



جمهورية العراق  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة ديالى  
كلية التربية للعلوم الصرفة  
قسم علوم الحياة

## تأثير بعض العقاقير المضادة للسكري على التركيب النسجي للكلى والكبد والبنكرياس في ذكور الجرذ الابيض المستحث بالالوكسان

أطروحة مقدمة  
الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة  
الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة  
من الطالبة

**أمل محمود علوان**

بكالوريوس علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى 2013  
ماجستير علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى 2018

بإشراف

أ.د. غالب إدريس عطية

أ.د. زكري عطا ابراهيم

Republic of Iraq  
Ministry of Higher Education & Scientific Research  
University Diyala  
College of Education for Pure Sciences  
Department of Biology



# **Effect of some anti Diabetic drugs on the histological structure of the Kidneys, Liver and Pancreas in male albino rats induced by alloxan**

A Thesis Submitted to the Council of College of Education for Pure Sciences  
/University of Diyala in a Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Degree of Doctorate of Philosophy in Biology

**By**

**Amal Mahmood Alwan**

B.Sc. Biology /College of Education for Pure Sciences /University Diyala 2013

M.Sc. Zoology/College of Education for Pure Sciences /University Diyala 2018

Supervision by

**Professor**

**Dr.Thekra Atta Ibrahime**

**Professor**

**Dr. Ghalib Idrees Atiya**

**1446 A.H**

**2024 A.C**

# الفصل الأول

## المقدمة

## Introduction

## 1. المقدمة (Introduction):

يعد داء السكري (*Diabetes Mellitus*) مشكلة رئيسية صحية عامة وذلك بسبب تأخر الكشف عنه في المراحل الاولى ويكون اكثر انتشاراً في وقتنا الحاضر ويدعى القاتل الصامت (Khan وآخرون، 2019) يزيد من معدلات الاصابة بأمراض القلب والاعوية الدموية والوفيات وتسبب ايضاً اعتلال الشبكية واعتلال الكلية واعتلال الاعصاب، لذا يمكن تعريفه على أنه حالة استقلابية تتزايد بسرعة وتؤثر على اكثر من 400 مليون شخص حول العالم والذي يتميز بفرط سكر الدم الناجم عن نقص الانسولين أو مقاومة الانسولين أو كليهما (Berbudi وآخرون، 2020 ؛ Ogurtsova وآخرون، 2017). ويعد داء السكري من النوع الثاني T2DM هو اكثر امراض التمثيل الغذائي انتشاراً في جميع انحاء العالم والذي يتسم بفرط سكر الدم وفرط انسولين الدم (Lin وآخرون، 2020 ؛ Magliano وآخرون، 2019). وفي الوقت الحالي اصبح انتشار مرض السكري من النوع 2 (T2DM) وباءاً، أن علاج المضاعفات الناجمة عن ارتفاع السكر المزمن في الدم مرهق للغاية من الناحية الاقتصادية يؤدي فرط سكر الدم المزمن تأثيراً ساماً مباشراً على انواع مختلفة من الخلايا بما في ذلك خلايا البنكرياس وخلايا بطانة الاعوية الدمويه وخصوصاً في حالة مقاومة الانسولين التي تسبق ظهور اعراض T2DM ونتيجة لزيادة افراز الانسولين تصبح الخلايا منهكة وتموت، حيث وجد ان الخلايا البطانية الوعائية تكون حساسة بشكل خاص لارتفاع السكر في الدم لانها تنقل الكلوكوز بشكل مستقل عن الانسولين مما يؤدي الى تعرضها للتأثير السام للكلوكوز المرتفع والاجهاد التأكسدي المرتبط به مما يؤدي الى خلل وظيفي في الاعوية الدموية الكبيرة والصغيرة والبدء في تطوير مضاعفات مرض السكري في اعضاء مختلفة. أن تثقيف المريض امر في غاية الاهمية لجميع مرضى السكري وخاصة أولئك الذين لديهم مخاطر عالية للإصابة بمرض السكري ، يجب ان تقدم النصح للمرضى وخصوصاً

المعرضين للخطر وذلك من خلال اجراء تعديلات على الحمية الغذائية ، وفقدان الوزن الزائد ، وممارسة التمارين الرياضية بانتظام، والفحص الدوري للسكر في الدم ، والابتعاد والاقلاع عن التدخين(Shaheen وآخرون، 2021).

