تأثير الكتلة الحيوية الفعالة Effective Microorganism (EM) على وظائف الكلية في ذكور الجرذان البيض السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان

وضاح جاسم محمد[1] ، موسى جاسم محمد الحميش[1] ، صالح محمد رحيم[2] ، وليد محمد شيت[3]

[1]قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[2]قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[3]قسم هندسة البيئة ، كلية الهندسة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

(تاريخ الاستلام: 20 / 12 / 2010 ---- تاريخ القبول: 27 / 9 / 2011)

الملخص

يهدف البحث لمعرفة فعالية Effective Microorganisms (EM) في تراكيز الكلوكوز ،البروتين الكلي ، اليوريا والكرياتينين في مصل دم ذكور الجرذان البيض السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان وكذلك اختبار اثر الارتفاع في تركيز سكر الدم والسمية النسجية لـ EM في كلية ذكور الجرذان ومقارنتها مع تأثير عقار الكلبنكلامايد المعروف بدورة في خفض تركيز سكر الدم.

بينت نتائج الدراسة إن حقن الالوكسان تحت الجلد بجرعة 100 ملغم /كغم من وزن الجسم في ذكور الجرذان البيض لمدة 30 يوما أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي في تراكيز الكلوكوز ، اليوريا والكرياتنين وحدوث انخفاض معنوي في تركيز البروتين الكلي

أظهرت نتائج الدراسة إن إعطاء EM أدى إلى حدوث انخفاض معنوي في تراكيز الكلوكوز ، اليوريا والكرياتنين في ذكور الجرذان البيض المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان وحدوث ارتفاع معنوي في تركيز البروتين الكلي. كما أشارت النتائج بان تأثير EM أفضل من تأثيرعقار الكلبنكلامايد في فعاليتة (Glibenclamid) .

أشارت نتائج الفحوصات النسجية بعدم وجود تغيرات نسجية واضحة ومتميزة في الحيوانات السليمة المعاملة وغير المعاملة بـ EM في مقطع الكلية ، أما في الحيوانات المصابة غير المعاملة فأظهرت تغيرات نسجية واضحة أعزيت إلى الارتفاع في سكر الدم ، بينما في الحيوانات المصابة والمعاملة فكانت التغيرات النسجية بدرجة اقل.

يستنتج من نتائج الدراسة الحالية بأنه يمكن الاستفادة من EM في معالجة داء السكر بعد التأكد من عدم وجود أعراض جانبية لها

الكلمات المفتاحية : داء السكر ، الالوكسان ، الكتلة الحيوية الفعالة EM ، Glibenclamid

المقدمة

يحصل داء السكر نتيجة وقوع اضطراب هرموني وعدم توازن في ايض السكريات والبروتينات والدهون مع ارتفاع غير طبيعي في مستوى الكلوكوز في الدم اما بسبب نقص في إفراز الأنسولين أو بسبب وجود خلل يمنع الأنسولين من أداء عمله أو كليهما (Jayasri *et al.*,2008;Tenpe and Yeole,2009) .

وفضلا عن ارتفاع مستوى سكر الدم فان لداء السكر أعراضا أخرى تتمثل بالعطش ، زيادة التبول ،الهزال الشديد ،الكيتونية ،ارتفاع مستوى كولسترول الدم والكليسيريدات الثلاثية في الدم ،الضعف العام ،الجوع وفقدان الوزن. ويؤدي هذا المرض بعد مدة طويلة من الإصابة إلى مضاعفات كثيرة تؤثر على أعضاء الجسم المختلفة منها إصابة شبكية العين ،أمراض الكلية ، القلب والأعصاب مؤدية إلى حدوث تغيرات كيموحيويه ونسجية في هذه الأعضاء (Ene *et al.*,2007; Gulfraz *et al.*,2007) . حيث اشار العديد من الباحثين الى ان ارتفاع مستوى سكر الدم عن المستوى الطبيعي يؤدي إلى حدوث تغيرات غير طبيعية في أنسجة الكبد، الكلية، البنكرياس، الأمعاء الدقيقة والدماغ و تضمنت هذه التغيرات تحطيم أغلب الخلايا الكبدية و خلايا بيتا البنكرياسية ، اختزال في حجم جزر لانكرهانز ، وتضخم في حجم الكبيبات الكلوية ، توسع في فسحة محفظة بومان Bowman's space وتشقق الجسيمات الدموية في الكلية أما في الدماغ فقد لوحظ عدم انتظام ترتيب الخلايا الدبقية (المحمدي ، 2005 ; Mahmood,2002; ; Singh and Cupta, 2007a ; Singh and Cupta, 2007b ;Jayasri *et al.*, 2008).

ترتبط مضاعفات داء السكر بارتفاع مستويات السوربيتول وهو عبارة عن كحول سكري ، وتكمن خطورته في خلايا عدد من الأعضاء منها خلايا عدسة العين والأعصاب والكلى ، حيث لا تستطيع معالجة ارتفاع مستوى الكلوكوز عند غياب هرمون الأنسولين وبهذا فهي تحول سكر الدم(الكلوكوز) إلى السوربيتول ، وإن تراكم السوربيتول في هذه الخلايا يؤدي إلى حدوث تغيرات في الضغط التناضحي Osmatic pressure مؤدياً إلى انتفاخ الخلايا ثم تحطمها أو هبوط في محتوى الإينوسيتول العضلي Myoinositol وضعف فعالية أنزيم ATPase Na^+/K^+ أو كليهما وهذه العمليات قد تكون مسؤولة عن تحطيم خلايا شوان في الأعصاب المحيطية والخلايا المحيطية للأوعية الشعرية لشبكية العين(Bishop *et al.*,2005 ; Jassim *et al.*,2001) .

