

الاعتلال الكلوي السكري التجريبي في الجرذان المحقونة بالالوكسان

بشرى ابراهيم مصطفى

كلية الطب البيطري / جامعة بغداد

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة بهدف معرفة العلاقة بين فرط شحوم الدم المتمثلة بارتفاع مستويات الدم وامراض التصلب الكلوي السكري للجرذان المحقونة بالالوكسان.

في هذه التجربة التي استمرت ثلاثين يوماً، استخدم ثلاثون جرذاً من الذكور البيض البالغة وزعت على ثلاث مجاميع متساوية، المجموعة الاولى (الالوكسان) حققت يومياً بـ ٣٨ ملغم /كغم من مركب الالوكسان مونوهيدريت في الوريد النخبي ولدة ثلاثين يوماً، والمجموعة الثانية (الكوليسترول) غذيت بعنقفة غنية بالكوليسترول بنسبة ١٪ وحققت بالالوكسان بجرعة ٣٨ ملغم/كغم من وزن الجسم لغاية نهاية التجربة، اما المجموعة الثالثة (السيطرة) فتناولت عليقة طبيعية طوال فترة التجربة.

تم قياس التغيرات الكيميائية لمصل الدم والمتمثلة بارتفاع مستويات سكر العنب والكوليسترول. اما التغيرات النسيجية والنسيجية الكيميائية فتمثلت بوجود الياف الغراء مع ترسب الشحوم في اللمه الشعرية للمجموعة (١) و (٢) مقارنة بمجموعة السيطرة.

المقدمة

داء السكري متلازمة من الاضطرابات الايضية للكاربوهيدرات والبروتينات والدهون والماء والشوارد المؤدي الى تغير وظيفي وتركيبى دائمى في معظم انسجة الجسم، حيث يتميز بأختلاف شدته من الخفيف الكاشف عن اعراض مرضية الى الشديد الذي ينتهي بالموت السريع.

صنف داء السكري حسب النشرة العالمية

International diabetes data group /1979 الى نوعين رئيسيين : النوع الاول

- داء السكري المعتمد على الانسولين Insulin dependent diabetes mellitus

والمتميز بالاعتماد الكامل لتصنيع هرمون الانسولين، ويشكل نسبة ١٥٪ من

السكري (Sebai, 1978) اما النوع الثاني داء السكري غير المعتمد على

الانسولين non-insulin dependent وينشأ عن اسباب لا علاقة لها بعملية تخليق

او افراز الانسولين حيث تشمل عدم ارتباط الانسولين بالمستقبلات، او عدم وجود

المستقبلات اساسا على سطح الخلايا او سرعة تثبيط فعالية الانسولين المخلق

(Who, 1985) ويشكل هذا النوع ٩٠٪ من داء السكري.

يعتبر الالوكسان alloxan احد نواتج اكسدة حامض اليوليك Uric acid،

كما يشق من قاعدة البايريمدين حيث يعمل على نخر جزر لنكرهاتس، كما وجد

بقه يستهلك الانسولين المخزون في خلايا بيتا (beta-cells) عن طريق تحفيز

الافراز لتصبح هذه الخلايا خالية من الحبيبات مزججة وذات فجوات.

سجلت ترسبات دهنية داخل تجويف النيبات في الاعتلال الكبيبي السكري

التجريبي. كما تحتوي النيبات المنفوفة الدتية على الهابلين مع تثخن الغشاء

القاعدي، حيث وجد فرط انتاج ثلاثي الكليسرايد المحمول ضمن VLVD very

low density lipoprotein مع ارتفاع البروتينات الشحمية ذات الكثافة الواطنة

(Kostner and Karadi, 1988) LDL low density lipoprotein.

المواد وطرائق العمل

للحيوانات التجريبية:-

استخدم في التجربة ثلاثون من الجرذان الذكور البالغه حصل عليها من السوق المحلي وتراوحت اوزانها بين (١٩٢-١٤٢ /غم) وتم لياؤها في بيت للحيوانات المختبرية بكلية الطب البيطري / جامعة بغداد.