ظهر استخدام العديد من ادوية خفض سكر الدم عن طريق الفم لعلاج داء السكري من النوع الثاني T2DM ومن الأدوية الكيميائية التي تعمل على تثبيط سكر الدم وتقلل من احتمال تطور الإصابة بهذا الداء والذي انتشر حديثاً وتم اعتماده من قبل منظمة الصحة العالمية (WHO) وادارة الغذاء والدواء الامريكية (FDA) هو عقار الميتفورمين Metformin تم استخدامه في الدراسة ويكون اكثر شيوعاً ويعرف تجارياً بـ(Glucophage) ، ولا يقتصر عمل الميتفورمين على انخفاض ارتفاع السكر فقط ولكن يعمل ايضاً في تأخير تطور مضاعفات مرض السكري وكذلك يخفض من الاصابة بالسرطان لكونه واحداً من مضادات الاكسدة(Yaribeygi وآخرون، 2019؛ Amircans Diabetes Association، 2021).

يعد الميتفورمين Metformin هو الخط الاول من الادوية التي تؤخذ فموياً لخفض السكر في الدم ويتم استخدامه على نطاق واسع(Graham وآخرون، 2011؛ Gong وآخرون، 2012)، والذي يعد اقدم الادوية المضادة لمرض السكري واكثرها وصفاً (Imam وآخرون، 2017).

وقد ظهرت في الالونة الاخيرة أدوية حديثة من فئة gliflozin وهي كل من Dapagliflozin وEmpagliflozin التي تعد من الادوية المضادة لمرض السكر والتي تعمل على مثبطات الناقل المشترك للصوديوم والكلوكوز 2 (SGLT2i) التي تتوسط في نقل الكلوكوز في الانابيب الكلوية القريبة مما يؤدي الى تثبيط الكلوكوز وتحفيز على البيلة السكرية وبالتالي تحسين التحكم في نسبة السكر في الدم(Defronzo وآخرون، 2017).

تعد مثبطات الناقل المشترك لجلوكوز الصوديوم Sodium- glucose co transporter-2 (SGLT-2) واعدة وهي مجموعة حديثة من العوامل المضادة لمرض السكر والتي تستهدف النقل الأنبوبي الكلوي للكلوكوز، يعتمد عملهم على تقييد SGLT2 في الأنابيب الكلوية القريبة مما يمنع إعادة امتصاص الجلوكوز والملح، وهذا يؤدي إلى خفض مستويات الجلوكوز في الصيام ومستويات الجلوكوز بعد الأكل بشكل مستقل عن الأنسولين لدى المرضى الذين يعانون من داء السكري من النوع 2 (Wanner و Marx، 2018؛ DeFronzo وآخرون، 2021).

كما أن مثبط SGLT2 (إمباغليفلوزين) مثل المركبات الأخرى من نفس الفئة، يقلل من عوامل الخطر القلبية الوعائية مثل وزن الجسم وضغط الدم وتصلب الشرايين فضلاً عن ذلك، وجد أنه يقلل من أحداث القلب والأوعية الدموية ويحافظ على وظائف الكلى لدى المرضى الذين يعانون من T2DM أو بدونه (Yurista وآخرون، 2019؛ Sharma وآخرون، 2023). ومع ذلك فإن فئة الأدوية الواعدة تكون في بعض الحالات محدودة بسبب الآثار الجانبية المحتملة كأحماض الكيتوني والتهابات الجهاز البولي التناسلي (Scheen، 2019؛ Milder وآخرون، 2020).

تعد الكلى عضواً من الأعضاء التي تتأثر بشكل سريع ببعض العقاقير، حيث تتمثل الوظيفة الأساسية للكلى في الحفاظ على حالة التوازن والأستتباب للسوائل في الجسم، وطرح كل من الماء الزائد والكهارل Electrolytes والفضلات من الدم (Mescher، 2018). بالإضافة إلى ذلك كونها غدة رئيسية تفرز بعض الهرمونات مثل هرمون الأريثروبويتين Erythropoietin الذي يعمل على إنتاج كريات الدم الحمراء من خلال تحفيز نخاع العظم والذي بدوره يقوم بذلك، وهرمون الرنين Renin والذي يعمل على تنظيم ضغط الدم (Martini وآخرون، 2020). وبسبب بعض الأدوية تتعرض الكلى بشكل خاص للتسمم نتيجة الحجم الكبير للتزود بالدم ونواقل الغشاء التي بدورها

تسمح للتعرض لتراكيز عالية من الادوية أو مستقلباتها وكذلك وجود الانزيمات الخاصة بأستقلاب الدواء (Chamanza واخرون، 2019).