وحديثا تم اكتشاف الأحياء المجهرية الفعالة Effective Microorganisms أو ما يختصر بـ EM وهي عبارة عن سائل يحتوي أحياء مجهريه نافعة غير مرضية ولا تحتوي على مادة سامة ولم يتم توليد هذه المادة عبر تقنيات الهندسة الوراثية كما أن الأحياء

المجهرية الموجودة فيها غير مولدة عبر تقنيات الهندسة الوراثية (Shintani,2005) كما أنها تحتوي على مواد مضادة للأكسدة والعديد من المعادن و المواد العضوية. وقد استخدم EM في معالجة العديد من الأمراض منها مرض الإسهال في الخنازير ، السرطان ومرض الايدز وتقوية الجهاز المناعي وكذلك استخدم لمعالجة حالة الإجهاد التأكسدي الناتج من تكون الجذور الحرة داخل الجسم(Aruoma *et al*., 2003 ; Chui *et al*., 2006 ; Do *et al*.,2007).

المواد وطرق العمل

الحيوانات المستخدمة :

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الجرذان البيض Sprague Dawely تراوحت أعمارها بين 3–4 أشهر وأوزانها 300–350غراما وقد خضعت الحيوانات لظروف مختبريه من دورة ضوئية انقسمت إلى 11 ساعة ضوء و13 ساعة ظلام ، وثبتت درجة الحرارة على 2± 25 درجة مئوية . وجرى مراعاة نظافة الأقفاص وتعقيمها مع تبديل نشارة الخشب كل أسبوع . وتركت الحيوانات لمدة أسبوعين للتأقلم مع الظروف الجديدة وللتأكد من خلوها من الأمراض . تمت تغذية الحيوانات على العلف المتكون من 35 % حنطة ، 34 % ذرة صفراء ، 20 % فول الصويا ، 10 % بروتين حيواني ، 1 % حليب مجفف يضاف إليها 50 غراما مواد حافظه وفيتامينات ومواد مضادة للفطريات ، وأعطيت الغذاء والماء بشكل مستمر وبكميات كافية طوال مدة الدراسة.

تحديد الجرعة الفعالة (المؤثرة) Active dose :

لتحديد الجرعة الأكثر تأثيراً لـ EM (إنتاج مؤسسة اميرو اليابانية)، تم تقسيم الحيوانات السليمة بشكل عشوائي إلى (5) مجاميع تضم كل مجموعة (3) حيوانات، ووزعت كما يأتي :

المجموعة الأولى: (مجموعة السيطرة Control group) : تم تجريعها الماء المقطر فقط .

المجموعة الثانية: تم تجريعها(1 مل /كغم من وزن الجسم) من EM بتركيز 25%

المجموعة الثالثة:. تم تجريعها(1 مل /كغم من وزن الجسم) من EMبتركيز 50%

المجموعة الرابعة : تم تجريعها(1 مل /كغم من وزن الجسم) من EM بتركيز 75%.

المجموعة الخامسة: تم تجريعها (1 مل /كغم من وزن الجسم) من EM بتركيز 100%.

وقد تم التجريع فموياً(عن طريق التغذية الأنبوبية) لكل حيوان وبعد ثلاث ساعات تم سحب عينات الدم وقياس تركيز الكلوكوز فيها وعلى ضوء ذلك تم اختيار الجرعة الأكثر تأثيراً من EM .

استحداث داء السكر التجريبي

تم استحداث داء السكر التجريبي في ذكور الجرذان من خلال حقنها تحت الجلد Subcutaneous بمادة الالوكسان (شركة BDH. البريطانية) والذي تم تحضيره وقت الحقن بجرعة (100) ملغم/كغم من وزن الجسم إذ تمت إذابته بواقع 1غم من الالوكسان في 10 مل من المحلول الفسلجي Normal saline (Owoyele *et al*,2005) . بعد تجويع الحيوانات لمدة 24 ساعة وبعد الحقن زودت مباشرة بالغذاء ومحلول الكلوكوز 5% لمنع الهبوط الحاد في تركيز سكر الدم نتيجة تحطم خلايا بيتا البنكرياسية وتحرر كميات كبيرة من الأنسولين الذي يعمل على خفض تركيز السكر في الدم(Chahlia,2009b).

أما حيوانات السيطرة السليمة فقد حقنت بـ 1 مل من المحلول الفسلجي فقط ثم سمح لها بتناول الماء والغذاء بشكل طبيعي .وقد تم التأكد من حدوث داء السكر في الحيوانات المعدة للدراسة والمعاملة بالالوكسان باستخدام شريط Uri scan (شركة Accu chek الألمانية)، وبواقع مرة كل يومين ولمدة سبعة أيام للتأكد من ظهور سكر الكلوكوز في البول(Gül *et al*., 2009).

تصميم التجربة :

قسمت الحيوانات عشوائياً إلى خمس مجاميع تضم كل مجموعة خمسة حيوانات وبأوزان متقاربة كما هو مبين في أدناه

المجموعة الأولى: مجموعة السيطرة السليمة أعطيت هذه المجموعة ماء الشرب الاعتيادي مع تجريعها الماء المقطر بوساطة التغذية الأنبوبية مدة 30 يوماً .

المجموعة الثانية : مجموعة سليمة تم تجريعها(1 مل /كغم من وزن الجسم) من EM بتركيز 50% بواسطة ألتغذيه الانبوبيه ولمدة 30 يوما.

المجموعة الثالثة : مجموعة السيطرة ألمصابه بداء السكر التجريبي أعطيت هذه المجموعة ماء الشرب الاعتيادي مع تجريعها الماء المقطر بواسطة التغذية الأنبوبية لمدة 30 يوما.

المجموعة الرابعة : مجموعة مصابة بداء السكر تم تجريعها(1 مل /كغم من وزن الجسم) من EM بتركيز 50% بواسطة التغذية الأنبوبية ولمدة 30 يوما .