لقد كانت ظروف التجربة لجميع الحيوانات واحدة حيث بلغت درجة الحرارة من ٢٢-٢٨م والاضاءة ٢٤ ساعة يوميا بأستخدام المصباح الاعتيادية وضوء النهار. قدم لجميع الجرذان العلف المركز مع الماء بكميات كافية. تركت الجرذان لمدة ثلاثة اسابيع لتعود على ظروف التجربة والتي استمرت ثلاثين يوماً.

للمواد المستعملة في التجربة:-

تم استخدام مركب الالوكسان مونوهيدريت *alioxan monohydrate* وجرعة ٣٨ ملغرام/كغم، حققت حيوانات المجموعة ÷، ٢ يوماً بجرعة مفردة عن طريق الوريد الذنبى بعد ان يحل بمحلول فسيولوجي.

اما بلورات الكوليسترول فقد انيبت بكمية كافية من الايثر اتخلط بعدها مع كريات العلف الجافة الصغيرة وبمعدل ١٠ غرام من الكوليسترول لكل كيلو علف لتصبح النسبة ١% (Wilens and Stumpf, 1955) ثم تركت هذه للكريات لتجف جيداً في الهواء الطلق حتى يتطاير منها وتترسب طبقة الكوليسترول البيضاء فوقها حيث قدمت كغذاء للمجموعة الثانية.

تصميم التجربة:-

قسمت حيوانات التجربة عشوائيا الى ثلاث مجاميع متساوية وتتألف كل مجموعة من عشرة حيوانات اطعمت المجموعة الاولى (الالوكسان) عليقة عالية وحققت يوميا بمركب الالوكسان ٣٨ ملغم/كغم ولمدة ثلاثين يوما. المجموعة الثانية (الكوليسترول) اطعمت غذاء غنيا بالكوليسترول بتركيز ١٪ لمدة ثلاثين يوما وحققت بجرعة مفردة من مركب الالوكسان ولمدة ثلاثين يوما تناولت عليقة عالية. واطعمت المجموعة الثالثة (السيطرة) غذاءا طبيعيا لنهاية التجربة.

تم سحب ١٠ مللتر من دم كل حيوان بعد منعه لمدة ١٢ ساعة من العلف وعن طريق الوريد الذنبى ولثلاث مرات خلال فترة التجربة.
الفحوصات الكيميائية الحيوية لمصل الدم:-

١. قياس سكر العنب glucos: تم قياس سكر العنب في مصل الدم طبقا لطريقة o-toluidine (Worberk, 1987).
٢. قياس الكوليسترول الكلي: استخدمت طريقة (Zak, 1957) حيث كانت الكواشف جميعها من طراز analar.

الفحوصات النسيجية والنسجية الكيميائية:-

في اليوم الثلاثين من التجربة تم قتل الحيوانات بواسطة الايثر وأستصلت الكليتان وتم الحصول على العشرة حيث قطعت الى اقسام صغيرة بسمك ١×١×١ سم، حفظت بالفورمالين الدارى بنسبة ١٠٪ لغرض الفحص النسيجي وبأستخدام الأصباغ التالية:-

١. الصبغة الروتينية Haematoxylin and Eosin
٢. صبغة فانكيسون Van Gisson: للكشف عن وجود الغراء collagen fiber في الغشاء القاعدي الكينيبي.

٣. صبغة شف الحامضي الدوري (PAS) Perodic acid Schiff للكشف عن وجود متعدد السكريد المتعادل الموجب لصبغة (PAS) في جدران الاوعية الدموية.

كما تم احتساب درجة التغيرات المرضية المتمثلة بكبر حجم اللمة الشعرية مع ترسب الشحوم فيها اضافة الى ترسب الياف لغراء باستخدام العدسة الشينية (X400).

