------مجلة علوم الرافدين، المجلد 28، العدد 4، ص 23-39، 2019------

الدور الوقائي لعصير الرمان والليمون في عدد من المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم ونسج الأرانب المحلية المصابة بالتحصي التجريبي

***ريم مروان موسى منى حسين جانكير**

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل

* **E-mail** : Reemu190@gmail.com

(أُستلم 23/ 4 /2019 ؛ قُبل 18/ 6 /2019)

الملخص

هدفت هذه الدراسة الى معرفة الدور الوقائي لكل من عصير الرمان *Punica granatum* وعصير الليمون *Citrus limon* في كبح تكون حصى الكلى المستحدث بوساطة الايثيلين كلايكول في ذكور الارانب المحلية *Oryctolagus cumiculus*، معبراً عنه بمتابعة وظائف الكلى ودراسة تأثير الاجهاد التأكسدي المستحدث بالايثيلين كلايكول، فضلاً عن الفحص المجهري لنسيج الكلية.

استخدم في الدراسة الحالية 30 ذكراً من الارانب المحلية، بأعمار تتراوح ما بين (8-10) اشهر وبوزن (1500–2000)غم، قسمت الى 6 مجاميع عشوائية، بواقع 5 ارنب/مجموعة، وجرعت لمدة 30 يوماً وبواقع جرعتين يومياً صباحا ومساءً كما يلي: المجموعة الاولى: اعطيت الماء والغذاء الاعتيادي وعدت كمجموعة سيطرة، المجموعة الثانية: جرعت بالايثيلين كلايكول بتركيز 1مل/كغم من وزن الجسم، المجموعة الثالثة: جرعت بعصير الرمان بتركيز 6 مل/كغم من وزن الجسم، المجموعة الرابعة: جرعت بعصير الليمون بتركيز 4 مل/كغم من وزن الجسم، المجموعة الخامسة: جرعت بالايثيلين كلايكول بتركيز 1مل/كغم من وزن الجسم اضافة الى عصير الرمان بتركيز 6 مل/كغم من وزن الجسم، المجموعة السادسة: جرعت بالايثيلين كلايكول بتركيز 1 مل/كغم من وزن الجسم اضافة الى عصير الليمون بتركيز 4 مل/كغم من وزن الجسم .

أظهرت النتائج ان تكوين الحصى المستحدث بالايثيلين كلايكول في ذكور الارانب المحلية أدى الى تأثيرات سلبية في المتغيرات الكيموحيوية، تمثلت بارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P\leq 0.05$) في تركيز كل من اليوريا، الكرياتنين، حامض اليوريك، المالون ثنائي الالديهايد MDA، المغنيسيوم والبوتاسيوم، بينما ادت الى انخفاض تركيز كل من الكلوتاثيون GSH والكالسيوم عند المعاملة بالايثيلين كلايكول مقارنة مع السيطرة، واظهرت المقاطع النسجية للكلية ترسب بلورات اوكزالات الكالسيوم في النسج بشكل واضح وتضرر النسيج الطلائي المبطن للنبيبات الكلوية مع حدوث تنخر وتنكس وتوسع في الانبيبات الكلوية نتيجة ترسب هذه البلورات. كما ادت معاملة ذكور الارانب المحلية بعصير الرمان والليمون كلاً على حدة الى تأثيرات ايجابية في عدد من المتغيرات الكيموحيوية لوظائف الكلى، كما اظهرت انخفاضاً غير معنوي في مستوى GSH وانخفاضاً معنويا في مستوى MDA في مصل الدم مقارنة مع السيطرة، وادت المعاملة بالايثيلين كلايكول مع عصير الرمان والليمون كلاً على حدة الى تأثيرات ايجابية في المتغيرات الكيموحيوية و الكهارل المدروسة. كما اظهرت المقاطع النسجية للكلية انخفاض ترسب بلورات اوكزالات الكالسيوم في النبيبات الكلوية والاضرار التي احدثها الايثيلين كلايكول بالنسيج الطلائي المبطن لها.

الكلمات الدالة: حصى الكلى، الايثيلين كلايكول، عصيرالرمان، عصير الليمون.

The Protective Effect of Pomegranate and Lemon Juices in Number of Biochemical Parameters in Blood Serum and Tissue of Local Rabbits Infected by Experimental Urolithiasis

Reem M. Mousa **Muna H. Jankeer**
Department of Biology / College of Science / University of Mosul

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the protective effect of both pomegranate juice *Punica granatum* and Citrus juice *Citrus limon* in preventing the newly formed kidney stone induced by ethylene glycol in local male rabbits *Oryctolagus cuniculus*,which was expressed by monitoring renal functions, study of the effect of oxidative stress induced by ethylene-glycol, in addition to microscopic examination of the kidney tissue. In the current study 30 male rabbits were used ranging in age from (8-10) months, and weight (1500 - 2000) g, divided into 6 random groups, 5 Rabbit / group, as follows:The first group : was given water and the standard diet as a control group, Group 2: was given ethylene glycol at a concentration of 1 ml / kg body weight, Group 3: was given the Pomegranate juice with a concentration of 6 ml / kg body weight, Group 4: was given the lemon juice at a concentration of 4 ml / kg body weight, Group 5: was given the ethylene glycol at a concentration of 1 ml / kg in addition to Pomegranate juice with a concentration of 6 ml / kg body weight, Group 6: was given the ethylene-glycol at a concentration of 1 ml / kg body weight as well as lemon juice at a concentration of 4 ml / kg body weight, for 30 days and two doses daily in the morning and evening. Results showed the induction of calculi by ethylene glycol in local male rabbits which resulted in negative effects in the biochemical parameters, which was a significant increase at a potential level ($P \leq 0.05$) in the concentration of urea, creatinine, uric acid, malodialdehyde MDA, magnesium, potassium while the concentration of glutathione GSH and calcium decreased when treated with ethylene glycol compared with control, Tissue sections of the kidney showed a clear deposition of calcium oxalate crystals in renal tissues with a damage of the epithelial tissue lining of the renal tubules with necrosis, degeneration and enlargement of renal tubules due to deposition of these crystals. The treatment of local male rabbits with pomegranate and lemon juice each alone lead to positive effects in biochemical parameters for kidney, the results also showed a non significant decrease in the level of glutathione and a significant decrease in level of blood serum MDA compared with control. Treatment of ethylene glycol with pomegranate and lemon juices alone lead to positive effects in biochemical parameters and studied electrolytes. Tissue sections of the kidney showed decrease in deposition of calcium oxalate crystals in the renal tubules and the damage caused by ethylene glycol in epithelial tissue lining of the kidney.

Keywords : Kidney stone, Ethylene glycol, Pomegranate juice, Lemon juice.

المقدمة

يعد الجهاز البولي احد اجهزة الجسم الاخراجية المسؤولة عن تنظيم الماء و الاملاح في جسم الكائن الحي، يتكون من الكليتين والحالبين و المثانة. تعد الكلية من الاعضاء المهمة لما لها من وظائف متعددة منها ترشيح الدم من نواتج العمليات الايضية غير المرغوب فيها و طرحها في البول و لها دور مهم في حفظ البيئة الداخلية لجسم الكائن الحي في حالة اتزان اي المحافظة على التوازن الحامضي- القاعدي و توازن الكهارل، فضلاً عن التحكم في ضغط الدم و تخليق السكر بعملية الكلوكونيوجنيزز Gluconeogenesis، و تنظيم الغدد الصم من خلال افراز هرمونات الارثروبويتين Erythropoietin و الرنين Renin و انتاج فيتامين D_3 (Zahid *et al*., 2009 ; Guyton and Hall, 2010) . تتكون الحصى نتيجة عوامل ايضية و

وراثيـــة، فضـــلاً عـــن العوامـــل البيئيـــة و الغذائيـــة و زيـــادة نســـب الاصـــابة بـــأمراض ضـــغط الـــدم و داء الســـكر (Sunitha *et al*., 2018). فالحصى هي جسم صلب تتشكل في الكلية، تبدأ بحجم حبة الرمل من مادة صلبة في الكلية، ثم تترسب عليها المعادن الموجودة في البول فتنمو و يكبر حجمها، اذ تصبح كتلة تشبه قطعة الحجر، و تصنف الحصى البولية حسب موقعها في الكلى فتدعى Nephrolithiasis في النفرون، أو Ureterolithiasis في الحالب أو في المثانة Cystolithiasis أو تصنف حسب تركيبها الكيميائي منها حصى اوكزالات الكالسيوم، فوسفات الكالسيوم، الستروفايت، حامض اليوريك، السيستين و حصى الادوية (Potts, 2004).