المجموعة الخامسة : مجموعه مصابة بداء السكر وقد جرعت بعقار Glibenclamide بجرعة (5 ملغم/ كغم من وزن الجسم) وبواقع جرعة واحدة يوميا (Zainab *et al*,2009 ; Tenpe and Yeole, 2009).

الحصول على العينات الدموية والنسجية:

بعد انتهاء المدة المحددة للتجربة (30) يوما جوعت الحيوانات لمدة 24 ساعة ثم خدرت بوساطة الكلورفورم ، ثم سحبت عينات الدم عن طريق قطع الوريد الودجي (Jugular vein) في الرقبة ووضعت في أنابيب اختبار (test tubes) خالية من مانع التخثر تركت لمدة نصف ساعة تقريبا في حمام مائي بدرجة 37 م، وبعدها تم الحصول على المصل Serum بوساطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة ، وحفظت بدرجة (–20) درجة مئوية لحين إجراء التحاليل الكيموحيوية الخاصة. بعدها نقلت الحيوانات إلى صحن التشريح حيث ثبتت أطرافها الأمامية والخلفية بوساطة دبابيس

دقيقة ، بعد ذلك فتح التجويف البطني بوساطة مقص حاد في أسفل المنطقة الجلدية البطنية وبالقرب من الجهاز التناسلي الذكري، وذلك بعمل شق طولي بشكل حرف (T) مقلوب ابتداءاً من المنطقة الخلفية حتى المنطقة الأمامية، ثم باتجاه الأطراف، بعدها أزيلت الأجزاء الخارجية من الجلد. ثم استأصلت الكلية لدراسة تأثير ارتفاع مستوى السكر عليها وكذلك دور EM في المعالجة من السمية النسجية. بعد ذلك نقلت إلى محلول فورمالين 10% لمدة 24 ساعة بعد ذلك تم غسلها بالماء الجاري لمدة نصف ساعة ثم نشفت بواسطة ورق الترشيح ووضعت في كحول بتركيز (70%) لحين عمل المقاطع النُسجية اللازمة لها (Patil *et al*,2009).

تقدير المتغيرات

قدر تركيز سكر الكلوكوز، البروتين الكلي، اليوريا والكرياتينين إنزيميا باستخدام عدة التحاليل Kit شركة Syrbio, France(Burtis and Ashwood , 1999 ; Henry , 1984)

النتائج

الفحوصات الكيموحيوية

يوضح الجدول (1) تحديد الجرعة الأكثر تأثيرا في خفض تركيز سكر الكلوكوز في مصل دم ذكور الجرذان البيض السليمة لـ EM وقد تبين أن الجرعة (50%) هي الجرعة الأكثر تأثير في خفض تركيز سكر الكلوكوز مقارنة بمجموعة حيوانات السيطرة السليمة والتي اعتمدت كجرعة مستخدمة لتقييم تأثير EM قيد الدراسة.

أظهرت النتائج في الجدول (2) بان هناك زيادة معنوية ($P< 0.05$) في تركيز سكر الكلوكوز ، اليوريا والكرياتينين في مصل دم الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة . ومن خلال المعاملة بـ EM بجرعة 1 سم^3 /كغم من وزن الجسم لمجموعة جرذان سليمة أدى إلى انخفاض غير معنوي في تركيز سكر الكلوكوز، مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة. كما يوضح الشكل أن المعاملة بـ EM لمجموعة ذكور جرذان مصابة أدى إلى انخفاض معنوي($P< 0.05$) في تركيز الكلوكوز، اليوريا والكرياتينين مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة.

كما يوضح أيضا أن معاملة مجموعة ذكور جرذان مصابة بداء السكر التجريبي بعقار الكلبنكلامايد قد أدى إلى انخفاض معنوي($P< 0.05$) في تركيز سكر الكلوكوز ، اليوريا والكرياتينين مقارنة مع حيوانات السيطرة المصابة. كذلك يتبين من خلال الجدول وجود فرق معنوي($P< 0.05$) بين تأثير EM وبين تأثير الكلبنكلامايد في خفض تركيز السكر في مصل دم ذكور الجرذان المصابة بداء السكر.

بينما أظهرت النتائج في الجدول (2) وجود انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في تركيز البروتين الكلي في مصل دم الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة . ومن خلال المعاملة بـ EM وبجرعة 1سم^3 /كغم من وزن الجسم لمجموعة الجرذان السليمة أدى إلى زيادة غير معنوية في تركيز البروتين الكلي مقارنةمع مجموعة السيطرة السليمة ، كما يوضح أيضا أن المعاملة بـ EM لمجموعة ذكور جرذان مصابة أدى إلى زيادة معنوية($P< 0.05$) في تركيز البروتين الكلي مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة. كما يوضح الشكل أن معاملة مجموعة ذكور جرذان مصابة بداء السكر التجريبي بعقار الكلبنكلامايد قد أدى إلى زيادة معنوية($P< 0.05$) في تركيز البروتين الكلي مقارنة مع حيوانات السيطرة المصابة.

جدول (1) تحديد الجرعة المؤثرة في خفض تركيز الكلوكوز في مصل دم ذكور الجرذان البيض السليمة

المعاملات	السيطرة	تراكيز EM 1مللتر/كغم من وزن الجسم			
		%25	%50	%75	%100
تركيز الكلوكوز ملغم /100 مل دم	74.16 ±5.39 b	86.51 ±8.29a	73.33 ± 1.43 b	68.33 ±1.44bc	65.83 ±1.4c

* القيم معبر عنها بالمعدل ±الانحراف القياسي .

* عدد الجرذان (3) في كل مجموعة .

*الأحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند قيم معنوية ($P<0.05$) .