النتائج

التغيرات المريرية:

في اليوم السابع من التجربة لوحظ على حيوانات المجموعة الاولى والثانية كثرة التبول وزيادة العطش مع ضآلة في زيادة الوزن مقارنة بمجموعة السيطرة، وازدادت في اليوم العشرين لغاية نهاية التجربة.

التغيرات الكيميائية الحيوانية:

الجدول رقم (١) يبين التغيرات في معدلات تركيز سكر العنب في مصول الجرذان ، ولقد بين تحليل التباين لمتغيرين وجود فروق ذات مغزى ($P < 0.01$) في معدلات تركيز كولسترول الدم الكلى.

التغيرات النسيجية والنسيجية الكيميائية:-

اوضحت المجموعة الثانية كبر حجم اللمة الشعرية الكبيرة مع زيادة في توسعها، كما اظهرت ترسب فجوات الشحوم مقارنة بمجموعة السيطرة التي لم تظهر مثل تلك التغيرات.

كما بينت المجموعة الاولى كبر اللمة الشعرية وترسب فجوات الشحوم مقارنة بمجموعة السيطرة. تمثلت التغيرات النسيجية الكيميائية بزيادة ترسب الياف الغراء في الغشاء القاعدي الكببيي والتي اخذت اللون الاحمر للمجموعة الاولى والثانية ولم تعكس مجموعة السيطرة مثل تلك التغيرات (صورة رقم ٢) وحيث تم استخدام صبغة شف الحامض الدوري (PAS) اظهرت المجموعة الاولى والثانية استجابة موجبة تمثلت بكثافة اللون البنفسجي المزررق في اللمة الشعرية ومحفظة بومان للمجموعتين الاولى والثانية مقارنة بمجموعة السيطرة والذي يمثل معقد السكريات المخاطي. (صورة ٣ و ٤).

المناقشة

ان زيادة التبول في المجموعة الاولى والثانية تعود للزيادة الكبيرة في مستوى سكر العنب في الدم حيث تتخطى قابلية الاثاييب الكلوية على اعادة امتصاص سكر العنب المترشح عبر الكبيبات مؤديا الى البول السكري حيث ان زيادة سكر العنب يزيد من التحالية (osmolarity) للراشح الكببيي مسببة منع اعادة امتصاص الماء مما يؤدي الى زيادة التبول مع حدوث فرط التوتر (hypertonic) فيبدأ الماء والشوارد بالخروج من داخل الخلية الى سوائل خارج الخلية ومن ثم طرحه عن طريق الكلية وحدث الانتكاز (Strong and Baird. 1972) بثبط الالوكسان خميرة Glucokinase في خلايا بيتا والتي تعمل على تنظيم الاستجابة لتركيز سكر العنب في الدم. ذلك انه عند ارتفاع مستوى سكر العنب في الدم يزداد تحويل هرمون الاثسولين ويحصل العكس عند انخفاضه. لذا فان تثبيط الخميرة يؤدي الى زيادة السكر في مصل الدم مسببه في فقدان تحسس خلايا بيتا لمستوى السكر في مصل الدم مؤديه الى استهلاك الخزين من الاثسولين واجهاد الخلايا المسؤولة عن صنعه (Lenzen and Panten, 1988) وجد ان تغذية الجرذان

بعليقة غنية بالكوليسترول يقلل من فعالية Lipoprotein Lipase (LPL) حيث تؤثر هذه الدهون في حساسية المستقبلات لهرمون الازسولين وارتباطه بها (Zavaroni et al., 1981) ومما يسند هذا الاستنتاج ظهور ميل لأرتفاع معدلات الكوليسترول للمجموعة الاولى والثانية.

ان فرط سكريه الدم قد يتسبب بفرط ضغط الدم الشعيري الكبيبي الذي يؤدي الى chronic hypervolemi مع ارتفاع معدل الترشيح الكبيبي للوحدة الكلوية التي تزيد الضغط الهيدروليكي الشعيري للكبيبات مسببه ضررا واذى في الكبيبات يتميز في البداية ليتطور الى التصلب الكبيبي الشد في Semgental او الكلى Global والذي له علاقة ثابتة بكم حجم الكبيبات. (Dworkin et. al., 1984).