على الرغم من التقدم الكبير في العلاج الطبي، لا يوجد عقار مرضٍ و شافٍ لعلاج حصى الكلى، لذلك هدفت الدراسة الحالية الى التحري و البحث عن استخدام بدائل للعقاقير الطبية، لذا استخدمت الاعشاب و النباتات الطبية و مستخلصاتها بشكلها الطبيعي لتوفرها و لعدم ظهور آثار جانبية في علاج الحالات المرضية (Sangames, 2009). من هذه النباتات ثمار الرمان *Punica granatum* تنتمي الى العائلة الرمانية Punicaceae لما لها من فوائد صحية لا حصر لها، اذ تحتوي كل من القشور و البذور على العديد من المكونات الفعالة مثل الفلافونيدات و الفينولات المتعددة و الانثوسيانينات و الفيتامينات و المعادن المسؤولة عن العديد من الفوائد الصحية بسبب نشاطها المضاد للاكسدة Antioxidant و تثبيط التأثير الضار للجذور الحرة، و تعديل فعالية الانزيمات المرتبطة بالامراض و تطورها، فضلاً عن ذلك تظهر مكونات الرمان تأثيراً ايجابياً في تعزيز الصحة من خلال تعديل المسارات الفسلجية و الكيموحيوية (الحديدي 2015 ; Rahmani *et al*., 2017)، كما يسهم عصير الرمان في علاج حصى الكلى و يقلل من التأثيرات الضارة للكرب التأكسدي (Ilbey *et al*., 2009). تعد ثمار الليمون *Citrus limon* الذي ينتمي الى العائلة السذبية Rutaceae من النباتات الطبية التي لها فوائد متعددة نظراً لمحتوى عصيرها العالي من المكونات الفعالة كالقلويدات و الفلافونيدات التي تعد من مضادات الاكسدة و مضادة لنمو الجراثيم و الفطريات و الفيروسات و مضادة للسرطان (Burt, 2004; Ortuno *et al*., 2006). و العصير غني بالسترات التي تساهم في التقليل من فرط التشبع (الناتج عن قلة تناول المياه و بالتالي تركيز مكونات البول) و يقلل من ترسب بلورات اوكزالات الكالسيوم في الكلى، لذا استخدمت مستخلصات الليمون من مختلف اجزائه كالاوراق و الازهار و القشور و العصير في علاج الكثير من الامراض و منها حصى الكلى (الطائي، 2012 ; Kawaii *et al*., 2000 ; Touhami *et al*., 2007).

المواد و طرائق العمل

الحيوانات المستخدمة في الدراسة الحالية

استخدم في هذه الدراسة 30 ذكراً من الارانب المحلية (البرية) *Oryctolagus cuniculus*، بأعمار تتراوح ما بين (8-10 اشهر وبمعدل وزن (1500-2000) غم، تم شرائها من الاسواق المحلية في مدينة الموصل وكانت بحالة صحية جيدة، وتمت تربيتها بظروف ملائمة من حيث درجة الحرارة (20–25)°م ودورة ضوئية 14 ساعة ضوء و10 ساعة ظلام، فضلاً عن التهوية المستمرة الجيدة وتم اخضاعها لفترة تمهيدية لغرض التأقلم على المكان والعليقة قبل البدء بالمعاملة، ووضعت هذه الارانب في اقفاص مهيئة لها، اعطيت الماء والعليقة القياسية الخاصة بالارانب تم اعدادها من شركة الامين في محافظة نينوى بصورة مستمرة كما تم تقديم العلف الاخضر بكميات متساوية وتسلسل ثابت لجميع الحيوانات.

استحداث حصى الكلى

تم استحداث حصى الكلى باستعمال الايثيلين كلايكول Ethylene glycol بتركيز 1% مع ماء الشرب و جرعت لمدة 30 يوماً و بواقع جرعتين يومياً صباحاً و مساءاً.

النباتات المستخدمة في الدراسة الحالية

استخدم في هذه الدراسة ثمار كل من الليمون *Citrus lemon* والرمان *Punica granatum*، إذ تم شراؤها من الاسواق المحلية لمدينة الموصل، غسلت جيداً ونظفت وازيلت القشرة ثم قطعت أثمار الليمون وعصرت باستخدام العصارة اليدوية ورشحت بعدة طبقات من الشاش للتخلص من البذور والشوائب الأُخرى وحفظت في المجمدة بدرجة حرارة −20°م، أما بالنسبة لعصير الرمان، تم الحصول عليه بعد نزع القشرة واخذ فقط بذور الرمان وعصرت باستخدام الخلاط الكهربائي، ورشح ايضاً باستخدام طبقات الشاش وتم تصفية العصير ثانية باستخدام قمع Buchner (الحديدي، 2015).

تصميم التجربة

استخدمت في هذه الدراسة 30 ذكراً من الارانب المحلية (البرية)، قسمت ذكور الارانب الى 6 مجاميع عشوائياً بواقع 5 أرانب / مجموعة بعد انتهاء المدة التمهيدية، وجرعت الأرانب يوميا لمدة 30 يوماً فقط كما يلي:

1- المجموعة الاولى السيطرة (غير المعاملة): عوملت هذه المجموعة باعطائها العليقة القياسية مع ماء اعتيادي كما تم تجريعها 1مل/كغم من وزن الجسم ماء مقطر يوميا بواقع جرعتين لمعادلة اجهاد مسك الأرانب و لمدة 30 يوماً، إذ كان معدل الوزن الابتدائي لهذه المجموعة مساويا 1621 غم.

2- المجموعة الثانية (مجموعة التحصي المستحدث بالايثيلين كلايكول): عوملت هذه المجموعة بالايثيلين كلايكول فقط بتركيز 1% مع ماء الشرب وجرعت بانبوب التغذية الفموي بواقع جرعتين يوميا صباحا ومساءا بتركيز 1مل/كغم من وزن الجسم (Ravindra *et al*.,2006)، إذ كان معدل الوزن الابتدائي لها مساويا 1552غم.

3- المجموعة الثالثة (المجموعة المعاملة بعصير الرمان فقط): عوملت (جرعت) هذه المجموعة بعصير الرمان بتركيز 6 مل/كغم من وزن الجسم بواقع جرعتين يوميا صباحا ومساءا (الحديدي، 2015)، إذ كان معدل الوزن الابتدائي لها مساوياً 1535 غم.

4- المجموعة الرابعة (المجموعة المعاملة بعصير الليمون فقط): جرعت هذه المجموعة بعصير الليمون فقط بتركيز 4 مل/كغم من وزن الجسم بواقع جرعتين يوميا صباحا ومساءا (جلود، 2017)، إذ كان معدل الوزن الابتدائي لها مساوياً 1565غم.

5- المجموعة الخامسة (المجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول وعصير الرمان): جرعت هذه المجموعة بالايثيلين كلايكول بتركيز 1 مل /كغم من وزن الجسم وجرعت عصير الرمان بتركيز 6 مل/كغم بواقع جرعتين يوميا صباحا ومساءا، إذ كان معدل الوزن الابتدائي لها يساوي 1550غم.

6- المجموعة السادسة (المجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول وعصير الليمون): جرعت هذه المجموعة بالايثيلين كلايكول بتركيز 1 مل /كغم و جرعت عصير الليمون بتركيز 6 مل/كغم من وزن الجسم بواقع جرعتين يوميا صباحا ومساءا، إذ كان معدل الوزن الابتدائي لها مساوياً 1538غم.

جمع عينات الدم و الكلى

في نهاية فترة التجريع لمدة 30 يوماً لكل المجاميع، تم سحب عينات الدم بطريقة الطعنة القلبية بأستخدام محقنة طبية سعة 10مل، وضع الدم في انابيب اختبار خالية من مانع التخثر تسمى Jel tube وتركت لمدة 15 دقيقة، ثم فصل الدم بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق لغرض الحصول على مصل الدم ثم وضعت في انابيب ايباندروف مع ترقيمها وحفظت في المجمدة لحين اجراء الفحوصات الكيموحيوية المطلوبة، ثم ذبحت جميع الحيوانات عن طريق الخلع العنقي وشرحت، واستخرجت الكلى لغرض ملاحظة التغيرات النسجية من خلال عمل المقاطع لها في كافة المجاميع المعاملة، للكشف عن التحصي.

تقدير عدد من المتغيرات الكيموحيوية

استخدم مصل الدم لتقدير تركيز عدد من المتغيرات الكيموحيوية و باستخدام طرائق القياس المشار اليها في (الجدول 1).