جدول (2) تأثير المعاملة بالالوكسان و EM وعقار الكلبنكلامايد في تراكيزالكلوكوز، البروتين الكلي ، اليوريا والكرياتنين في مصل دم ذكور الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر المستحدثة بالالوكسان

المعاملات	كلوكوز ملغم/100مل	البروتين الكلي	اليوريا ملغم/100مل	الكرياتنين ملغم/100مل
سيطرة سليمة	97 ±5.87 d	6.32 ±4 a	32.2 ± 6.834 c	0.984 ± 0.31 c
سيطرة مصابه	328± 27.68 a	4.175 ± 0.3 c	68 ± 9.659 a	2.126 ± 0.22 a
EM سليمة	96.6 ± 5.68 d	6.51 ± 0.31 a	35.6 ± 8.142 c	1.038 ± 0.29 c
EM مصابه	161.7± 35.79 c	5.09 ± 0.44 b	48 ± 1.826 b	1.59 ± 0.08 b
كلبتكلامايد	199 ± 3 b	5.2 ±0.38 b	49.66 ± 2.082 b	1.683 ± 0.02 b

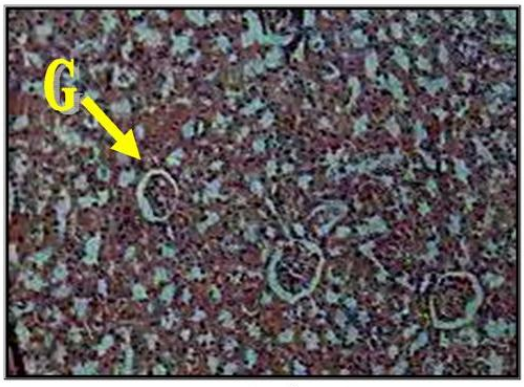
–القيم تمثل المعدل ± الانحراف القياسي. –عدد الحيوانات خمسة لكل مجموعة.

–الحروف المختلفة في العمود الواحدَ تعني وجود فرق معنوي عند قيم الاحتمالية أقل من ($p< 0.05$).

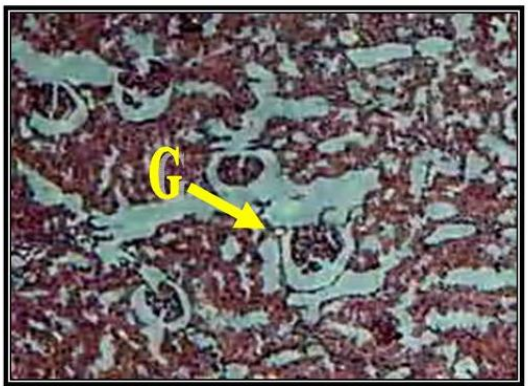
الفحص النسجي

أظهرت نتائج الدراسة النسجية من خلال المقطع النسجي في الكلية لمجموعة جرذان مصابه بداء السكر التجريبي وغير المعاملة (السيطرة المصابة) زيادة في حجم الكبيبات الكلوية واتساع في الفسحة المحفظية أو فسحة بومان (Boman's space) كما في الشكل (2) مقارنة مع حجم الكبيبات الكلوية في المقطع النسجي في الكلية لمجموعة الجرذان السليمة وغير المعاملة (السيطرة السليمة) كما في الشكل (1) اما في مجموعة الجرذان المصابة بداء السكر والمعاملة بـ EM ومجموعة الجرذان السليمة والمعاملة بـ EM فأنة لوحظ عدم وجود تغير في حجم الكبيبات الكلوية وعدم اتساع فسحة بومان مقارنة بمجوعة السيطرة السليمة كما في الشكل(3)، (4)

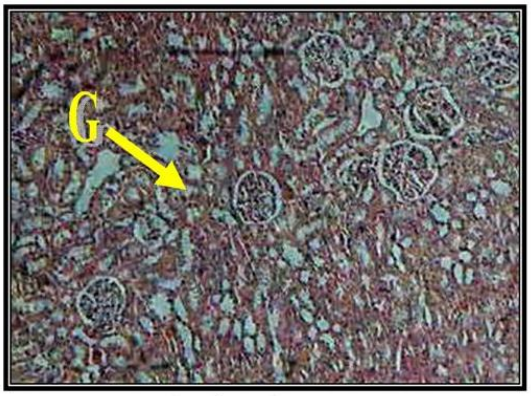
على التوالي كذلك في مجموعة الجرذان المصابة بداء السكر والمعاملة بعقار الكلبنكلامايد فانه لم يلاحظ تغير كبير في حجم الكبيبات الكلوية مقارنة بحجمها في مجموعة السيطرة السليمة كما في الشكل (5). كذلك أظهرت نتائج الدراسة النسجية من خلال المقطع النسجي في الكلية لمجموعة جذران مصابه بداء السكر التجريبي (السيطرة المصابة) وجود نقصان واضح في عدد الكبيبات الكلوية مقارنة بعددها في مجموعة الجرذان السليمة وغير المعاملة . أما في مجموعة الجرذان المصابة والمعاملة بـ EM ومجموعة الجرذان المصابة والمعاملة بعقار الكلبنكلامايد فقد لوحظ تحسن في عدد الكبيبات الكلوية وأصبحت مقاربة لعددها في مجموعة الجرذان السليمة وغير المعاملة (السيطرة السليمة).