اما الكبد فيعد عضواً مهماً في ازالة السموم والمركبات السامة والعناصر الاخرى الضارة ونتاجه اغلب بروتينات البلازما التي تتضمن كل من الالبومين وبروتينات الدهنية بالإضافة الى ذلك افراز ونتاج الصفراء وكذلك كعضو خازن للفيتامينات الذائبة في الدهون بضمنها A و D وجزيئات الكلوكوز بهيئة كليكوجين ، إذ تنجز خلايا كوفبر الموجودة في الكبد العديد من الوظائف من ضمنها ازالة البكتريا من الجيوب الدموية وتحلل كريات الدم الحمر (Al-Aamery واخرون، 2020).

اشار كل من Nguyen-Lefebvre و Horuzsko (2015) بأن الكبد هو احد اكبر الاعضاء الموجودة في الجسم وله خصائص الغدد ذو الافراز الخارجي والغدد الصماء.

البنكرياس Pancreas عبارة عن غدة مختلطة الافراز تفرز العديد من الانزيمات الضرورية للجسم ومن اهمها هرمون الانسولين الذي يفرز من خلايا بيتا عند ارتفاع مستوى السكر بالدم والذي ينطلق بسرعة في مجرى الدم ، إذ يقوم هرمون الأنسولين بنقل السكر من الدم إلى خلايا الجسم وخاصة خلايا الكبد والعضلات ولكي يؤدي الأنسولين وظيفته فإنه يتحد مع مستقبلات بروتينية خاصة يطلق عليها مستقبلات الأنسولين ولها وظيفتان أساسيتان - الأولى تعمل كبوابات باتحادها مع الأنسولين تفتتح الخلية ويدخل الأنسولين، أمّا الوظيفة الثانية فهي إرسال إشارات إلى بروتين معين يطلق عليه ناقل الكلوكوز والذي يحمل الكلوكوز إلى داخل الخلية لتقوم بحرقه وإنتاج الطاقة الضرورية لنشاط وحيوية الجسم (Sunsanti وآخرون، 2010). وبالنظر لأهمية هذه الاعضاء في استمرار الحياة بسبب الوظائف المختلفة التي تؤديها ومواقعها ونظراً للتوجه القليل من قبل البحوث

السابقة للتأثيرات النسيجية التي تنتج عن بعض العقاقير على هذه الاعضاء ،لقد اهتمت هذه الدراسة في تمييز بعض الاثار لكل من عقار الميتفورمين Metformine والأيمباكليفلوزين Empagliflozin والداباكليفلوزين Dapagliflozin على التركيب النسيجي لهذه الاعضاء ويمكن تلخيص اهداف الدراسة الحالية كالآتي:

1. دراسة تأثير استحداث السكر بأستخدام الالوكسان على المظاهر السلوكية والعيانية .
2. دراسة التغيرات النسيجية الحاصلة في التركيب النسيجي لكل من الكبد والكلية والبنكرياس للجرذان المستحثة بمرض السكري.
3. تقييم تأثير عقار الميتفورمين ومضادات السكري من فئات الادوية الحديثة وهما كل من (Empagliflozin) و (Dapagliflozin) على التغيرات النسيجية لكلى وكبد وبنكرياس ذكور الجرذان المستحث فيها داء السكري بالالوكسان.



