

تأثير المعاملة بنترات اليورانيل على بعض وظائف الكلى وبعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض

كلية التربية /جامعة القادسية

م. أسيل نجاح صبر

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى تقييم التأثيرات الفسيولوجية لمادة نترات اليورانيل بجرعة 70ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة (4) أسابيع في ذكور الجرذان البالغة المجرعة فمويا بهذه المادة من خلال المعايير التالية :

قياس مستويات اليوريا و الكرياتينين في مصل الدم و قياس تركيز البروتين الكلي والألبومين و الكلوبيولين في مصل الدم .وقد أظهرت النتائج ارتفاعا معنويا ($P<0.05$) في معدلات مستويات اليوريا والكرياتينين في مصل الدم للمجموعة المعاملة بنترات اليورانيل ،وكذلك حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تراكيز البروتين الكلي والألبومين و الكلوبيولين في مصل الدم في المجموعة المعاملة مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة التي أعطيت ماء شرب عادي.

المقدمة Introduction

أزداد الاهتمام بسمية المعادن الثقيلة نتيجة لزيادة تراكمها في البيئة بسبب ارتباطها بعمليات التطور الصناعي وقدرتها العالية للارتباط بالعديد من الجزيئات العضوية لا سيما البروتينات ،فضلا عن كونها من السموم غير المتحللة حيويا ،أذ يمكن أن يتغير نوع المركب إلا أن العنصر يبقى ويزداد تركيزه تدريجيا [1] . يعد اليورانيوم Uranium من المعادن السامة التي كثر استعمالها صناعيا وبشكل واسع لاسيما بعد الحرب العالمية الثانية،واليورانيوم معدن ثقيل ذو شكل فضي رمادي، يتوافر في القشرة الأرضية بحدود 3ملغم/كغم ضمن صخور الكرانيت وترسبات بعض المعادن المختلفة وأنه أكثر توافرا في الطبيعة من بعض العناصر مثل الزئبق والفضة والذهب[2] . وتعد نترات اليورانيل $Uranium Nitrate (N_2O_8U)$ من أملاح اليورانيوم سريعة الذوبان في السوائل الجسمية و توجد على هيئة أيون اليورانيل (UO_2) المتكون من ارتباط الأوكسجين مع اليورانيوم في حالة التكافؤ السداسي [3]. ويعد التسمم الكيميائي والأشعاعي من النتائج المتوقعة عند التعرض لليورانيوم ومركباته ،حيث يكون التسمم الأشعاعي هو الأكثر تأثيرا [4]. وينفذ اليورانيوم من البيئة الى الجسم عبر الهضم مع الغذاء أو الشرب أو من خلال التنفس عبر استنشاق دقائق التربة الملوثة باليورانيوم مع الهواء [5]. كما أظهر استعمال اليورانيوم المنظف حديثا في الأسلحة ،ممراد جديدا لنفوذ اليورانيوم المظمو $embedded uranium$ [6]. من التأثيرات المرضية لليورانيوم في اللبائن ،حدوث نزف دموي في العيون والأنف ،حدوث احتقان في الاوعية الدموية للسيقان ،ومن ثم حدوث النزف الدموي فيها [7] . كما ظهرت أعاقة واضحة لوظائف الخلايا العصبية في الجرذان بعد إعطائها مركبات اليورانيوم [8]. تعد العظام من الأنسجة الرئيسة التي يحدث فيها تراكم لليورانيوم ويكون له تأثير سلبي فيها من خلال تثبيطه لتكوينها بسبب تأثيره المباشر في الخلايا المكونة للعظم [9]. يؤثر اليورانيوم في فسيولوجيا والتكاثر والنمو والتطور في الفئران مما يؤدي الى تأثر تطور الجنين وأعاقة تكوين القطع الجنينية وحدوث تشوهات خارجية وداخلية [10]. كما يثبط اليورانيوم استهلاك جزيئات ثالث فوسفات الأدينوسين فضلا عن أنه يعمل على تثبيط الفسفرة التأكسدية Oxidative Phosphorylation لبيوت الطاقة في النيبات البولية القريبة في الكليتين مما يؤدي الى تحطم خلاياها [11] . ونظرا لتزايد نسب العناصر الثقيلة في البيئة ولاسيما اليورانيوم في الوقت الحاضر، فقد هدفت هذه الدراسة الى تسليط الضوء على بعض التأثيرات الفسيولوجية لأحد أملاح اليورانيوم وهي نترات اليورانيل في ذكور الجرذان من خلال تقييم وظيفة الكلية ومدى تأثيرها بهذه المادة وذلك من خلال قياس المستوى المصلي لكل من اليوريا Urea والكرياتينين Creatinine حيث أن مستواهما يعكس الحالة الوظيفية للكلية ومدى قدرتها على ترشيح وأفراز وإعادة امتصاص هذين المركبين بالإضافة الى قياس تركيز كل من البروتين الكلي والألبومين و الكلوبيولين في مصل الدم.