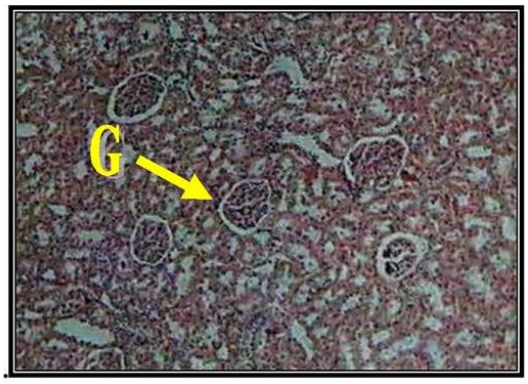
الشكل (1) مقطع نسجي في كلية جرذ ابيض طبيعي غير معامل يوضح الكبيبات الكلوية G. الصبغة: H&E. ,.100X



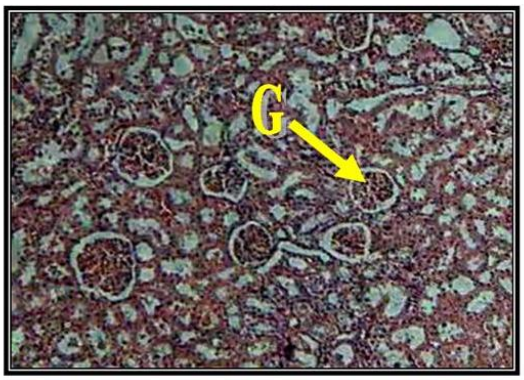
الشكل (2) مقطع نسحي في كلية جرذ ابيض مصاب بداء السكر التجريبي غير معامل يوضح الكبيبات الكلوية G . الصبغة: H&E. ,.100X



الشكل (3) مقطع نسجي في كلية جرذ ابيض طبيعي و معامل بـ EM يوضح الكبيبات الكلوية G . الصبغة: H&E.



الشكل (4) مقطع نسجي في كلية جرذ مصاب بداء السكر التجريبي ومعامل بـ EM يوضح الكبيبات الكلوية G . الصبغة: H&E. ,.100X



الشكل (5) مقطع نسجي في كلية جرذ ابيض مصاب بداء السكر التجريبي ومعامل بعقار الكلبنكلامايد يوضح الكبيبات الكلوية G. الصبغة: .H&E 100X,.

المناقشة

الفحوصات الكيموحيوية

تأثير EM والالوكسان في بعض المتغيرات الكيموحيويه في مصل دم ذكور الجرذان البيض المصابة بداء السكر التجريبي.

***الكلوكوز**

أدى استحداث داء السكر التجريبي في ذكور الجرذان البيض بوساطة حقن الالوكسان تحت الجلد بجرعة (100 ملغ/كغم من وزن الجسم) ارتفاعا معنويا في تركيز كلوكوز مصل الدم وهذة النتيجة تتفق مع ما توصل إليه كل من (الجوكا ، 2007 ; الجلبي وجماعته ، 2009 ; ; Chahlia, 2009a ; Daisy *et. al*.,2009).

وقد يعزى هذا الارتفاع في تركيز سكر الكلوكوز إلى قدرة الالوكسان على مهاجمة خلايا بيتا البنكرياسية المتخصصة في إفراز هرمون الأنسولين وتحطيمها بواسطة تراكم الجذور الحرة التي تكون سامة في خلايا بيتا مما يؤدي إلى توقف عملية حل الكلوكوز وتحفيز عملية تكوين الكلوكوز وحل الكلايكوجين (Benrebai *et. al*.,2007).

أن التجريع الفموي بـ EM لمجموعة ذكور الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي أدى إلى انخفاض معنوي في تركيز سكر الكلوكوز في مصل الدم بالمقارنة مع مستواه في مجموعة السيطرة المصابة ولكنه أدى إلى انخفاض غير معنوي في مجموعة الجرذان السليمة بالمقارنة مع السيطرة السليمة.

وهذا الانخفاض في تركيز كلوكوز الدم قد يعزى إلى قدرة EM على تجديد خلايا جزر لانكرهانز في البنكرياس فضلا عن تعزيز إفراز كمية اكبر من الأنسولين استجابة لارتفاع سكر الكلوكوز في الدم وزيادة تمثيل الكلوكوز عن طريق مسار الكلايكولايسيز (Glycolysis) وكذلك إلى وجود تحسين في مستقبلات الانسولين (Khan *et. al*., 2003 ; Trivedi *et. al*., 2004) .

وقد يرجع سبب هذا الانخفاض إلى تاثير EM في تثبيط الامتصاص المعوي للكلوكوز او تخفيض معدل النشاط البنائي للكلوكوز في الخلايا وتحفيز الاستعمال المحيطي لسكر الكلوكوز من قبل الأنسجة الدهنيه والعضلية عن طريق زيادة الحساسية لهرمون الأنسولين مع انخفاض متزامن مع عملية بناء الكلوكوز (Daisy *et. al*.,2009 ; Babu *et. al*., 2003) .

يضاف إلى ذلك فان سبب الانخفاض في تركيز الكلوكوز قد يرجع إلى الفلافونيدات التي توجد في EM والتي يمكن ان تلعب دورا فعالا في خفض عملية تكوين الكلوكوز في الكبد فضلا عن ثبيط عملية تكوين الكلوكوز من مصادر غير كربوهيدراتية (Gluconeogenesis) عن طريق تثبيط إنزيم كلوكوز –6–فوسفات في الكبد (Juny *et al*., 2006)

***البروتين الكلي**

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن استحداث داء السكر بالالوكسان في ذكور الجرذان البيض أدى إلى انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي وهذا يتفق مع الباحثين (المحمدي ، 2005 ; الدوري ، 2004 ; El-Missiry *et. al*.,2007 ;Tenpe & Yeole , 2009)

وقد يعزى سبب الانخفاض الحاصل في مستوى البروتين الكلي إلى المضاعفات التي تحدث للكلى بسبب الإصابة بداء السكر والذي يؤدي إلى ما يعرف الاعتلال الكلوي(Nephropathy)والذي يتميز بفقدان البروتين الكلي عن طريق البول (Bartosikova *et. al*., 2003) ، كذلك يمكن أن يعود هذا الانخفاض إلى فقدان الأنسولين وعدم الاستفادة من الكلوكوز كمصدر للطاقة في الجسم وبالتالي يلجؤ الجسم إلى استخدام البروتينات والدهون كمصدر للطاقة، حيث تزداد عملية ايض الأحماض الامينيه لإنتاج الطاقة وكذلك عملية تكوين الكلوكوز من مواد غير كربوهيدراتية (Gluconeogenesis) (Ganong , 2003 ; Murray *et. al*., 2003).