كما افترض نور لفرط شحمية الدم في عملية نشوء الاعتلال الكلوي حيث وجد ان فترة الامتصاص المتأخرة بعد عليقة غنية بالشحوم تسبب ركود شعيري دموي مما تملأ الشعيرات الكبيبية بالكريات الحمر المتلاصقة، بعدها يرجع الدوران طبيعيا. كما وجد (AL-Kaisie, 1992) ان الهيدروكورتيزون الذي يسبب فرط شحمية الدم في الارانب يؤدي نفس التغيير.

ان الكبيبات الكلوية اكثر تعرضا للركود الشعيري في فرط شحمية الدم من غيرها من الاعضاء ولسببين : اولهما ان الارتشاح الكبيبي يزيد من تركيز شحوم المصل غير المرشح بنسبة ١٧% خلال مرور الدم في الوعاء الشعيري، وثانيهما ان ترتيب الاوعية الشعيرية في الكبيبة يجعل من الممكن حصول التوقف في وعاء شعيري واحد واستمرار مرور الدم في الوعاء الآخر (Huang, 1980) ان الاستجابة الموجبة لصبغة (PAS) في المجموعة الاولى والثانية في اللمه الشعيرية المتصخنة ومحفظه بومان ناتجة عن خلال في ليض الشحوم والكربوهيدرات، حيث وجد في دراسات سابقة في الانسان والحيوان، ان مركبات مثل متعدد

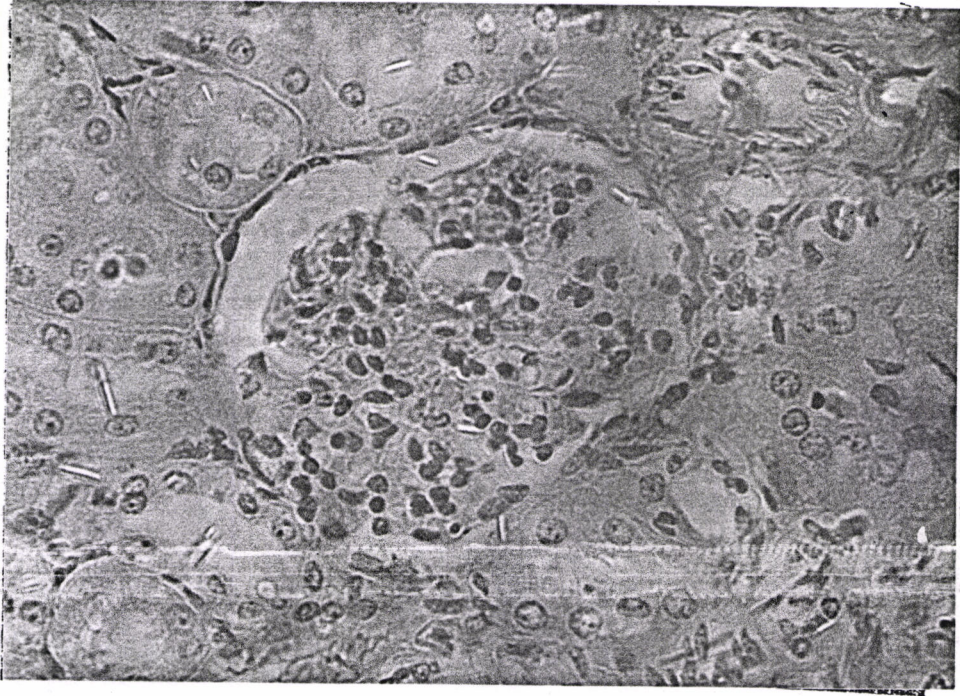
السكريد المتعادل Neutral polysaccharid قد نتجت (Huang, 1980) ان فرط سكرية الدم تؤدي الى زيادة انتاج الياف الغراء للعشاء القاعدي الكبيبي وخاصة نوع IV في داء السكري في الانسان، وانه يقلل من هدم الياف الغراء (Cohen et. al., 1982).