الجدول 1: طرائق القياس المستخدمة لتقدير تركيز عدد من المتغيرات الكيموحيوية في الدراسة الحالية

المتغيرات المقاسة	الطرائق المستخدمة	المصدر
تركيز اليوريا	الطريقة الانزيمية Enzymatic method	Tabacco *et al*., 1979
تركيز الكرياتنين	طريقة Jaff reaction	, 1999
تركيز حامض اليوريك	الطريقة الانزيمية Enzymatic method	Fossati *et al*., 1980 ;
تركيز GSH	طريقة كاشف المان Ellman's reagent	Al-Zamely *et al*., 2001
تركيز MDA	طريقة تفاعل حامض الثايوباربيوتريك Thiobarbituric acid	Beuge and Aust, 1978
تركيز الكالسيوم	الطريقة اللونية Colorimetric method	Moorehead and Briggs, 1974
تركيز المغنيسيوم	الطريقة الانزيمية Enzymatic method	Barbour and Davisdon, 1988
تركيز البوتاسيوم	الطريقة اللونية Colorimetric method	Sunderman and Sunderman, 1959

وقد استخدمت عدد التحاليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية و Biosystem الاسبانية لتقدير تراكيز المتغيرات الكيموحيوية، اما تقدير تركيز MDA وGSH باستخدام الطرق اليدوية Manual methods.

الدراسة النسيجية

تم تحضير الشرائح المجهرية اعتماداً على الطريقة Drury و آخرون (1985) ، اذ تم جمع عينات الكلى من جميع المجاميع المعاملة و اجريت عليها الخطوات التالية: الغسل Washing و الانكاز Dehydration و الترويق Clearing و التشريب Infiltration و الطمر Embedding و التشذيب Trimming و التقطيع Sectioning و اخيراً تم استخدام صبغة الهيماتوكسلين و الايوسين و تم فحص جميع المقاطع النسجية باستخدام المجهر الضوئي المركب تحت قوى التكبير المختلفة، وصورت المقاطع لتوثيق التغيرات النسيجية باستخدام الكاميرا الرقمية.

التحليل الاحصائي

أجري التحليل الاحصائي بأستخدام التصميم العشوائي الكامل (C.R.D.) وحددت الاختلافات بين مجموعة السيطرة والمجاميع المدروسة باستخدام اختبار دنكن المتعدد المدى Duncun's Multiple Range Test لكل المتغيرات المدروسة عند مستوى احتمالية ($P\leq 0.05$) باستخدام البرنامج الاحصائي SAS (Steel and Torrie, 1980).

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج المبينة في (الجدول 2) ارتفاعاً معنوياً في تركيز اليوريا و الكرياتنين في مصل دم الارانب المحلية المعاملة بالايثيلين كلايكول لمدة 30 يوماً بنسبة 91% و 130%على التوالي مقارنة مع السيطرة و اظهرت ايضاً ارتفاعاً غير معنوي في تركيز حامض اليوريك بنسبة 12% مقارنة مع السيطرة. تتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات (Ashok *et al*., 2010; Parmar *et al*., 2012; Dharmalingam *et al*., 2014; Ghelani *et al*., 2016; Ramu *et al*., 2017) . اذ ادت المعاملة بالايثيلين كلايكول الى ارتفاع تركيز كل من اليوريا و الكرياتنين و حامض اليوريك بجرعات وفترات زمنية مختلفة. ويعزى السبب في ذلك الى تكون حصى الكلى التي تؤدي الى انخفاض معدل الترشيح الكبيبي، مما يتسبب في عرقلة تدفق او طرح البول الى الخارج، مما يؤدي الى تراكم نواتج العمليات الايضية وخاصة المواد النتروجينية كاليوريا والكرياتنين وحامض اليوريك، اضافة

الى زيادة بيروكسدة الدهون وانخفاض مستويات مضادات الاكسدة الفعالة في منع تكون حصى الكلى (Karadi *et al*., 2006)، أوقد يكون بسبب التهاب الكلية المزمن، مما يؤدي الى اختلال وظيفة الكلى وحدوث تنخر انبوبي أو التهاب الكلية الكبيبي الذي يتسبب في انخفاض عدد وحدات الترشيح الكبيبي، أو انسداد المسالك البولية نتيجة تكون الحصى وغيرها مما يؤدي الى ارتفاع تركيز نواتج الفضلات النتروجينية في المصل (Kamath *et al*., 2001).

ادت معاملة الارانب بعصير الرمان والليمون كلاً على انفراد الى انخفاض تركيز اليوريا و الكرياتنين و حامض اليوريك في مصل الدم، وهذا يتفق مع الحديدي (2015)، كما تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه

AbdelMoneim *etal*.,(2011) عند معاملة الجرذان بعصير الرمان الذي ادى الى خفض تركيز اليوريا و الكرياتنين و حامض اليوريك في مصل الدم، وذلك بسبب احتواء عصير الرمان والليمون على العديد من مضادات الاكسدة من صنف الفينولات المتعددة والتي تضم التانينات والانثوسيانينات والفلافونيدات وغيرها مما يؤدي الى تحسين عمل الكلى فيزداد طرح اليوريا (Wang and Zheng, 1992; Aviram *et al.*, 2002)، وكذلك بسبب فعالية مضادات الاكسدة من الفلافونيدات والكلايكوسيدات التي تعمل على ازالة الجذور الحرة ومنع اكسدة الاحماض الدهنية والامينية والبروتينات (Roche *et al*., 2009)، وذكر Bhandari (2012) ان وجود الحامض الدهني غير المشبع Punicic في بذورِ الرمان يعد عامل حماية للجهاز البولي. وذلك بسبب احتواء عصير الرمان والليمون على الفلافونيدات التي تحمي الجزيئات الحيوية وتحافظ عليها من اي ضرر كتحطم الاواصر الببتيدية مما يقلل من تكون حامض اليوريك، كما يؤثر عصير الليمون على مستويات حامض اليوريك في الكلى (Miya *et al*., 1998; Benaventa-Garcia *et al*.,2007; Singh *et al*., 2011).

ادت المعاملة بالايثيلين كلايكول مع عصير الرمان او عصير الليمون الى حدوث انخفاض في تركيز كل من اليوريا و الكرياتنين و حامض اليوريك مقارنة مع مجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول فقط ومجموعة السيطرة، تتفق هذه النتائج مع ما توصلَ اليهِ , (2009) Ilbey *et al.* ; (2008) Tugcu *et al.* اذ ادت المعاملة بعصير الرمان الى انخفاض تركيز كل من اليوريا و الكرياتنين و حامض اليوريك، وكذلك تتفق مع (2007) Touhami *et al.*, اذ ادت معاملة الجرذان بالايثيلين كلايكول وكلوريد الامونيوم لاستحداث التحصي مع عصير الليمون الى خفض تركيز اليوريا و الكرياتنين وحامض اليوريك ويعزى السبب في ذلك الى احتواء عصير الرمان على مواد مضادة للاكسدة كالفينولات المتعددة والتانينات والفلافونيدات وفيتامين C وE وكذلك احتوائه على السلينيوم وهو مضاد اكسدة يسهم في افراز هرمون الانسولين الذي له دور في زيادة بناء البروتين وبالتالي سوف يقلل من تركيز حامض اليوريك، ولاحتواء عصير الليمون على الفيتامينات E,C والسترات وLimonoid مما يسهم في حماية الخلايا الكلوية ورفع كفاءتها في طرح حامض اليوريك وحمايتها من الاضرار التأكسدية للجذور الحرة (Yu *et al*., 2005; Vreogrijk *et al*., 2011)، كذلك بسبب احتواء عصير الليمون على العديد من مضادات الاكسدة الفعالة كالسترات وفيتامين C,E والفلافونيدات مثل Limonoid, Hesperidin, Eriocitrin اذ يعمل فيتامين C على منع ترسب بلورات اوكزالات الكالسيوم في الكلى وذلك بمنع ارتفاع تركيز الاوكزالات (فرط البيلة الاوكزالية Hyperoxaluria) التي تستحث الضرر التأكسدي على سطح النبيبات الكلوية وكذلك تمنع نمو وتطور حصى الكلى *et al*., (Huang 2000; Santhosh and Selvam, 2003; Thamilselvan and Menon, 2005).

الجدول 2 : تأثير المعاملة بألايثيلين كلايكول و عصير الرمان والليمون في تركيز اليوريا و الكرياتنين وحامض اليوريك في مصل دم ذكور الارانب المحلية

المتغيرات / المجاميع المعاملة	تركيز اليوريا (mg/dl)			تركيز الكرياتنين (mg/dl)			تركيز حامض اليوريك (mg/dl)		
	* المعدل ± الخطأ القياسي	% التركيز	% للتغير	المعدل ± الخطأ القياسي	% التركيز	% للتغير	المعدل ± الخطأ القياسي	% التركيز	% للتغير
السيطرة	1.173± 40.827 c	100	_	0.045 ± 1.560 c	100	_	0.140 ± 2.263 a	100	_
ايثيلين كلايكول	7.602± 78.157 a	191	+91	0.285 ± 3.590 a	230	+130	0.390 ± 2.533 a	112	+12
عصير الرمان	1.130± 29.653 d	73	- 27	0.015 ± 0.777 d	50	-50	0.191 ± 1.757 b	78	- 22
عصير الليمون	2.041 ± 27.230 d	67	- 33	0.030 ± 0.907 d	58	-42	0.176 ± 1.227c	54	- 46
ايثيلين كلايكول+ عصير الرمان	2.865± 30.097 d	74	- 26	0.075 ± 1.897 b	122	-22	0.299 ± 1.537 bc	68	- 32
ايثيلين كلايكول+ عصير الليمون	3.017± 28.827 d	71	- 29	0.047 ± 1.387 c	89	-11	0.345 ± 1.613 bc	71	- 29

* المعدل ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات . عدد الارانب لكل مجموعة = 5.