أثبتت نتائج الدراسة أن التجريع الفموي بـ EM لمجموعة ذكور الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي أدى إلى ارتفاع معنوي في مستوى البروتين الكلي في مصل الدم بالمقارنة مع مستواه في مجموعة السيطرة المصابة ولكنه أدى إلى ارتفاع غير معنوي في مجموعة الجرذان السليمة بالمقارنة مع السيطرة السليمة.

ويمكن تفسير ذلك إلى دور EM في تحفيز عملية بناء البروتينات في مواقعها المختلفة لاسيما الكبد.

*** اليوريا و الكرياتنين**

بينت نتائج الدراسة الحالية أن استحداث داء السكر بالالوكسان في ذكور الجرذان أدى إلى حدوث ارتفاعا معنويا في مستوى اليوريا و الكرياتنين في مصل الدم وهذا يتفق مع النتائج التي توصل إليها كل من (Bartosikova *et. al*., 2003 ; Daisy *et. al*.,2009) و(الدوري ،2004) في الارانب .

يمكن أن يعزى هذا الارتفاع في مستوى اليوريا والكرياتنين إلى فقدان مصدر الطاقة المباشر (الكلوكوز) بسبب فقدان هرمون الأنسولين وعندها يلجأ الحيوان إلى استخدام البروتينات كمصدر للطاقة والذي ينجم عن ايضها تكوين كميات كبيرة من اليوريا والكرياتنين أو يكون سبب الارتفاع هو المضاعفات المزمنة التي تحدث في بعض أعضاء الجسم نتيجة الإصابة بداء السكر ومنها الاعتلال الكلوي

(Nephropathy) الذي يتميز بتغيرات سلبية بطيئة ومتدرجة في وضيفة الكلى ينجم عنها ارتفاع مستوى اليوريا والكرياتين(Le Roth *et. al*., 2000 ; Bartosikova , 2003).

أثبتت نتائج الدراسة إن التجريع الفموي بـ EM لمجموعة ذكور الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي أدى إلى انخفاض معنوي في مستوى اليوريا والكرياتين في مصل الدم بالمقارنة مع مستواه في مجموعة السيطرة المصابة ولكنه أدى إلى ارتفاع غير معنوي في مجموعة الجرذان السليمة بالمقارنة مع السيطرة السليمة.

وقد يعود هذا الانخفاض في مستوى اليوريا والكرياتين إلى أن EM قد يكون له القدرة على تحسين وظائف الكلية وإعادة الاضطرابات الايضية إلى مسارها الطبيعي .

تأثير عقار الكلبنكلامايد على بعض المتغيرات الكيموحيويه في مصل دم ذكور الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي.

أثبتت الدراسة ألحاليه إن التجريع الفموي بعقار الكلبنكلامايد بجرعة (5ملغم /كغم من وزن الجسم) لمجموعة ذكور الجرذان البيض المصابة بداء السكر المستحدث أدى إلى حدوث انخفاض معنوي في تركيز الكلوكوز، الكليسريدات الثلاثية ، الكولسترول ،LDL-C، VLDL-C وهذا يتفق مع (Jadhav *et. al*.,2009) وكذلك أدى إلى انخفاض معنوي في تركيز AST ، ALT بالمقارنة مع مستواها في مجموعة السيطرة المصابة وهذا يتفق مع(Al-Hazza *et al*.,2008) في حين أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي في تركيز البروتين الدهني عالي الكثافة (Tenp &Yeole ,2009).

ويمكن أن يعزى هذا التأثير في جميع المتغيرات المدروسة إلى دور عقار الكلبنكلامايد حيث إن الإلية الأساسية لفعل هذا العقار تتمثل بتحفيز تكوين الأنسولين من قبل خلايا بيتا B-Cells البنكرياسية (Suba *et. al*., 2004) .

الفحص النسجي

بينت نتائج الدراسة النسجية في الكلية وجود تضخم في حجم الكبيبات واتساع فراغ محفظة بومان واتفق هذا مع نتائج المحمدي (2005)، ونقصان واضح في عدد الكبيبات في مجموعة السيطرة المصابة. فالتغييرات النسجية الحاصلة قد تعزى إلى الإصابة بمرض السكر حيث وجد أن ارتفاع مستوى السكر بالدم يزيد من الإصابة بأمراض الكلى فالنقص الحاصل في عدد الكبيبات الكلوية في مجموعة السيطرة المصابة قد يعزى إلى تحلل أغلب الخلايا أما التضخم الحاصل في حجمها فقد يكون السبب هو لتعويض النقص الحاصل في عدد الكبيبات الكلوية (Mahmood, 2002).

أما التحسن الحاصل في عدد وحجم الكبيبات الكلوية في مجموعة الجرذان المصابة والمعاملة بـ EM قد يعود إلى قدرة EM في خفض مستوى سكر الدم حيث أن التحكم الجيد في مستوى السكر الدم قد يساعد في الوقاية من خطر تضخم الكبيبات الكلوية (Mahmood, 2002) , إذ كما هو معروف فان الإصابة بمرض السكر قد تؤدي إلى حدوث تغيرات على المستوى الكيموحيوي والنسجي لأغلب أنسجة الأعضاء بسبب الارتفاع الحاصل في مستوى سكر الدم . وبذلك فان هذه التغيرات قد تعد مضاعفات لمرض السكر . إلا إن الدراسات العلمية في هذا المجال أشارت بان التغيرات النسجية التي يمكن تقييمها كتغيرات نسجية مرضية بفعل مرض السكر تعتمد بالدرجة الأساس على مدة الإصابة بهذا المرض وشدته (Bartosikova *et.al*.,2003).

المصادر

الجلبي، ناهدة سعيد ،عبد، خديجة يونس و منصور ،لينا عبد. (2009)."دراسة تأثير بذور الحنظل على تركيز السكر في الدم للجرذان" .مجلة تكريت للعلوم الصرفة المجلد (14) ،العدد(1).