مواد وطرائق العمل Materials and Methods

شملت الدراسة (16) ذكر ناضج من الجرذان البيض تراوحت أعمارها ما بين (10-12) أسبوعا وبلغ معدل أوزانها (237.5) غم ،وضعت الجرذان في غرفة تابعة للبيت الحيواني وكانت درجة حرارة الغرفة تتراوح بين 25- 28 درجة مئوية ،تم وزن الحيوانات بأستخدام ميزان وبعد ذلك وضعت بداخل أقفاص بلاستيكية مفروشة بنشارة الخشب ومغطاة بأغطية معدنية مشبكة وزودت الحيوانات بالماء والعليقة بصورة حرة ad libitum .

قسمت الحيوانات عشوائيا الى مجموعتين رئيسيتين ضمت كل مجموعة (8) جرذان وكالاتي:-

1-مجموعة السيطرة:- أعطيت الجرذان في هذه المجموعة ماء الشرب العادي .

2-مجموعة المعاملة :- جرعت جرذان هذه المجموعة فمويا بمادة نترات اليورانيل بجرعة مقدارها (70)ملغم /كغم من وزن الجسم وبمعدل ثلاث مرات أسبوعيا ولمدة (4) أسابيع. [12]

بعد أنتهاء مدة التجريب (4أسابيع) وفي نهاية الأسبوع الرابع, [12],خدرت الجرذان بواسطة الأثير لغرض جمع عينات الدم بطريقة الوخز القلبي cardiac puncture وبكمية (5) مل حيث وضعت عينة الدم المسحوب في أنبوبة اختبار غير حاوية على مادة الهيبارين ،وحفظت في الثلاجة بدرجة (4م) وبشكل مائل وبعد مرور نصف ساعة نبذت مركزيا (2000دورة/دقيقة) ولمدة (15) دقيقة للحصول على المصل Serum .قسم المصل المعزول في أنابيب وأغلقت الأنابيب بأحكام ،وحفظت في المجمدة (-20م) لأستخدامها في أجراء الفحوص الكيموحيوية Biochemical Tests والتي شملت :-

1- أختبارات وظائف الكلية:- التي تشمل:

أ- قياس تركيز اليوريا في مصل الدم :-

تم قياس تركيز اليوريا في المصل بأستخدام طريقة، [13]، وتتكون عدة القياس من المحاليل الآتية :

محلول رقم (1) : (R1) المحلول القياسي لليوريا Urea Standard Solution ويتكون من :-
8.33 mmol / L (0.5 g / L)

محلول رقم (2) : (R2) محلول انزيم Urease 350 U / L

محلول رقم (3) : (R3) المحلول الملون Color reagent ويتكون من :

Phosphate Buffer PH: 8.0	50 mmol /L
Sodium Salicylate	62 mmol /L
Sodium Nitroprusside	3.35 mmol /L
EDTA	1.0 mmol /L

محلول رقم (4) : (R4) المحلول القاعدي ويتكون من :

Sodium hydroxide (NaOH)	0.5 mol /L
Sodium hypochlorite (NaClO)	24.8 mmol /L

يحضر أولاً محلول العمل Working reagent وذلك بخلط قنينة واحدة من (R2) الى قنينة واحدة من (R3) وتدور رأساً على عقب ، ومن ثم حضرت ثلاث انابيب اختبار واضيفت المحاليل كما مبين في الجدول (1)

الجدول (1) طريقة قياس مستوى اليوريا في مصل الدم .