جدول رقم (١): معدلات تركيز سكر العنب في مصل الدم لحيوانات التجربة (ملغرام/١٠٠ مللتر) (X+SD).

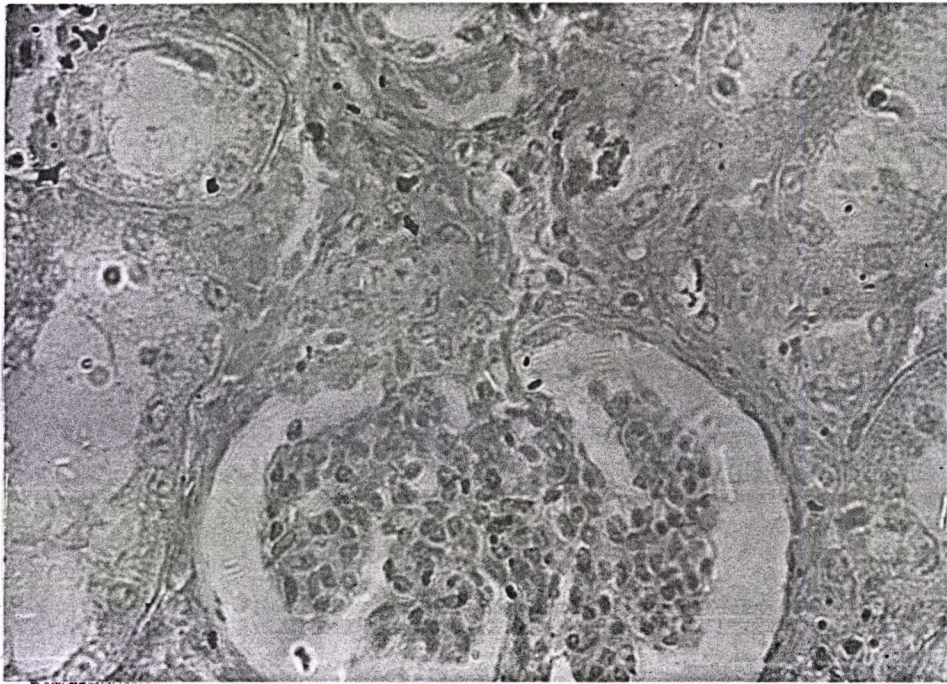
المجموعة الثالثة السيطرة	المجموعة الثانية (الالوكسمان والكوليسترول)	المجموعة الاولى (الالوكسمان)	الفترات (بالايام) فترة معدل الحقن
98.7±1.4	98.8±1.8	96.2±1.5	0
112.2±2.2	280.9±6	200±4	10
97±1.4	377.9±12	250±12	20
92.2±2.1	400±15	390±12	30

جدول رقم (٢): معدلات تركيز كولسترول الدم الكلي لحيوانات التجربة (ملغرام/١٠٠ مللتر) (X+SD).