الارقام المتبوعة باحرف مختلفة عموديا تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) بحسب اختبار دنكن.

اظهرت النتائج المبينة في (الجدول 3) انخفاضاً معنوياً في تركيز الكلوتاثيون GSH (مضاد اكسدة غير انزيمي داخلي المنشأ) في مصل دم ذكور الارانب المحلية المعاملة بالايثيلين كلايكول بنسبة 46 % مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع الطائي (2012) ; مهدي (2014) (Tugcu *et al.*, 2008; Ashok *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2015;)، اذ ادت معاملة الجرذان بالايثيلين كلايكول الى انخفاض تركيز GSH في مصل الدم، ويعزى السبب في انخفاض تركيزه في مصل الدم عند المعاملة بالايثيلين كلايكول الى الكرب التأكسدي الناتج عن عدم التوازن بين انتاج الجذور الحرة ومضادات الاكسدة الدفاعية، فالتأثيرات الضارة للجذور الحرة يسيطر عليها بوساطة مضادات الاكسدة مثل فيتامين C, E ومضادات الاكسدة الداخلية، اذ يسبب الكرب التأكسدي انخفاض مستويات مضادات الاكسدة الانزيمية وغيرالانزيمية (Keles *et al.*, 2010). اذ تشير اغلب البحوث التجريبية والسريرية الى ان الكرب التأكسدي يزداد في الكلى والدورة الجهازية في الجرذان المصابة بحصى الكلى المستحدثة بوساطة الايثيلين كلايكول مما يزيد من استهلاك مضادات الاكسدة الانزيمية وغير الانزيمية (Huang *et al.*, 2002)، بين Touhami *et al.*, (2007) ان الاوكزالات تستحث بيروكسدة الدهون وتتسبب في تحطيم النسج الكلوية وذلك بتفاعلها مع الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة، والاوكزالات الناتجة من الايثيلين كلايكول تسبب تلف للاغشية المبطنة للمسالك البولية، كما تسبب انخفاضاً في مضادات الاكسدة عامة.

أدت المعاملة بعصير الرمان والليمون كلاً على حدة الى انخفاض تركيز GSH في مصل الدم، وقد يكون السبب في انخفاضه هو استخدامه كمضاد اكسدة لاختزال اصناف الاوكسجين الفعالة من خلال تفاعلات انزيمية وغير انزيمية، ويساهم ايضاً في اعادة توليد جزيئات صغيرة مؤكسدة وهي مضادات اكسدة مثل فيتامين C, E (Rahman, 2007).

وادت المعاملة بالايثيلين كلايكول مع عصير الرمان والليمون كلاً على حدة الى ارتفاع تركيز GSH في مصل الدم مقارنة مع مجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول لوحده، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصلت اليه الطائي (2012) اذ ادت المعاملة بالايثيلين كلايكول مع عصير الليمون الى ارتفاع تركيزه في مصل الدم وذلك بسبب المحتوى العالي لعصير الليمون من مضادات الاكسدة والتي تساهم في ازالة الجذور الحرة وتنشيط مضادات الاكسدة الانزيمية. كما تتفق مع ما توصل اليه Tugcu *et al*., (2008) عند معاملة الجرذان بالايثيلين كلايكول مع عصير الرمان يؤدي الى ارتفاع تركيز GSH في مصل الدم مقارنة مع السيطرة وذلك بسبب الفعالية الواسعة الطيف للرمان نظراً لمحتواه العالي من المركبات الكيميائية القادرة على كسح الجذور الحرة، تحسين فعالية مضادات الاكسدة الانزيمية وغير الانزيمية، كما ان الرمان نفسه مضاد اكسدة فعال جداً ويساهم في تحسين وظيفة الكلى، اذ يتم تكوينGSH في الكبد بشكل مكثف، كما ان جزيئاتGSH ترتبط مع البروتينات (Samuelsson *et al*., 2011; Lu, 2013). بينت الطائي (2012) ان عصير الليمون يحتوي على فيتامينات A, C, E، تساهم في بناء الاحماض الامينية في الكبد وبسبب فعاليتها المضادة للاكسدة فانها تزيد من تركيز GSH في مصل الدم . واشار Arjamand (2011) الى ان عصير الرمان يحتوي على السلينيوم الذي يعزز من حالة مضادات الاكسدة ومنها زيادة GSH خير دليل على عمل مضاد الاكسدة GSH (غير الانزيمي داخلي المنشأ)، الذي يعمل على ازالة الجذور الحرة وتعزيز وظائف الكلى، مما يؤدي الى زيادة طرح اليوريا مع البول.

اظهرت النتائج في (الجدول 3) ارتفاعاً معنوياً في تركيز المالون ثنائي الالديهايد (MDA) في مصل دم الارانب المحلية المعاملة بالايثيلين كلايكول بنسبة 30% مقارنةً مع السيطرة. تتفق نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات السابقة الطائي (2012)؛ مهدي (2014) ؛ (Tugcu e*t al*., 2008; Parmar *et al*., 2012; Makasana *et al*., 2014; Naghii *et al*., 2014; Kumar *et al*., 2015)، ويعزى السبب الى زيادة انتاج الجذور الحرة والتي يستدل عليها بزيادة تركيز MDA والذي يتكون بسبب تكون حصى الكلى المستحث مما يؤدي الى حدوث اضرار بنسج الكلى بسبب تأثرها بالكرب التأكسدي عليها، اذ تزداد عملية بيروكسدة الدهون وتقل فعالية مضادات الاكسدة الانزيمية (Patel *et al*., 2012).

اظهرت النتائج انخفاض تركيز MDA في مصل دم الارانب المعاملة بعصير الرمان والليمون فقط كلا على انفراد، وهذا يتفق مع ما توصل اليه كل من الباحثين (Abdel Moneim *et al*., 2011; Jaiswal *et al*., 2015) عند معاملة الجرذان بعصير الرمان او الليمون، في حين اظهرت النتائج ارتفاعا طفيفا في المجاميع المعاملة بالايثيلين كلايكول مع عصير الرمان والليمون كلاً على انفراد مقارنة مع مجموعة السيطرة. ويعزى ذلك الى احتواء الرمان على الفينولات المتعددة والستيرويدات التي تساعد على تحفيز مضادات الاكسدة الانزيمية لازالة التأثيرات الضارة لاصناف الاوكسجين الفعالة، كما ان الرمان يحتوي على Punicalagin المسؤول عن اكثر من 50% من الفعالية المضادة للاكسدة في ذلك العصير (Han *et al*., 2006 ; El-Sayed, 2013). يحتوي عصير الليمون على العديد من المكونات الكيميائية الطبيعية ومنها حامض الستريك وفيتامين C وفيتامين E والفلافونيدات والمعادن والزيوت المفيدة (Lidiane *et al*., 2011)، كما يحتوي على مشتقات Oxazine وهي مركبات فعالة بايولوجيا كمضادات اكسدة ومضادة للجراثيم، كما تساعد في تقلص العضلات الملساء للمثانة البولية (Badrinthan *et al*., 2015).

الجدول 3 : تأثير المعاملة بالايثيلين كلايكول و عصير الرمان والليمون في تركيز الكلوتاثيون GSH والمالون ثنائي الالديهايد MDA في مصل دم ذكور الارانب المحلية

المتغيرات	تركيز GSH (µmol/L)	تركيز MDA (µmol/L)

المجاميع / المعاملة	* المعدل ± الخطأ القياسي	% التركيز	% للتغير	المعدل ± الخطأ القياسي	% التركيز	% للتغير
السيطرة	0.074 ± 6.176 a	100	_	0.187 ± 7.219 df	100	_
ايثيلين كلايكول	0.254 ± 3.315 c	53	46 -	0.272 ± 9.358 a	130	30 +
عصير الرمان	0.199 ± 4.232 b	68	31 -	0.134 ± 6.829 ef	95	5 -
عصير الليمون	0.048 ± 4.544 b	73	26 -	0.377 ± 6.552 f	91	9 -
ايثيلين كلايكول+ عصير الرمان	0.481 ± 4.412 b	71	29 -	0.076 ± 7.422 cd	103	3 +
ايثيلين كلايكول+ عصير الليمون	0.330 ± 4.913 b	79	20 -	0.131 ±7.502 bcd	104	4 +

*المعدل ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات . عدد الارانب لكل مجموعة = 5