Reagent Blank العامل الكفيء	Standard القياسي	Sample النموذج	الأنابيب المحاليل
—	10 µl	—	المحلول القياسي (R1)
—	—	10 µl	المصل Sample
1.0 ml	1.0 m	1.0 ml	محلول العمل Working reagent
تخلط المحاليل وتحضن لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 20-25 م° .			
200 µl	200 µl	200 µl	المحلول القاعدي (R4)

تخلط المحاليل وتحضن لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة 20-25 °م ومن ثم تقاس شدة الامتصاصية عند الطول الموجي 580 نانوميتر ، ضد محلول الكفيء .

الحسابات : Calculations

يحسب تركيز اليوريا في مصل الدم حسب المعادلة الآتية :

امتصاصية العينة (Sample) – الكفيء

$$\frac{\text{تركيز اليوريا}}{\text{امتصاصية القياسي (Standard) - الكفيء}} = \text{تركيز اليوريا} \text{ mg / dl}$$

امتصاصية القياسي (Standard) - الكفيء

حيث n = تركيز القياسي Concentration of standard

ب- قياس مستوى الكرياتينين Creatinine :-

تم قياس مستوى الكرياتينين في المصل وفقاً لما ورد في [14]، وتكونت عدة القياس من المحاليل الآتية :

Picric acid	35 mmol / L	محلول رقم 1 (R1)
Sodium hydroxide	1.6 mol / L	محلول رقم 2 (R2)
Creatinine standard	2 mg /L or 177 mmol /L	محلول رقم 3 (R3)
Trichloro acetic acid(TCA)	1.2 mol /L	محلول رقم 4 (R4)

يحضر أولاً محلول العمل Working reagent بمزج المحلول (R1) مع المحلول (R2) بنسبة 1:1 .

حضرت أنابيب اختبار واضيفت المحاليل كما مبين في الجدول (ب) : طريقة قياس مستوى **المصلي** للكرياتينين في مصل الدم

Blank (مل) الكفيء	Standard (مل) القياسي	Sample (مل) النموذج	الأنابيب المحاليل
0.5	_____	_____	ماء مقطر
_____	0.5	_____	محلول رقم 3 (R3)
_____	_____	0.5	المصل
0.5	0.5	0.5	تنكستات الصوديوم (TCA)
تمزج جيداً وتوضع الأنابيب بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق .			
0.5	0.5	0.5	الراشح العلوي
0.5	0.5	0.5	محلول العمل Working reagent
تمزج جيداً ثم تقرأ الامتصاصية على طول موجي 520 نانوميتر بعد 20 دقيقة من اضافة محلول العمل ضد الكفيء لكل من النموذج والقياسي .			

الحسابات : Calculations

يحسب مستوى الكرياتينين في مصل الدم حسب المعادلة الآتية :

امتصاصية العينة – امتصاصية الكفيء

$$n * \frac{\text{امتصاصية القياسي} - \text{امتصاصية الكفيء}}{\text{تركيز الكرياتينين}} = \text{mg / dl}$$

امتصاصية القياسي – امتصاصية الكفيء

حيث n = تركيز القياسي Concentration of standard

2- قياس تركيز البروتين الكلي في بلازما الدم :-

استخدمت لهذا الاختبار عدة قياس تركيز البروتين الكلي ، حيث استعملت طريقة بايوريث Biuret Method والتي أشار إليها [15].

3- قياس تركيز الألبومين في مصل الدم :-

استعملت طريقة Bromocresol Green التي أشار إليها [16] لقياس تركيز الألبومين في مصل الدم.