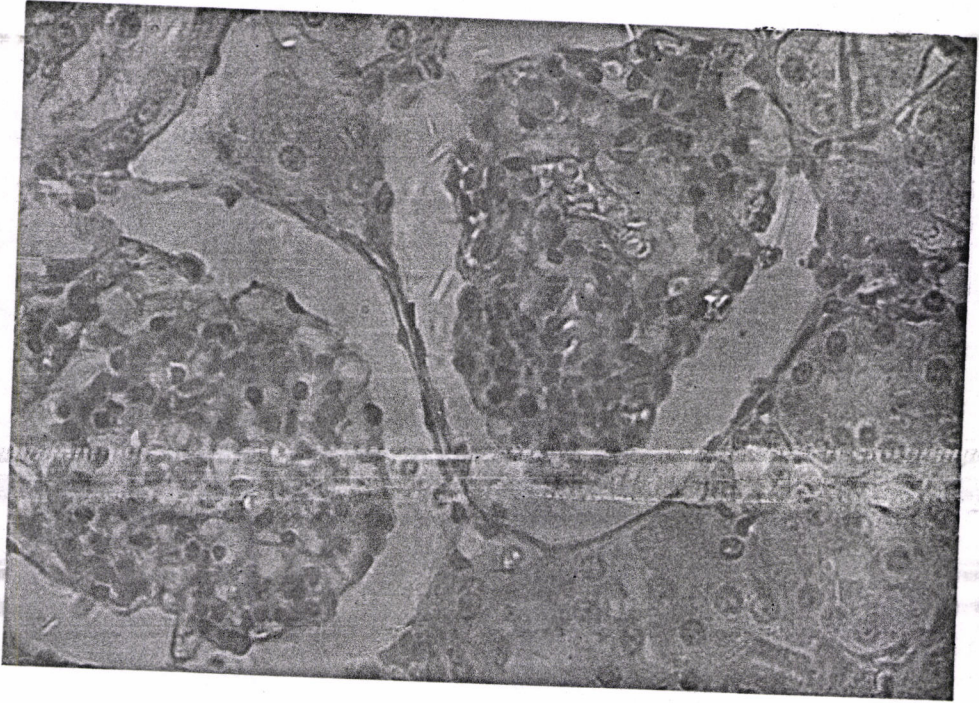
المجموعة الثالثة السيطرة	المجموعة الثانية (الالوكسمان والكوليسترول)	المجموعة الاولى (الالوكسمان)	الفترات (بالايام) فترة معدل الحقن
230.2±2	288.5±4.7	227±1.8	0
338.2±2.5	301±5.7	309±5.9	10
300.3±1.2	1306±20.8	840±15	20
285.2±2.1	1500±3.5	1110±25.6	30



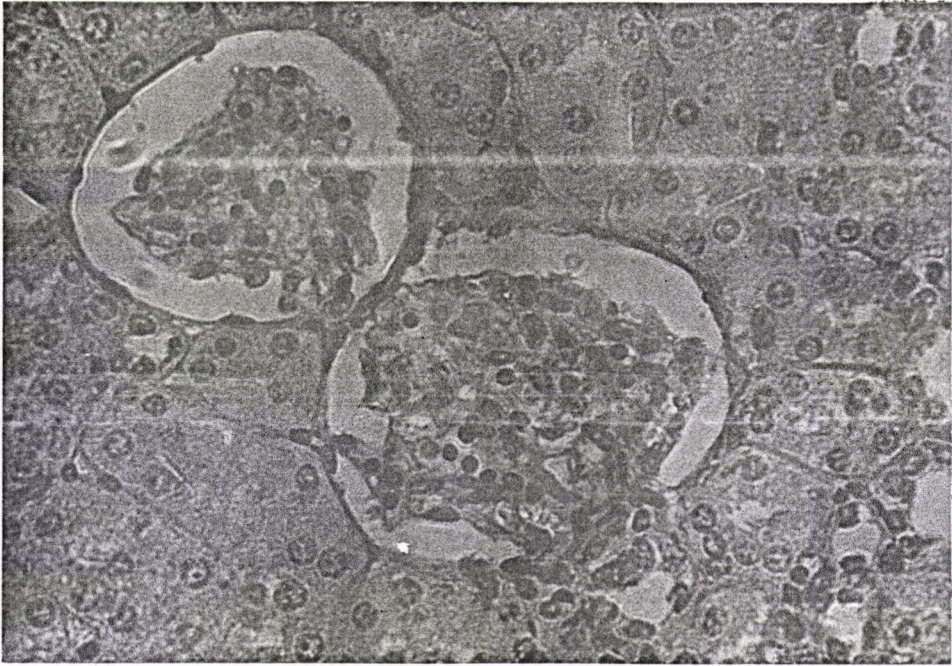
صورة رقم (١) : مقطع نسيجي من كلى حيوانات مجموعة ١ (الالوكسان)
تظهر اللون الاحمر الياف الفراء في محفظة بومان. صبغة
الفانكيسون (400 X).