الارقام المتبوعة باحرف مختلفة عموديا تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$) بحسب اختبار دنكن .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية كما مبين في (الجدول 4) ان معاملة ذكور الارانب المحلية بالايثيلين كلايكول ادى الى حدوث انخفاض معنوي في تركيز الكالسيوم في مصل الدم بنسبة 44% مقارنةً مع مجموعة السيطرة، تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه كل من (الطائي، 2012 ; Kapilraj, 2015) اذ ادّت معاملة الجرذان بالايثيلين كلايكول الى انخفاض تركيز الكالسيوم في مصل دم الجرذان المعاملة. ويعود السبب في انخفاض تركيز الكالسيوم الى تكون بلورات اوكزالات الكالسيوم التي ترسبت في النبيبات الكلوية مسببةً اضرار في الخلايا الطلائية للكلى (Kohjimoto *et al*., 2004 ; Khan and Kok, 2004) فالايثيلين كلايكول يمتص سريعاً في الامعاء ويتأيض في الكبد بتحفيز انزيمات الكبد مثل الكحول ديهيدروجينيز وانزيم الالديهايد ديهيدروجينيز ليكون الناتج النهائي لهذه المادة حامض الاوكزاليك، اذ يترسب بوجود الكالسيوم بشكل بلورات اوكزالات الكالسيوم مما يستحث تكوين الحصى، ويعد الكالسيوم والاوكزالات من المحفّزات الاساسية لتكوين الحصى (Scalley *et al*., 2002)، تسرب الكالسيوم عبر الكلية يكون مصاحباً لزيادة امتصاص الكالسيوم في الامعاء وكذلك تحرر الكالسيوم من العظام مما يؤدي الى زيادة الكالسيوم في الدم والبول (Ghelani *et al*., 2016).

اظهرت نتائج الدراسة الحالية كما مبين في (الجدول 4) ان معاملة ذكور الارانب المحلية بالايثيلين كلايكول احدث ارتفاعاً معنوياً في تركيز المغنيسيوم و البوتاسيوم في مصل الدم بنسبة 50% و 81% على التوالي، تتفق هذه النتائج مع مهدي (2014) اذ بينت حدوث ارتفاع معنوي في تركيز ايون المغنيسيوم في المجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول بتركيز 0.9%، كما تتفق مع كل من (Kapilraj, 2015; Prabhu *et al*., 2016) اذ ادت معاملة الجرذان بالايثيلين كلايكول بتركيز(0.75%) مع (2%) كلوريد الامونيوم لمدة 28 يوماً لاستحداث الحصى وادى الى ارتفاع تركيز المغنيسيوم في مصل الدم. تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصلت اليه العديد من الدراسات منها (الطائي، 2012؛ Tugcu *et al*., 2008; Ilbey *et al*., 2009) اذ ادت معاملة الجرذان بجرع ولفترات زمنية مختلفة الى ارتفاع معنوي في تركيز البوتاسيوم في مصل الدم.

يعزى الارتفاع في تركيز المغنيسيوم في مصل الدم الى حدوث تنخر في النسج مما يؤدي الى خروج المغنيسيوم من داخل الخلايا الى الدم فيرتفع تركيزه في مصل الدم، اذ ان معظم المغنيسيوم موجود داخل الخلايا او بسبب سمية الايثيلين كلايكول على

النسج، يؤدي الى حدوث ترشيح زائد للمغنيسيوم وبذلك يرتفع تركيز المغنيسيوم في مصل الدم (مهدي، 2014). يحدث في امراض الكلى المزمنة اختلال في افراز البوتاسيوم الكلوي والذي يؤدي الى الآلية فرط البوتاسيوم في الدم، وبشكل عام تعد حالة فرط البوتاسيوم في الدم Hyperkalemia اكثر شيوعاً اذ تشكل (14-20%)، بينما تشكل حالة نقص البوتاسيوم في الدم Hypokalemia (12-18)% (Gilligam and Raphael, 2017). وقد يكون السبب في ارتفاع تركيز ايون البوتاسيوم هو خروج البوتاسيوم من داخل الخلايا ومن السوائل الداخل خلوية الى خارج الخلايا والسوائل خارج خلوية بسبب الاضطرابات الايضية مثل الحماض الايضي ونقص التروية الدموية وتلف الخلايا، اذ ان البوتاسيوم موجود داخل الخلايا اكثر من خارجها (Giebisch, 2004; Goff, 2004; Grunberg *et al*., 2006; Grunberg *et al*., 2011; Constable *et al*., 2013;).

ادت المعاملة بعصير الرمان والليمون كلاً على انفراد الى المحافظة على المستوى الطبيعي لتركيز الكالسيوم و المغنيسيوم في مصل الدم، بينما ادت المعاملة بعصير الرمان الى انخفاض في تركيز البوتاسيوم في المصل بنسبة 15% بينما ادت المعاملة بعصير الليمون الى المحافظة على المستوى الطبيعي للبوتاسيوم وذلك بسبب احتواء عصير الرمان والليمون على العديد من مضادات الاكسدة والفيتامينات والمعادن وغيرها (Aviram *et al*., 2002; Touhami *et al*., 2007) .

كما ادت المعاملة بالايثيلين كلايكول مع عصير الرمان او الليمون الى ارتفاع تركيز الكالسيوم في مصل الدم مقارنة مع مجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول لوحده، ادت المعاملة بالايثيلين كلايكول مع عصير الرمان والليمون كلا على حدة الى انخفاض تركيز المغنيسيوم و البوتاسيوم في مصل الدم مقارنة مع مجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول فقط. اذ اشار Tugcu *et al*., (2008) ان عصير الرمان قد يكون له تاثير مثبط على فعالية الانزيمات المصنعة للاوكزالات مثل انزيم كلايكوليك اوكسيديز Glycolic oxidase في الكبد، بذلك فان تكوين الاوكزالات ينخفض مما يعزز من الدور الوقائي للرمان على الكبد والكلى كما يحتوي الرمان على القلويدات التي تساعد على انبساط العضلات الملساء بشكل خاص مما يساعد على طرح الحصى من الكلى (Pararin *et al*., 2016). كما يحتوي الليمون على السترات التي تؤدي دوراً مهماً في تقليل التشبع البولي بأملاح الكالسيوم وذلك بتكوين معقدات قابلة للذوبان مع ايونات الكالسيوم مما يساعد على تثبيط نمو البلورات، كذلك تعمل السترات على زيادة فعالية بعض الجزيئات الكبيرة في البول والتي تثبط تكوين حصى الكلى مثل Tamm-horsfall protein وكذلك تساعد السترات على التقليل من تعبير Osteopontin البولي وهو احد محفزات تكوين الحصى، اذ يدخل في تركيب القالب البروتيني للحصى البولية (Cuadarella and Vescini, 2009). وكذلك يحتوي عصير الليمون على العديد من العناصر كالبوتاسيوم والمغنيسيوم، فيتامين C,E، الفلافونيدات، الكومارينات، Limonoid وحامض الفوليك مما يسهم في حماية الخلايا الكلوية من الاضرار التي تسببها المواد السامة مثل الايثيلين كلايكول (Deyhim *et al*., 2008). ولابد من الاشارة ان نقصان مستويات المغنيسيوم يتسبب في تكوين حصى الكلى بشكل اسرع (Karadi *et al*., 2006; Celik *et al*., 2007).

الجدول 4 : تأثير المعاملة بألايثيلين كلايكول و عصير الرمان والليمون في تركيز الكالسيوم و المغنيسيوم و البوتاسيوم في مصل دم ذكور الارانب المحلية

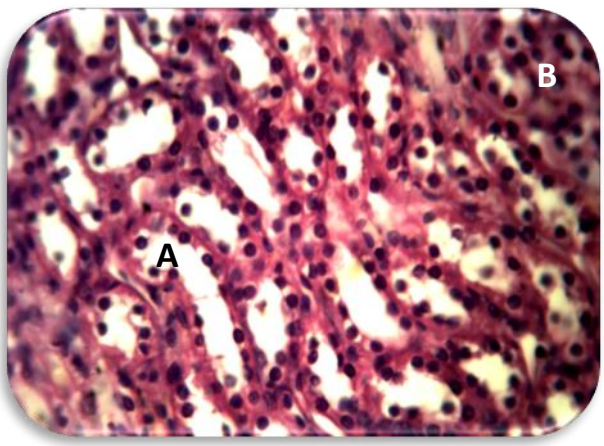
المتغيرات / المجاميع المعاملة	تركيز الكالسيوم (mg/dl)			تركيز المغنيسيوم (mg/dl)			تركيز البوتاسيوم (mmol/L)		
	* المعدل ± الخطأ القياسي	% التركيز	% للتغير	المعدل ± الخطأ القياسي	% التركيز	% للتغير	المعدل ± الخطأ القياسي	% التركيز	% للتغير
السيطرة	0.616 ± 14.907 a	100	_	0.211 ± 2.460 b	100	_	0.155 ± 5.473 b	100	_
ايثيلين كلايكول	0.294 ± 8.420 d	56	44-	0.317 ± 3.690 a	150	50+	0.041 ± 9.903 a	181	81+
عصير الرمان	0.506 ± 14.473 ab	97	3 -	0.018 ± 2.562 b	104	4 +	0.368 ± 4.667 c	85	15-
عصير الليمون	0.543 ± 14.437 ab	97	3 -	0.129 ± 2.478 b	101	1 +	0.270 ± 5.693 b	104	4 +
ايثيلين كلايكول + عصير الرمان	1.349 ± 12.597 bc	85	15-	0.062 ± 2.658 b	108	8 +	0.361 ± 5.633 b	103	3 +
ايثيلين كلايكول + عصير الليمون	0.284 ± 12.273 c	82	18-	0.212 ± 2.517 b	102	2 +	0.405 ± 5.680 b	104	4 +