4- قياس تركيز الكلوبيولين الكلي في الدم :-

استخرج من حاصل طرح تركيز البروتين الكلي في بلازما الدم من تركيز الألبومين في مصل الدم [17] .

التحليل الإحصائي:-

تم التحليل الإحصائي باستخراج المتوسطات الحسابية والخطأ القياسي standard errore لكل مجموعة على حدة للمقارنة بينها باستعمال اختبار T. [18]

النتائج

مستويات اليوريا في مصل الدم :-

أظهر معدل مستويات اليوريا في مصل الدم في المجموعة المعاملة بعد فترة (4 أسابيع) من التجريب ببنترات اليورانيل ارتفاعا معنويا عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) مقارنة مع مستويات اليوريا في مصل دم حيوانات السيطرة. (جدول 1)

مستويات الكرياتينين في مصل الدم :-

تشير النتائج الإحصائية لمعدل مستويات الكرياتينين في مصل الدم الى حصول ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) مقارنة مع معدل المستويات لمجموعة السيطرة. (جدول 1)

تركيز البروتين الكلي :-

بينت النتائج حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل مستويات البروتين الكلي للمجموعة المعاملة عند المقارنة مع معدل مستويات البروتين الكلي لمجموعة السيطرة. (جدول 2)

تركيز الألبومين في مصل الدم:-

لقد أدت المعاملة ببنترات اليورانيل بجرعة (70 ملغم/كغم) من وزن الجسم الى حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز الألبومين في مصل الدم للجرذان عند مقارنتها مع معدل تراكيز الألبومين في مصل الدم لمجموعة السيطرة. (جدول 2)

تركيز الكلوبيولين في مصل الدم:-

أوضحت النتائج حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز الكلوبولين في مصل دم الجرذان المعاملة بـ نترات اليورانيل عند مقارنتها مع معدل تراكيز الكلوبولين في مصل الدم لمجموعة السيطرة .

جدول (1) :- تأثير إعطاء نترات اليورانيل بجرعة 70 ملغم/كغم من وزن الجسم على مستوى إيلوريا والكرياتينين في مصل دم ذكور الجرذان.

الاختبار	مجموعة السيطرة	مجموعة المعاملة
اليوريا mg / dl	0.31 ± 3.89	$1.0 \pm 5.19^*$
الكرياتينين mg / dl	0.21 ± 0.67	$0.20 \pm 1.05^*$

* وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ بين مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة.

القيم تمثل المعدل $\pm$ الخطأ القياسي.

جدول (2) :- تأثير نترات اليورانيل بجرعة 70 ملغم/كغم من وزن الجسم على تركيز البروتين الكلي والألبومين والكلوبولين في مصل دم ذكور الجرذان.

الاختبار	مجموعة السيطرة	مجموعة المعاملة
البروتين الكلي غم/ د.لتر	0.03 ± 4.70	$0.02 \pm 4.22^*$
الألبومين غم/ د.لتر	0.07 ± 3.55	$0.05 \pm 3.22^*$
الكلوبولين غم/ د.لتر	0.03 ± 1.15	$0.05 \pm 1.0^*$

* وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ بين مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة.

القيم تمثل المعدل $\pm$ الخطأ القياسي

المناقشة Discussion

تتكون اليوريا في الكبد نتيجة لهضم المواد البروتينية وذلك من خلال سلسلة من التفاعلات الكيموحيوية تسمى بدورة اليوريا Urea cycle، وتفرز اليوريا للدم عن طريق الكبد لغرض أزالتها و التخلص منها بواسطة الكلية، لذا يعتمد فحص قياس مستوى اليوريا كمؤشر للتأكد على مدى كفاءة الأداء الوظيفي لكل من الكبد والكلية. واليوريا مركب شديد الذوبان في الماء ولا يتفاعل داخل الجسم ويمكنها العبور الى أي غشاء خلوي لذلك نجدها في كل مكان حتى في الدماغ، وتخرج مع العرق و اللعاب والدموع [19] .

