2010).

الجدول 3: العلاقة ما بين إنزيم الرديناز والمتغيرات السريرية المقاسة في مجموعتي السيطرة والمرضى

المتغيرات السريرية	Rhodanese	Sulfate Oxidase	Thiosulfate oxidase	Metall endo peptidase	Aryl esterase	Na	K	Urea	Albumin
مجموعة السيطرة	1.000	0.132	0.034	0.073	0.041	0.155	0.137	0.157	0.172
مرضى الفشل الكلوي	1.000	* -0.0411	* -0.047	* 0.0357	0.240	0.221	0.118	* 0.463	* 0.045-

*Correlation is significant at $p \leq 0.05$

المصـادر

Allon, N.F.; Stephen, Z.F. (2014). Reassessment of albumin as a nutritionl marker in kidney. *American Soc. Nephrol*., **21**(2), 223-230.

Annino, J.S.; Giese, R.W. (1976). "Clinical Chemistry". 4th ed., Little, Brown and Co., Boston. 177, 183, 186.

Al-Mustafa, L.S.; Allwsh, Th.A.; AL-Jarah, I.A. (2011). Biochemical study of metallo endopeptidase and its relation with chronic renal failure. *Raf. J. Sci*., **22**(4), 71-87.

Allwsh, Th.A.; Mohammad, Z.H. (2009). Biochemical study of rhodanese enzyme isolated from blood and its role in cyanide detoxification. *Raf. J. Sci.,* **20**(1), 61-80.

Allwsh, Th.A.; Younis, N.Th. (2010). Biochemical study of thiocyanate and its relation with renal failure patients. *Tikrit J. Pure Sci*., **15**(3), 241 -246.

Ansell, M.; Lewis, F.A.S. (1970). A review of cyanide concentration found in human organs. A surrey of literature concerning cyanide metabolism "normal", non- fetal, and fetal body cyanide levels. *J. Forensic Medicine*., **17**, 148-155.

Balasubramaniam, G.; Anand, U.; Duraisamy, V. (2011). Serum paraoxonase (Arylesterase) activity in chronic renal failure. *J. Medicine*., **12**(2011), 17-20.

Bishop, M.L.; Duben-Engelkirk, J.; Fody, E.P. (2000). "Clinical Chemistry: Principle, Procedures, Correlation". 4th ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. (1999). " Tietz Text Book of Clinical Chemistry". 3rd ed., W.B. Saunders company, USA,1037.

Charles, J.F.; James, C.S.; William, G.H.; Dauid, J.W. (1998). Inhibition of neutral endopeptidase causes vasoconstriction of human Resistance Vessels in vivo. *American Heart Association.* **97**, 2323-2330.

Cipollone, R.; Ascenzi, P.; Tomao, P.; Imperi, F.; Visca, P. (2008). Enzymatic detoxification of cyanide clues from pseudomonas aeruginosa Rhodanese. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, **15**(2-3), 199-211.

Giorgina, B.P.; Marco, C.; Lorenzo, O.; Maria, C.D.; Valentina, C.; Giulio, R. (2010). Acute renal failure, sever sodium and potassium imbalance and sudden tetraplegia. *Clin. Kidney J.* **3**, 247-252.

Hasuike, Y.; Nakanishi, Y.; Moriguchi, R.; Otaki, Y.; Nanami, M.; Hama, Y.; Naka, M.; Miyagawa, K.; Izumi, M.; Takamitsu, Y. (2004). Accumulation of cyanide and thiocyanate in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant*., **19**(6), 1474-1479.

Join, U.S. (2013). Symptoms of high blood urea nitrogen in kidney failure. *Search Kidney Failure*., **17**, 42.

Kanazawa, M.; Johnston, C. (2007). Distribution and inhibition neutral metallo endopeptidase (NEP) (Ec 3.4.24.11), the major derivative enzyme for atrialnatriuretic pepide, in the rate kidney. *Clin . Exp. Pharm. Physiol*., **18**(6), 449-453.

Kirkwood, B.R. (1988). "Essentials of Medical Statistics". 1st ed., Black well Scientific Publication, Oxford; pp. 43-56.

Mahendra, A.; Rajiv, G.; laural, M. (2007). Acute renal failure. *Nephrology*., **20**, 1-11.

Mark, R.; Hall, R.; Berk, S. (1972). Thiosulfate oxidase from an Alcaligenes grown on mercaptosuccinate. *Canadian J. Microbiol*., **18**(2), 235 -245, 10.1139/m 72- 036.

Skarger, A.G. (2015). Hypoalbuminemia in renal failure: pathogenesis and therapeutic considerations. *Kidney Blood Press Res*., **28**, 307-310.

Tan, W.H.; Eichler, F.S.; Hoda, S.; Lee, M.S.; Baris, H.; Hanley, C.A.; Shih, V.E. (2005). Isolated sulfite oxidase deficiency :a case report with a novel mutation and review of the literature. *Pediatrics*., **116**(3), 757-766.

Tomas, M.; Senti, M.; Gareia- Faria, F.; Vila, J.; Torrents, A.; Coves, M.; Marragot, J. (2000). Effect of simrastatin therapy on paraxonase activity and related lipoprotein in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol*., **20**, 2113.

Toro, G.; Ackermann, P.G. (1975). "Practical clinical chemistry." 1st ed., printed in the United state of America, pp. 271-273, 143-145.

Urbanska, A.; Lezczynski, B.; Matok, H.; Dixon, A. (2002). Cyanide detoxification enzymes of bird cherryoat aphid. *Electronic. J.*, **5**(2), 334-337.

Westley, J.; Adler, H.; Westley, L.; Nishida (1983). The sulfurtransferase. *Fundamental and Applied Toxicol*., **3**, 377-382.

Woo, W.H.; Yang, H.; Wong, K.P.; Halliwell, B. (2003). Sulphite oxidase gene expression in human brain and in other human and rat tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **305**, 619 -623.