صورة رقم (٢) : مقطع نسيجي من كلي حيوانات مجموعة ٢
(الكرسترون) يظهر كثافة اللون الاحمر لانياف الغراء في اللمه
الشعيرية ومحفظة بومان . صبغة الفانكيسون (400 X).



صورة رقم (٣) : مقطع نسيجي من كلى حيوانات مجموعة ١ (الالوكسان)
تظهر كثافة اللون الازرق في اللحم الشعيرية ومحفظة بومان والذي
يمثل الميكوبوليسكرايد. صبغة PAS (400 X).



صورة رقم (٤) : مقطع نسيجي من كلى حيوانات مجموعة ٢
(الكولسترون). تظهر اللون الازرق الذي ينتشر في النمه الشعيرية
ومحفظة بومان والذي يمثل الميكوبوليسكرايد. صبغة PAS
(400 X).

REFERENCE

1. ALKaisie, B. I. M. (1992) The pathogenic role of hyperlipidemia in experimental diabetic, glomerulosclerosis. college of Vet. Medicine Baghdad. Athesis.
2. Cohen, M. P., Surma, M. L. and Wu, V. Y. (1982). In vivo biosynthesis and turnover of glomerular basement membrane in diabetic rats. *Am. J. physiol.*, 242, F95.
3. Dworkin, L. D. , Hosteter, T. H., Rennke H. G. and Brenner, B. M. (1984) Hemodynamic basis for glomerular injury in rats with desoxyoxycorticosterone salt hypertension. *J. clin. Invest.*, 73:1448.
4. Huang, T. W. (1980) The nature of basal Lamina alterations in human diabetic glomerulosclerosis. *A. J. path.*, 100, 225-233.
5. Kostner, G. M. and Karadi, I, (1988) Lipoprotein alteration diabetes mellitus. *Diabetolog.*, 31: 717-722.
6. Lenzen, S. and Panten, U. (1988) alloxan; History mechanism of action. *Diabetolog* 31: 337-342.
7. Nobert, W. T. (1987) *Text book of clinical chemistry*; 793-794.
8. Sebai, Z. A. (1987) diabetes mellitus in Saudi Arabia. post graduate doctor., 10(10) ; 582-593.
9. Strong, J. A. and Baird J. D. (1972) Disease of the endocrine system. In: Davidson. S. S. and Macleod, S. (eds). *Principles and Practice of Medicine*: 10 th. edition. Churchill Livingstone Edinburg.

10. Wilens. S. L. and Stumpf, H. H. (1955) nodular and fatty glomerular lesion in rabbits on cotisone. Am. J. path; 34:275-287.
11. Who, Report(1985) WHO study group on diabetes mellitus.
12. Zak, B.(1957) simple rapid microtechnique for serum total chlesterol. Am. J. clin. path., 27: 583.
13. Zavaroni, E. Dell Aligo, C. and Buttrini (1981) Effect of metformin on dietary-induced hypertriglyceridemia in the rat : 155-160 diabetes.

SUMMARY

The present investigation aimed determenation of diabetic nephropathy in alloxan treated rats. The study included:

1. Seruim chemical studies.

2. Histopathological and histochemical study on the kidney glomeruli.

Thirty white male rats were used . They were randomly allocated into 3 groups. I~~z~~group was injected with alloxan monohydrate for 30 days:

2nd group was fed 1% cholesterd lie and injection of 38 mg/kg B.W alloxan dialy for 30 days; 3rd group was kept on normal diet.

Blood glucose and total Serum cholestered in 1 and 2 groups significantly increased at day 10, 20, 30.

Glomerular lesion in 1 and 2 groups were found, characterized by dilation of glomeruli which showed lipid accumulation.

In conclusion, hyperlipidemia accompanying hyperlipidemia in alloxan induced hyperglycemia, in part apossible factor in the pathogenesis of diabetic nephropathy.