يعتمد تركيز اليوريا الموجود في سوائل الجسم على سرعة تكونها في الكبد وسرعة أزالتها بواسطة الكلتيين الى الأدرار. أما سرعة إزالة اليوريا من الدم فتعتمد على تركيزها بالبلازما التي تدخل الى الكلتيين خلال وحدة الزمن (دقيقة) وسعة الكلتيين وقابليتها على إزالة اليوريا من البلازما. وبعبارة أخرى فإن سرعة إزالة اليوريا من الدم عن طريق الكلتيين يعكس وظيفة الكلتيين وكفاءة عملها وذلك لأن الترشيح الكلوي هو من أهم وظائف الكلية إذ تدخل نواتج فضلات الأيض عن طريق الدم الى الكبيبات الكلوية فتشرح هناك وتسير في النبيبات الصغيرة الكلوية ومنها الى خارج الجسم [20] . أشارت النتائج الى حصول ارتفاع معنوي في معدل مستويات إيلوريا في مصل الدم للحيوانات المعاملة بـ نترات اليورانيل، وقد يكون هذا الارتفاع نتيجة لتأثير هذه المادة على مستوى ترشيح الكلية وكذلك على عمليتي الأفرز والأمصاص في النبيبات البولية، حيث أشارت إحدى الدراسات [21] أن زيادة اليوريا في مصل الدم تعتبر مؤشرا لأيض البروتين وتعكس معدل الترشيح للكلية، ويمكن أن يعزى هذا الارتفاع الى تغيرات مرضية نسجية حدثت في نسيج الكلية. أن المستويات العالية لليوريا في مصل الدم لها تأثيرات كبيرة على معظم الأنزيمات الضرورية بالإضافة الى تأثيرها السام على الخلايا عند تجمعها في الجسم وعدم التخلص منها، وتسمى زيادة مستوى اليوريا في الدم بتبلون الدم Uremia بسبب بعض الأمراض مثل التهاب الكلية الحاد Acute nephritis والتهاب الكبيبات الكلوي والجفاف وتصلب الكلية [19] . تنتج مادة الكرياتينين نتيجة لتحطيم فوسفات الكرياتينين Creatin phosphate في العضلات بعد سحب جزيئة ماء منه، وتقوم الكلية بمهمة ترشيح الكرياتينين ولا يعاد امتصاصه وأن أي فشل في أداء الكلية لوظيفتها يؤدي الى رفع مستوى الكرياتينين في الدم لذلك يعتمد فحص المستوى المصلي للكرياتينين في الدم

للكشف عن مستوى أداء الكلية الوظيفي Renal Function وعند تشخيص أي خلل في هذا الأداء يعد مؤشر لوجود ضرر في النفرونات Nephrons.