الجوكا ، ايمان سعيد شمعون .(2007) ."فصل ودراسة المركبات الفعالة من بذور البزاليا في الفئران المصابة بداء السكر" رسالة ماجستير ،كلية التربية ، جامعة الموصل.

الدوري ، انس ياسين محمود . (2004) . التأثيرات الفسلجية لعدد من المستخلصات النباتية في الأرانب المصابة بداء السكر التجريبي . رسالة ماجستير .، كلية التربية ، جامعة تكريت.

المحمدي ،قصي نوري ردام. (2005). " دراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات حشيشة الليمون *Cymbopogon citratus* في مستوى السكر وعدد من المتغيرات الكيموحيوية والنسجية في مصل الدم لذكور الجرذان Sprague Dawley السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي". رسالة ماجستير، كلية التربية ،جامعة تكريت.

Al-Hazza, I. M. , Ibrahim, S. A., Bashandy, S. A. and. Alshehry, S. A. (2008). Protective Effect of Vitamin B6 Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Male Rats: Effect on Liver enzymes, Glucose, Total protein, and Insulin hormone. Saudi Journal of Biological Sciences, 15 (3) 75-83.

Alsaif, M. A.(2009). Beneficial Effects of Rutin and Vitamin C Coadministration in a Streptozotocin-Induced Diabetes Rat Model of Kidney Nephrotoxicity. Pakistan Journal of Nutrition, 8 (6): 745-754.

Aruoma, O.I., Moncaster, J.A., Walsh, D.T., Gentleman, S.M., Ke, B., Liang, Y.F., Higa, T. and Jen, L.S. (2003). The antioxidant cocktail, effective microorganism (EM), protects retinal neurons in rats against N-methyl-D-aspartate excitotoxicity *in vivo*. Free Radic Res., 37: 91- 97.

Babu, V., Gangadevi T., Subramanian A. (2003). Antidiabetic activity of ethanol extract of cassia ideinii leaf in streptozotocin induced diabetic rats and isolation of an active fraction and toxicity evaluation of the extract. J. Pharmacol. Indian., 35: 290 – 296.

Bartosikova,L., Necas,J., Suchy,V., Kubinova,R., Vesel,D., Benes, L., Bartosik,T., Illek,J., Salplachta, J., Klusakova, J., Bartosova, L., Strnadova V., Frana, P. and Franova, J.(2003). Monitoring of antioxidatve effect of Morin in

Galletto R., Siqueira V.L., Ferreira E.B., Oliveira A.J. and Bazotte R.B. (2004). Absence of Antidiabetic and Hypolipidemic Effect of *Gymnema sylvestre* in Non Diabetic and Alloxan Diabetic Rats. Brazilian Archives of Biology and Technology., 47: 545-551.

Henry, J.B. (1984). "Clinical Diagnosis and management" .17th ed. Sauders publisher .

Jadhav, J. K. , Masirkar V. J., Deshmukh V. N. (2009) . Antihyperglycemic effect of Diospyros melanoxylon (Roxb.) bark against Alloxan-induced diabetic rats. Int.J. PharmTech Res., 1 (2) : 196-200.

Jassim, A.; Al-Ani, M. and Al-Nemer, M. (2001). "The role of polyol pathway in the development of peripheral neuropathy in non insulin dependent diabetes mellitus patients " . J. Bas. Med. Sci., 1 : 44 - 48.

Jayasri, M.A. , Gunasekaran, S. Radha, A. and Mathew, T.L.(2008). Anti-diabetic effect of *Costus pictus* leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Int. J. Diabetes & Metabolism., 16: 117-122.

Jung, U.J., Lee, M.K. ,Jeong, K.S. and Choi, M.S. (2006). The hypoglycemic effects of hesperidin and naringin are paetly mediated by hepatic glucose-regulating enzymes in C57 BL/ KSJ-db Mice. J. Nutr., 134(10): 2499-2503.

Khan A., Sadar M. and Khan M.M.A. (2003), Effect of Various Doses of Cinnamon on Lipid Profile in Diabetic Individuals. Pakistan J. Nutr., 2(5) : 312-319.

Le Roth , D., Taylor, S. and Olefsky, J. (2000)." Diabetes Mellitus a Fundamental text" . 2nd edition Lippincott Williams and Wilkins.

Mahood, A.K.S. (2002). A Morphological and Biochemical Study of the Effect of Captopril, Nifidepine and Garlic on the Experimentally Induced Diabetic Nephropathy in Rats. Ph.D. thesis, College of Medicine, University of Tikrit.

Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A. and Rodwell V.W. (2003), "Harper's Illustrated Biochemistry", 26th ed., McGraw-Hill Company Inc.,USA.

Owoyele, V. B. , Adeyemi, F. M. and Soladoye, A. O. (2005). Effect of aqueous leaves extract of *Ocimum gratissimum* (sweet basil) on alloxan induced diabetes rats . Pharmacognosy M., 1 (2) : 62-64.

Shintani, M. (2005)." Certificate of Analysis of EM•1". EMRO USA Effective Microorganisms.

Singh, N. and Gupta, M. (2007a). Regeneration of B cell in islets of langerhans of pancreas of alloxan diabetic rats by acetone extract of *Momrdica charantia* (Linn) (bittr gourd) fruits. Indian J. Exp. Biol., 45: 1055-1062.

Singh, N. and Gupta, M. (2007b). Effects of ethanolic extract of *Syzgium cumini* (Linn) seed powder on pancreatic islets of alloxan diabetic rats. Indian J. Exp. Biol. , 45 : 861-867.

Alloxan-induced diabetes mellitus in the laboratory rat. Acta. Vet. Brno., 72:191-200.

Benrebai, M., Abidli, N. and Benlatreche, C. (2007) . Lipids and oxidative stress in blood serum of alloxan-induced diabetic rats: possible effects on liver and kidney tissues . Egyptian J. of Hospital Med., 27 : 245– 254.