* المعدل ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات. عدد الارانب لكل مجموعة = 5

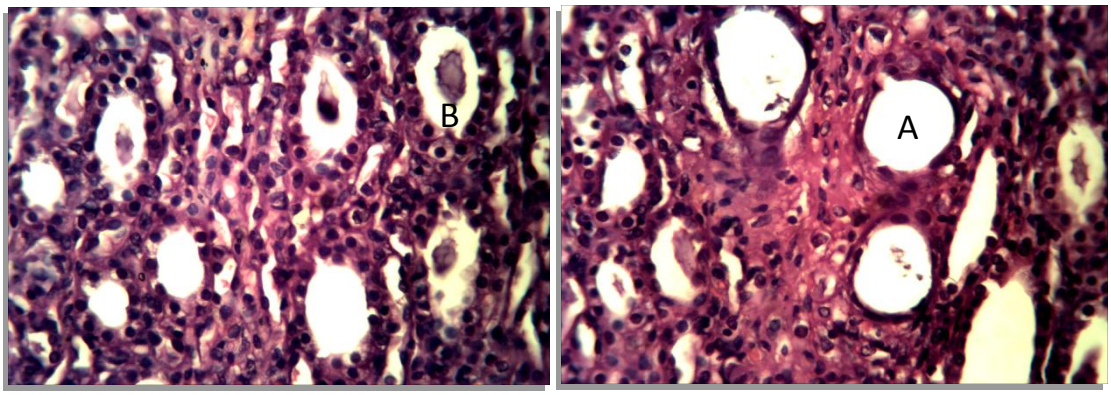
الارقام المتبوعة باحرف مختلفة عموديا تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) بحسب اختبار دنكن .

الدراسة النسيجية

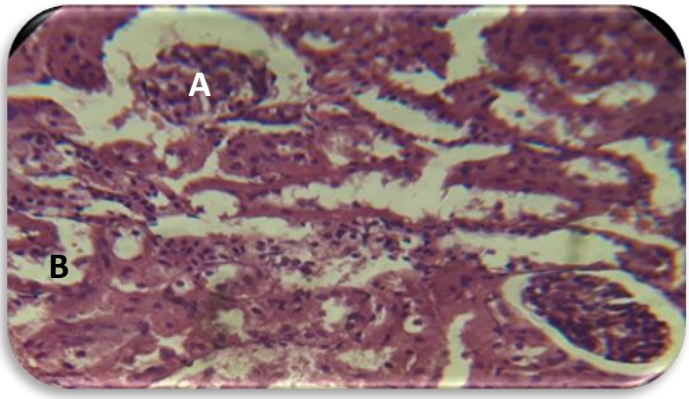
النتائج موضحة في المقاطع العرضية لكلية الارانب السليمة و المعاملة في الاشكال التالية:



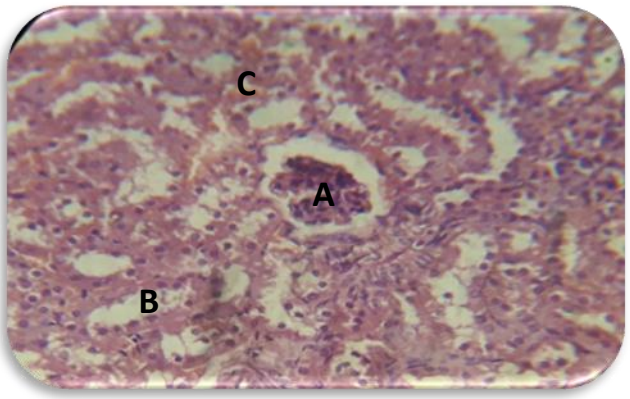
الشكل 1: مقطع عرضي لكلية ارنب محلي من مجموعة السيطرة، يوضح (A) التركيب السوي للنبيبات الكلوية المبطنة بالخلايا الظهارية (B) الكبيبات الكلوية ومحفظة بومان (تحت قوة التكبير X 400، الصبغة المستخدمة الهيماتوكسلين – الايوسين).



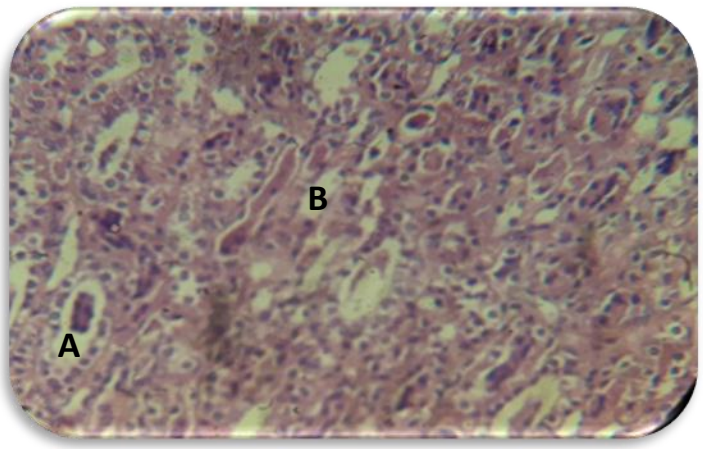
الشكل 2: مقطع عرضي لكلية ارنب محلي من مجموعة المعاملة بألايثيلين كلايكول، يوضح (A) التوسع في تجاويف النبيبات الكلوية للكلية ويوضح (B) ترسب بلورات اوكزالات الكالسيوم في تجاويف النبيبات الكلوية، قوة التكبير 400X، (تحت الصبغة المستخدمة الهيماتوكسيلين – الايوسين) .



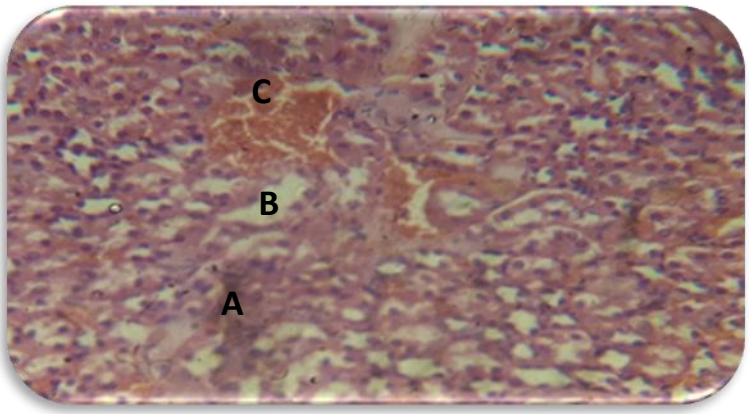
الشكل 3: مقطع عرضي لكلية ارنب محلي من مجموعة المعاملة بعصير الرمان فقط، يوضح (A) الكبيبات الكلوية و محفظة بومان (B) النبيبات الكلوية، (تحت قوة التكبير 400X، الصبغة المستخدمة الهيماتوكسيلين – الايوسين).



الشكل 4: مقطع عرضي لكلية ارنب محلي من مجموعة المعاملة بعصير الليمون فقط (A) يوضح الكبيبات الكلوية و محفظة بومان (B) النبيبات الكلوية (C) يوضح جدوث نخر تجلطي و نزف بين النبيبات الكلوية، (تحت قوة التكبير 400X، الصبغة المستخدمة الهيماتوكسيلين – الايوسين).



الشكل 5: مقطع عرضي لكلية ارنب محلي من مجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول و عصير الرمان، يوضح (A) ترسب بلورات اوكزالات الكالسيوم بأعداد قليلة و(B) البعض الاخر يخلو من البلورات (تحت قوة التكبير 400X، الصبغة المستخدمة الهيماتوكسيلين – الايوسين).



الشكل 6 : مقطع عرضي لكلية ارنب محلي من مجموعة المعاملة بالايثيلين كلايكول وعصير الليمون، يوضح (A) ترسب بلورات اوكزالات الكالسيوم (B) بينما تخلو بعض التجاويف من هذه البلورات مع (C) حدوث تنخر وتنكس و نزف في الخلايا الطلائية المبطنة للنبيبات الكلوية، (تحت قوة التكبير 400X، الصبغة المستخدمة الهيماتوكسيلين – الايوسين).