وقد أظهرت النتائج ارتفاع معنوي في مستويات الكرياتينين في مصل الدم في الجرذان المعاملة بنترات اليورانيل، وقد يشير هذا إلى تأثير مادة نترات اليورانيل في قدرة الكلية على ترشيح الكرياتينين وعلى عمليتي الإفراز والامتصاص مما أدى إلى رفع مستوى الكرياتينين في المصل وقد ذكرت إحدى الدراسات، [22] أن تغير مستوى الكرياتينين في المصل يتعلق بالتغيرات المرضية النسيجية في الكلية، حيث ترتفع نسبته عند الفشل الكلوي الحاد [23]. يستعمل تركيز الكرياتينين الثابت في المصل كمجس لوظيفة الكبيبات لأن كرياتينين الجسم يرشح بكامله تقريباً بواسطة الترشيح الكبيبي، يتراوح تركيز الكرياتينين السوي في المصل بين 0.5–1.5 ملغم/100 مل، وإن أي ارتفاع بسيط يشير إلى أن الشخص مريض في مراحله الأولى ولا يشير ذلك بالضرورة إلى وظيفة كلوية سوية عند جميع الناس، إذ أن الفشل الكلوي الحاد والمزمن يؤديان إلى ارتفاع تركيز الكرياتينين في المصل ويعتبر دليل غير مباشر لمعدل الترشيح الكبيبي الكلوي للحيوانات Indirect Indicator of Renal Glomerular Filtration Rate والذي يستعمل كمقياس لوظيفة الكلية [24]. أما فيما يتعلق بتركيز البروتين الكلي و الألبومين و الكلوبيولين في الدم فتشير نتائج الدراسة الحالية إلى حدوث انخفاض معنوي في تركيز البروتين الكلي في مصل الدم بالإضافة إلى انخفاض في تركيز الألبومين و الكلوبيولين، وقد يعزى التأثير الخافض لنترات اليورانيل لبروتينات مصل الدم إلى تأثير هذه المادة على وظيفة الكلية حيث تسبب نترات اليورانيل خلافاً وظيفياً كلوياً متمثلاً بزيادة نفاذية الكبيبات الكلوية لبروتينات مصل الدم وتخفيض معدل إعادة الامتصاص النبيبي للبروتينات فضلاً عن زيادة طرح البروتينات مسبباً حالة البول البروتيني Protein urea [25]. أذ أن قدرة الأذابة لمركبات اليورانيوم تلعب دوراً مؤثراً في أحداث الضرر الكلوي نتيجة لآليات مختلفة مثل ارتباط جزيئات اليورانيوم مع البروتينات وأحداث تلف في أيض الخلايا داخل النبيبات الكلوية [26]. ونظراً لطول النبيب البولي القريب فضلاً عن كون وظيفته الرئيسية هي إعادة امتصاص البروتين الراشح من الكبيبة الكلوية، لذلك يكون أكثر عرضة لتأثيرات أملاح اليورانيل من باقي أجزاء النبيبات البولية لأمتلاك جزيئات اليورانيل الذاتية قدرة عالية في الأذابة ومن ثم اتحاد أيوناتها مع بروتينات الخلية ضمن جدار النبيبات البولية [27,28]. كما تؤدي التغيرات المرضية إلى حدوث خلل في وظائف الكلية والتي تنعكس في إفراز بروتينات البلازما حيث يؤدي إلى حدوث انخفاض في نسبة أنسياب السوائل النسيجية وبالنتيجة تكون الوذمة وأحتقان الأوعية الكبيبية [29].

المصادر References

- 1- Hurst, C. J.; Kundsens, G. R.; Melnennay, M. J.; Set lzenbach, L. D. & Walter, M. V. (1997). **Manual of environmental microbiology**. American society for microbiology-Washington, D.C. 20005. PP: 475-476.
- 2-Papastefanou, C. (2002). **Depleted uranium in military conflicts and the impact on the environment**. Health Phy; 38:280-282.
- 3-Lide, D. R. (1992). **Handbook of Chemistry and Physics**. 3rd ed. CRC Press. Boca Raton. Pp.256-262.
- 4-Hartman, H.M.; Monette, A. & Avci, H.L. (2000). **Overview of toxicity data and risk assessment methods for evaluating the chemical effects of depleted uranium compounds**. Hum Ecol Risk Assess; 6:851-874.
- 5-Taylor, D.M. & Taylor, S.K. (1997). **Environmental uranium and human health**. Rev Environ Health; 12:147-157.
- 6-Abu-Qare, A.W. & Abou-Donia, M.B. (2002). **Depleted uranium the growing concern**. J Appl Toxicol; 22:149-152. (Medline).
- 7-Domingo, J. L. (1995). **Chemical toxicity of Uranium**. Toxicol. Ecotoxicol., 2 (3) : 74 – 78.
- 8-Pellmar, T. C. ; Fuciarelli, A. F. ; Ejnik, J. W. ; Hamilton, M. ; Hogan, J. Strocko, S. ; Emond, C. ; Motetaz, H. M. and Landauer, M. R. (1999). **Distribution of Uranium in rats implanted with depleted Uranium pellets**. Toxicol. Sci., 49 (1) : 29 – 39.