Bishop, M.L. ;Schoeff, L. and Fody, E.P. (2005). "Clinical Chemistry: Principles, Procedures, Correlations".5thed., Lippincott Company, Philadelphia, pp.268, 297 .

Burtis C.A. and Ashwood E.R. (1999), "Teitz Text Book of Clinical Chemistry", 3rd ed., W.B. Saunders Company, London, UK., pp. 840-843.

Chahlia, N. (2009 a). Comparative evaluation of the hypoglycaemic activity of various parts of *Capparis deciduas*. Biharean Biol., 3 (1): 13-17.

Chahlia, N. (2009 b). Effect of *Capparis decidua* on hypolipidemic activity in rats. J. Med. Plant. Res., 3(6) : 481-484.

Chui, C.H., Hau, D.K.P., Lau, F.Y., Cheng, G.Y.M., Wong, R.S.M., Gambaria, R., Kok, S.H.L., Lai, K.B., Tang, J.C.O., Leung, T.W.T., Higa,T., Ke, B., Tang, J.C., Fong, D.W.F. and Chan, A.S.C. (2006). Apoptotic potential of concentrated effective microorganism fermentation extract on human cancer cells . Int. J. Mol. Med., 17: 279-284.

DO,J. SEO, H. Hwang, J. Kim, J. and Nam, S. (2007). Effective microorganism fermentation extract (EM) attenuates airway hyperreactivity and inflammation through selective inhibition of the TH2 response independently of antioxidant activity . Inter. J. of Molecu. Med., 20:631- 635.

Daisy, P. Santosh, K. and Rajathi, M. (2009). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of *Clitoria ternatea* Linn. in alloxan-induced diabetic rats. Afr. J. Microbiol. Res., 3 (5) : 287-291.

Ene, A.C., Nwankwo, E.A. and Samdi, L.M. (2007). Alloxan-Induced Diabetes in Rats and the Effects of Black Caraway (*Carum carvi L*.) Oil on Their Body Weight**.** Res. J. Medicine & Med. Sci., 2(2): 48-52.

El-Missiry, M.A. Fayed, T.A. El-Sawy, M.R. El-Sayed, A.A. (2007). Ameliorative effect of melatonin against gamma- irradiation-induced oxidative stress and tissue injury. Ecotoxicology and Environmental Safety., (66): 278–286**.**

Ganong, W. F.(2003). "Review of medical physiology", 21st lange medical books/ McGraw-Hill companies, USA, pp: 240-270.

Gül, N., Cebesoy, S. and Özsoy, **N. (2009).** Lectins binding during alloxan-induced diabetes in rat soleus muscle. Afr. J. Biotechnol., 7 (8) : 926-930.

Gulfraz, M . Qadir,G. Nosheen,F. and Parveen, z. (2007). Antihyperglycemic effects of *Berberis Lyceum* royile in alloxan induced diabetic rats. Diabetologia Croatica., pp: 36-3.

Guthrie, D. W. and Guthrie, R. A. (2009)." Management of Diabetes Mellitus". 6 th . Springer Publishing Company, New York. PP.524.

Trivedi, N. A. ,Mazumdar, B., Bhatt, J.D. and Hemavathi, K.G. (2004). Effect of *Shilajit* on blood glucose and lipid profile in alloxan induced diabetic rats. India J . Pharmacol., 36 (6) : 373 -376.

Zainab, K. Rehman, S. Tajuddin, Latif, A. , Jahan, n. (2009). Hypoglycemic activity of *Berg-e-Arusa* and *shoneez*. Indian J. Traditional Knowledge., 8(3): 410-412.

Suba, V., Murogesan, T., Arunachalam, G., Mandal, S.C. and Saha, B.P. (2004), Antidiabetic Potential of *Barleria lupulina* Extract in Rats. Phytomedicine, 11 (3) : 202-205.

Tenpe, C.R. and Yeole, P.G.(2009). Comparative evaluation of antidiabetic activity of some marketed polyherbal formulations in alloxan induced diabetic rats. Int.J. PharmTech Res., 1(1): 43-49.

Effect of effective microorganisms (EM) On Renal Function in Normal and alloxan induced diabetic Male Rats.

Wadah J. Mohammed[1] , Mousa J.M .AL-Humesh[1] , Salh M.Rahim[3] , Waleed M.S.ALabdraba[3]

[1] *dept. of biology , College of Science , Uni . of Tikrit , Tikrit , Iraq*

[2] *dept. of biology , College of education , Uni. of Tikrit, Tikrit , Iraq*

[3] *dept of environmental Eng., College of Engineering , Uni. of Tikrit , Tikrit , Iraq*

(**Received:** 20 / 12 / 2010 ---- **Accepted:** 27 / 9 / 2011)

Abstract

This study was designed to examine the effect of Effective Microorganisms (EM) in the concentration of glucose, total protein , urea and creatinine, in normal and alloxan-induced diabetic rats. The effect of the EM in hyperglycemia and histotoxicity in kidney of male rats and these results were compared with the effect of Glibenclamide as control chemical drug.

The results of this study showed that diabetes mellitus induced by alloxan for 30 days caused a significant increase in concentration of serum glucose, urea and creatinine concentration. While significantly decreased total proteins.

The results of this study reveled that administration of EM produced asignificant decreased in glucose, urea and creatinine concentration. While significantly increased total proteins concentration of alloxan-induced diabetic rats. Also the results referred that the effect of EM was best the effect of the control chemical drug glibenclamide in its activity.

The histological results referred that there were no clear and recognizable changes in the normal rat males treated and or not treated with EM in kidney while in the abnormal treated animals the kidney showed recognizable tissue changes which were caused by the increasing of the blood glucose while in the untreated abnormal animals the tissue changes were less.

The results obtained suggest that these EM may being used for the treatments of diabetes mellitus after be sure that there is no side effect.