المصادر العربية

جلود، ايمان محمد سعيد مصطفى (2017). التأثيرات الفسلجية والنسيجية لعصير الليمون ومستخلص بذور الكمون في الارانب المسمنة تجريبياً. اطروحة دكتوراة، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الحديدي، عبير عطاالله عايد (2015). التأثيرات الفسلجية والكيموحيوية لعقار Simvastatin وعصير الرمان وبذور الشوفان على الارانب النيوزلندية المصابة بتصلب الشرايين التجريبي. اطروحة دكتوراة، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الطائي، صبا خير الدين ابراهيم (2012). التأثير الوقائي لعصير الليمون والمستخلص المائي للمعدنوس في منع التحصي التجريبي المستحث بأستعمال الايثيلين كلايكول وتقليل السمية الكلوية المستحدثة بالمضادين الحيويين جنتامايسين وفلوكساسين في الجرذان. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة تكريت، العراق.

مهدي، هالة هاشم دحام (2014). مقارنة الدور الوقائي بين استخدام عدد من المستخلصات والعصائر النباتية وبعض الادوية في كبح تكون الحصى المستحث في الجرذان. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة تكريت، العراق.

المصادر الاجنبية

Abdel Moneim, A.; Dkhil, M.; Al-Quraishy, S. (2011). Studies on the effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice and peel on liver and kidney in adult male rats. *J. Med. Plant Res*., **5**(20), 5083-5088.

Al-Zamely, O.M.; Al-Nemer, M.S.; Muslih, R.K. (2001). Detection of the peroxynitrate and related with antioxidant status in the serum of patient with acute myocardial infection. *Nat. J. Chem*., **40**, 625-637.

Arjamand, A. (2011). Antioxidant activity of pomegranate *(punica granatum)* polyphenols and their stability in probiotic yoghurt. Master thesis, College of Science Engineering and Health, RMIT University.

Ashok, P.; Basavaraj, C.K.; Vishwanathswamy, A.H. (2010). Antiurolithiatic and antioxidant activity of *Mimosops elengi* on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. *Ind. J. Pharmacol*., **42**(6), 380-383.

Aviram, M.; Dornfeld, L.; Kaplan, M. (2002). Pomegranate juice flavonoid inhibit low density lipoprotein oxidation and cardiovascular disease: studies in atherosclerosis mice and in human. *Drug Exp. Clin. Res*., **28**(2-3), 49-62.

Badrinthan, S.; Shiju, M.T.; Arya, R.; Rajish, G.N.; Viswanathan, P. (2015). Citrus bioflavonoids ameliorate hyperoxaluria induced renal injury and calcium oxalate crystal deposition in wister rats. *Adv. Pharm. Bull*., **5**(3), 419-427.

Barbour, H.M.; Davisdon, W. (1988). Studies on measurement of plasma magnesium: application of the Mg on dye method to the monarch "centrifugal analyzer". *Clin. Chem*., **34**(10), 2103-2105.

Benaventa –Garcia, O.A.; Castillo, J.V.; Alcaraz, M.E.; Ortuno, A.S.(2007). Beneficial action of citrus flavonoid on multiple cancer related biological pathway. *Current Cancer Drug Target*, **7**(8),795-809.

Bhandari, P.R. (2012). Pomegranate (*Punica granatum*) ancient seeds for modern cure ? Review of potential therapeutic applications. *Int. J. Nutre. Pharmacol. Neurol. Dis*., **2**(3), 171-184.

Burt, S.A. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods Av review. *Int. J. Food Microbiol*., **94**, 223-253.

Celik, S.; Gorur, S.; Aslantas, O.; Erdogan, S.; Ocak, S.; Hakverdi, S. (2007). Caffiec acid phenethyl ester suppresses oxidative stress in E-coli pyelonephritis in rats. Mol. *Cell BioChem*., **297**,131-8.

Constable, P.; Grunberg, W.; Staufenbiel, R.; Stampfli, H.R.(2013). Clinicopathology vaiable associated with hypokalemia in lactating dairy cows with abomasal displacement orvolvulus. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., **242**, 826-835.

Cuadarella, R.; Vescini, F. (2009). Urinary citrate and renal stone disease: the preventive role of alkali citrate treatment. *Arch. Italia Androl*.; **81**, 182-187.

Deyhim, F.; Mandidi, K.; Faraji, B.; Patil, B.S. (2008). Grapefruit juice modulate bone quality in rats. *J. Med. Food*, **11**, 99-104.

Dharmalingam, S.R.; Madhappan, R.; Ramamurthy, S.; Gopal, K. (2014). Antiurolithiatic activity of *Melia* Azedarach *Linn* leaf extract in ethylene glycol induced urolithiasis in male albino rats. *Trop. J. Pharm. Res*., **13**(3),391-397.

Drury, R.A.; Wallgton, E.A.; Cameron, S.R. (1985). "Carleton's Histological Techniques". 4th ed.. Oxford Univ. Press, New York.

El-Sayed, M. (2013). Renoprotective effect of *Punica granatum* (pomegranate) against adnine - induced chronic renal failure in male rats. *Life Sci. J*., **10**(4), 2059-2069.

Fossati, P.; Prencipe, L.; Bertig. (1980). Use of 3, 5-dichloro-2-hydroxy benzene sulfonic acid /4-amino phenazone chromogenic system in direct enzymatic assays of uric acid in serum and urine. *Clin. Chem*., **26**, 227-231.

Ghelani, H.; Chapala, M.; Jadav, P. (2016). Diuretic and antiurolithiatic activities of ethanolic extract of a Corus calamus L rhizome in experimental animal models. *J. Trad.Comp. Med*., **6**(4), 431-436.

Giebisch, G. (2004). Challenges to potassium metabolism internal distribution and external balance. *Wien Klin Wochenschr*. **116**, 353-366.

Gilligam, S.; Raphael, K.L. (2017). Hyperkalemia and Hypokalemia in CDK: prevalence risk factors and clinical outcomes Adv. *Chronic Kidney Dis*., **24**(5), 315-318.

Goff, J.P.(2004). Macromineral disorders of the transition cow. *Vet. Clin. Food Anim*., **20**, 471-494.

Grunberg, W.; Hartmann, H.; Burfeind, O. (2011). Plasma potassium lowering effect of oral glucose. Sodium bicarbponate and the combination there of in healthy neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci*., **94**, 5646-5655.

Grunberg, W.; Morin, D.E.; Drackley, J.K.; Constable, P.D. (2006). Effect of rapid intravenous administration of 50% dextrose solution on phosphorus homeostasis in post parturient dairy cows. *J. Vet. Intern. Med*., **20**(6), 1471-1478.

Guyton, A.C.; Hall, J.E. (2010). "Text Book of Medical Physiology". Philadelphia. USA; 419 p.

Han, D.H.; Lee, M.J.; Kim, J.H. (2006). Antioxidant and apoptosis inducing activities of ellagic acid. *Anticancer Res*., **26**(5), 3601-6.

Huang, F.S.; Chen, C.F.; Chien, C.T.; Chen, J. (2000). Possible biphasic changes of free radical, in ethylene glycol induced nephrolithiasis in rats. *B. J. V. Int*., **85**, 1143-1149.

Huang, H.S.; Ma, M.C.; Chen, J.; Chen, C.F. (2002). Changes in the oxidant - antioxidant balance in the kidney of rats with nephrolithiasis induced by ethylene glycol. *J. Urol.*, **167**, 2584-93

Ilbey, Y.O.; Ozbek, E.; Semsik, A.; Cekmen, M.; Somay, A.I.; Tasci, A. (2009). Effect of pomegranate juice on hyperoxaluria induced oxidative stress in the rat kidneys. *Ren. Fail*., **31**, 522-3.

Jaiswal, S.K.; Gupta, V.K.; Siddiqi, N.J.; Pandy, R.S.; Sharma, B. (2015). Hepatoprotective effect of *citrus limon* fruit extract against carbofuran induced toxicity in wister rats. *Chinese J. Biol*. Article ID **686071**, 10 pages http://dx.doi.org /10.1155 /2015/686071.

Kamath, P.; Wiesner, R.; Malinchoc, M.; Kremers, W.; Therneau, T. and Kosberg, C. (2001). Amodel to predict survival in patiens with end stage liver disease. *Hepatology*, **33**, 464-470.

Kapilraj, P.K. (2015). Prophylactic and curative activity of *Barleria Buxifolia*. Linn on experimentally induced calcium oxalate nephrolithiasis in animal model. *Int. J. Pharmacol. Clin. Sci*., **4**(4), 68-75.

Karadi, R.V.; Gadge, N.B.; Alagawadi, K.R.; Savadi, R.V. (2006). Effects of *Moringa oleifera* Lam root wood on ethylene glycol induced Urollithiasis in rats. *J. Ethnophamacol*., **105**, 306-311.