- 9-Ubios, A. M.; Braun, E. M. and Cabrini, R. L. (1998). **Effect of biophosphonates on abnormal mandibular growth of rats intoxicated with Uranium.** Health Phys., 75: 610 – 613
- 10-Kundt, M.; Ubios, A. M. and Cabarini, R. L. (2000). **Effects of Uranium poisoning on cultured preimplantation embryos.** Biol. Trace. Elem. Res., 75 (1-3): 235 – 44.
- 11-Domingo, J. L.; Llobet, J. M.; Tomás, J. M. and Corbella, J. (1987). **Acute toxicity of Uranium in rats and mice.** Bull. Environ. Contam. Toxicol., 39 : 168 – 174.
- 12-Veronika, M.; Gyorg ,U. and Eva, S. (2004).**Homodynamic effects of uranyl acetate in pregnant rats.** Cejoem; Vol 10 (3):259-268
- 13-Wills , M. R. and Savory, J. (1981). **Biochemistry of renal failure.** Ann. Clin. Lab. Sci. 11, No. 4 : 292-299 .
- 14-Tietz, N. W.(1986). **Textbook of clinical chemistry** .W.B.Saunders, U.S.A. : 1271.
- 15-Bush, B.M. (1975). **Veterinary Laboratory manual.** William Heineman. Medical Books. LTD. London.
- 16- Wooton, I.O.P. (1964). **Micro-Analysis in medical Biochemistry.** 4th ed. Pp: 71-73, 174, 112-114, J. & A. Churchill. LTD. London.
- 17-Wooton, I.O.P. (1964). **Micro-Analysis in medical Biochemistry.** 4th ed. Pp: 71-73, 174, 112-114, J. & A. Churchill. LTD. London.
- 18- Scheffler,W.C.(1980).**Statistics for the biological science.**2nd ed.Addison,Wesley publication company.California.
- 19- Provan, D. and Krentz, A.(2002). **Oxford handbook of clinical and laboratory investigation.** Oxford university press : 424-426.
- 20-Fischbach, F.T. and Dunning, M.B.(2004). **Amanual of laboratory and diagnostic tests.** 7th ed.Lippincott Williams and Wilkings : 345-346
- 21-Klyszejko , B. and Lyczywek , G. (1999). **Effect of a sublethal concentration of deltametrin on biochemical parameters of the blood serum of carp (*Cyprinus carpio* L.) .** Szczecin , Vol. xxix , F2 : 109-117.
- 22-Aydogdu , N. ; Atmaca, G. ; Yalcin , O. ; Taskiran , R. ; Tastekin , E. and Kaymak , K. (2006). **Protective effects of 1- carnitine on myoglobinuric acute renal failure in rats.** Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 33 (1-2) : 119-124.
- 23-Bishop , M. L. ; Fody , E. P. and Schoeff , L. (2005). **Clinical chemistry** . 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins : 223-226 .
- 24-Miller, S. C.; Leroy, B. E.; Tarpley, H. L.; Bain, P. J. and Latimer, K. S. (2004). **A Brief review of creatinine concentration.** College of Veterinary Medicine, University of Georgia, Athens, GA: 30602-7388.
- 25-Jarup, L. (2003). **Hazards of heavy metal contamination.** Br. Med. Bull. 68: 167-182 .

26-Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1999). **Toxicological profile for uranium** (update); Atlanta, G.A: Public Health Service.

27- Leslie, P. & James, L. H. (1997). **Color Text book of Histology** .W.B.Saunders Company .Philadelphia, London, Toronto Montreal Sydney Tokyo .346-352.

28-Anthony, M.L.; Gartland, K.P.; Beddell, C.R.; Lindon, J.C. & Nicholson, J.K. (1994) .**Studies of the biochemical toxicology of uranyl nitrate in the rat's** .Arch Toxicol; 68(1): 43-53.

29-Lacroix, I.; Lapeyre-Mestre, M.; Bagheri, H.; P A. athak. & Montastruc, J.L. (2004). **Nonsteroidal anti-inflammatory drug induced liver injury: a case-control study in primary care**. Fundam Clin Pharmacol;18(2):201-206