Kawaii, S. T.; Yasuhiko, K.; Eriko, O.; Kazunori, Y.; Masamichi, K.; Meisaku, C.; Hiroshi, F. (2000). Quantitative study of flavonoids in leaves of Citrus plants. *J. Agric. Food Chem*., **48**, 3865-3871.

Keles, M.; Behcet, A.I.; Gumustekin, K. (2010). Antioxidative status and lipid peroxidation in kidney tissue of rats fed with vitamin B_6 deficient diet. *Ren. Fail*., **32**, 618-622.

Khan, S. R.; Kok D. J. (2004). Modulators of urinary stone formation. *Front. Biosci.*, **9**(1-3),1450-1482.

Kohjimoto, Y.; Shinka, T.; Morimoto, S.; Nishihata, M. (2004). Future perspective on the prevention of nephrolithiasis. *Hinyokika kiyo* **50**(8) : 591-6.

Kumar, M.S.; Neha, U.; Kant, T.S.; Anant, S.; Ankit, S. (2015). Anti-urolithiatic effect of *Terminalia billirica* ROXB. fruits on ethylene glycol induced renal calculi in rats. *Indo. Amer. J. Pharma. Res*., **5**(5), 2230-8407.

Lidiane, M.L.C.; Antonia, A.C.A.; Rizanngela, L.M.F.; Gilberto, S.C. (2011). Effect of citrus lemon essential oil in mice. *J. Biomed. Biotechnol*., **66**, 2-8.

Lu, S.C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochim. Biophys. Acta*., **1830**(5), 3143–53.

Makasana, A.; Ranpariya, V.; Desai, D.; Mendpara, J.; Parekh, V. (2014). Evaluation for the antiurolithiatic activity of *Launaea procumbens* against ethylene glycol induced renal calculi in rats. *Toxicol. Rep*., **1**, 46-52.

Miya, K.; Yamamoto, K.; Tsujihara, N.; Osawa, T. (1998). Protective effect of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids*. **33**, 689-695.

Moorehead, M.S.; Briggs, H.G. (1974). 2-amino-2-methyl-1-propanol as the alkalizing agent in an improved continuous flow cresophthalein complexone procedure for calcium in serum. *Clin. Chem.,* **20**,1458- 1460 .

Naghii, M.R.; Jafar, M.; Mofid, M.; Eskandari, E.; Hedayati, M. Khalagie, K.(2014). The efficacy of antioxidant therapy against oxidative stress and androgen rise in ethylene glycol induced nephrolithiasis in wister rats. Human and Experimental Toxicology. *DOI* **10**.1177/ 0960327114558889.

Ortuno, A.A., Baidez, P.; Gomez, M.C.; Arcas, I.; Porras, A.G.; Del Rio, J.A. (2006). *Citrus paradise* and *Citrus sinensis* flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chem*., **98**(2), 351-358.

Pararin, S.; Rouhi, L.; Pirbalouti, A. G.(2016).The beneficial effects of hydro-alcoholic extract of *Punica granatum L*. leaves and flowers on ethylene glycol induced calculi in rars. *J. Herbal Drugs*., **7**(1) , 59-64.

Parmar, R.K.; Kachchi, N.R.; Tirgar, P.R.; Desai, T.R.; Bhalodiya, P.N.(2012). Principle evaluation of antiurolithiatic activity of *Swertia chirata* stems. *Inte. Res. J. Pharm*., **3**(8), 198-202.

Patel,,, P.; Patel, M.; Saralai, M. (2012). Antiurolithiatic effect of solanum xanthocarpum fruit extract on ethylene glycol induced nephrolithiasis in rats. *J. Young Pharma*., **4**, 164-170.

Potts, J.M. (2004). Essential Urology: A guideline to clinical practice. *Humana Press*., **9** ,117-130.

Prabhu, V.V.; Sathyamurthy, D.; Ramaswamy, A.; Das, S.; Anuradha, M.; Pachiappan, S. (2016). Evaluation of protective effects of diosmin (a citrus flavonoid)in chemical induced urolithiasis in experimental rats. *Pharma. Biol*., **54**(9), 1513-1521.

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin. Interv*. *Aging*., **2**(2), 219–36.

Rahmani, A.H.; Alsahli, M.A.; Almatroodi, S.A. (2017). Active constituents of pomegranates (*Punica granatum*) as potential candidates in the management of health through modulation of biological activities. *Pharma. J*., **9**(5), 689-695.

Ramu, R.S.; Doraiswamy, R.; Yadav, H. M. (2017). Antiurolithiatic activity of aqueous bark extract of crateva magna lour (DC). *Int. Res. Ayurveda Pharma*., **8**(2), 271-278**.**

Ravindra, R.; Kard, R.V.; Gadge, N.B.; Algawadi, K.R.; Saradi, R.V. (2006). Ethylene glycol induced urolithiasis in effect of Moringa oleifera lam Root wood in rat. *J. Ethnopharmacol.,* **105** (1-2), 306-11.

Roche, M.; Dufour, C.; Loonis, M.; Reist, M.; Corrupt, P.; Dangles, O. (2009). Olive phenols efficiently inhibit the oxidation of serum albumin-bound linoleic acid and butyryl choline esterase. *Biochim. Biophys. Acta. General Subjects*., **1790** (4), 240-248.

Samuelsson, M.; Vainikka, L. and Öllinger, K.(2011). Glutathione in the blood andcerebrospinal fluid: a study in healthy male volunteers. Neuropeptides, **45**(4), 287–92.

Sangames, W.B.; Balakrishnan, B.R.; Chumbhale, J.; Jaya-ker, B. (2009). In vitro antioxidant activity of roots of the spesia lampas dalz and gibs pak . *J. Pharm. Sci*., **22**(4):368-372.

Santhosh, K.M.; Selvam, R. (2003). Supplementation of vitamin E and selenium prevents hyperoxaluria in experimental urolithic rats. *J. Nutr. BioChem*., **14**, 306-313.

Scalley, R.D.; Ferguson, D.R.; Piccaro, J.C.; Smart, M.L. (2002). Treatment of ethylene glycol poisoning . *Amer. Fam. Phys*., **66**(5), 807-12.

Singh, A.P.; Singh, A.J.; Singh, N. (2011). Pharmacological investigation of *Punica granatum* in glycerol-induced acute renal failure in rats. *Ind. J. Pharmacol*., **43**(5), 551-556.

Steel, R.G.D.; Torrie, J.H. (1980). "Principle and Procedures of Statics". McGraw – Hill, New York .

Sunderman, F.W. Jr.; Sunderman, F.W. (1959). The rapid colorimetric estimation of potassium. *Am. J. Clin. Path.,* **29**, 95.

Sunitha, J.; Thironavukkaras, P.; Ash S. (2018). A retrospective study on prevalence and risk factors associated with kidney stone in Vellore district, Tamil Nadn. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*., **48**(1), 54-57.

Tabacco, A.; Meiattini, F.; Moda, E.; Tarli, P. (1979). Simplified enzymic /colorimetric serum urea nitrogen determination. *Clin. Chem*., **25**, 336-337.

Thamilselvan, S.; Menon, M. (2005). Vitamin E therapy prevents hyperoxaluria induced calcium oxalate crystal deposition in the kidney by improving renal tissue antioxidant status. *B.J.U. Int*., **96**, 117-126.

Tietz, N.W. (1999). "Text Book of Clinical Chemistry".W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA pp. 112-195.

Touhami, M.; Laroubi, A.; Elhabazi, K.; Loubna, F.; Zarar, I.; Eljohiri, Y.; Oussama, A.; Grases, F.; Chait, A. (2007). Lemon juice has protective activity in a rat urolithiasis model. *BMC Urol*. **7**(1), 18 .

Tugcu, V.; Kemahli, E.; Ozbek, E.; Arinci, Y.V. (2008). Protective effect of potent antioxidant, pomegranate juice in the kidney of rats with nephrolithiasis induced by ethylene glycol. *J. Endourol*, **22**, 2723-2732.

Vreorijik, I.O.; Van Diepen, J.A.; Van den, B. (2011). Pomegranate seed oil a rich source of punicic acid prevent diet induced obesity and insulin resistance in mice. *Food Chem. Toxicol*., **49**(6), 1426-30.

Wang, P.F.; Zheng, R.L.(1992). Inhibitors of the autoxidation of linoleic acids flavonoids in micelles. *Chem. Phys. lipids*, **63**, 37-40.

Yu, J.; Wang, L.; Walzem, R.C.; Patel, B.S. (2005).Antioxidant activity of citrus limonoids flavonoids and coumarins. *J. Agric. Food Chem*., **53**, 2009-2015.

Zahid, H.; Bawazir, A.S.; Rafiuddin, N. (2009). Plant based native therapy for the treatment of Kidney stones in Aurangabad (M.S). *J. Pharma. Phytochem*., **1** (6), 189-193.