---

**Summary**

Diabetes mellitus (DM) is one of the most common metabolic diseases, especially in people aged 20-70 years, and it may be one of the main causes of death around the world. It is a chronic disease that occurs as a result of an imbalance in the metabolic process and is mainly characterized by high blood glucose concentrations, insulin resistance and beta cell dysfunction, many treatments have emerged that lower blood sugar levels. A drug approved by the World Health Organization, the World Food and the Pharmaceutical Association, which is Metformin, has recently become widespread. A new and modern class of treatments has also appeared, namely SGLT2 inhibitors. Which works to reabsorb glucose from the renal tubules and excrete it with urine. . The current study aimed to determine the behavioral and macroscopic effects of animals with alloxan-induced diabetes treated with Metformin, Empagliflozin, and Dapagliflozin on the tissues of the liver, kidneys, and pancreas in male albino rats. All of these animals were injected with alloxan at a concentration of 150 mg/kg body weight to induce diabetes in them, and the experiment was conducted for thirty days. Forty male albino rats were used and randomly divided into five groups. Each group included eight rats. The control group was injected with 1 ml of distilled water. As for the remaining four groups, they were injected with Alloxan to induce diabetes in them and confirm their diabetes after 72 hours with a glucose meter. The second group had diabetes without treatment or medication. The third group was injected with Metformin at a concentration of 0.4 mg/kg/day, and the fourth group was injected with Empagliflozin at a concentration of 5 mg/kg/day. As for the fifth group, it was injected with Dapagliflozin at a concentration of 2 mg/kg/day. . After the injection period, the animals

---

were anesthetized and sacrificed to remove the required organs (liver, kidney, and pancreas).

Histological sections were prepared by embedding in paraffin wax, and the sections were stained using hematoxylin and eosin (H&E) stain. The sections were examined using a light microscope equipped with a camera, Then the required information was recorded.

Injecting male rats with Alloxan led to them developing diabetes and the appearance of a number of behavioral changes, including withdrawal, lack of activity, and an increase in their appetite for food. Extreme fatigue and lethargy were also observed, especially in the last week of injection. It was also noted that the average weight of the animals increased slightly after the injection, as their average weight before the injection reached 195-200 grams, while it became 250-270 grams after the injection.

After euthanasia of the animals, kidney enlargement was seen in the experimental groups. This shows that the organs have changed in some way.

The results of examination of histological sections of the livers of animals in the experimental groups injected with Alloxan showed the occurrence of many pathological histopathological changes, including degeneration and necrosis of some hepatic cells, bleeding and congestion of blood vessels, and hemorrhage within the sinusoids. Bursting in the cytoplasm of some cells was also observed, as well as the appearance of enlarged nuclei in some of them, while in others, thickening of the cells appeared. Its nuclei, and in some of them, the nuclei are lost and die. In addition, there is infiltration of inflammatory cells, Kupffer cell hyperplasia, dilatation of the sinusoids, congestion of the central vein of the liver, and the appearance of edema within the interstitial tissue of the liver.

---

As for histological sections of the kidneys in the experimental group with induced diabetes, histological changes appeared, such as an increase in Bowman's area, glomerular shrinkage, degeneration and necrosis of the cells forming the urinary tubules, and swelling of the tubular cells. Degeneration of glomerular cells and cells of the parietal layer of the capsule was observed. It also showed the presence of congestion in the blood vessels and the formation of a blood clot with an increase in the thickness of the blood vessel wall, and some cellular changes such as enlarged nuclei, swelling of the cells, the occurrence of gall degeneration and rupture of the cytoplasm with infiltration of inflammatory cells. In addition to the occurrence of fibrosis centered around the blood vessels.

The histological study of the pancreas of the animals of the experimental group with alloxan-induced diabetes showed the occurrence of many pathological histological changes, represented by edema and bleeding within the septa between the lobules, necrosis of the acini in the exocrine part, and rupture in the cytoplasm of the pancreatic cells. As for the endocrine part, there was atrophy of the islets of Langerhans and a decrease in the number of beta cells. It necrotized and bled inside the island.

Liver sections in the diabetic group treated with Metformin at a concentration of 0.4 mg/kg/day showed slight improvements in the tissues of the organs (liver, kidney, and pancreas), but they also suffered from pathological histological changes, perhaps due to the low concentration of the drug used. These changes were represented by congestion of the central and hepatic portal veins. Expansion of the hepatic sinusoids, congestion and bleeding in them. These changes have been associated with the occurrence of gall degeneration; Swelling of some liver cells and loss of the radial organization of the cells in the form of liver cords; edema;

---

Inflammatory cell infiltration around the central vein and portal vein. Cellular changes were also observed, represented by an increase in the number of binucleated cells, in addition to the proliferation of bile ducts and an increase in their diameters.

As for the kidneys in the animals of this group, histological changes were also observed, represented by necrosis of some glomeruli, while others showed their enlargement and increased wall thickness, the appearance of ruptures and hemorrhages in the kidney cortex, as well as the occurrence of bleeding in some of the convoluted tubules. Necrosis was also found in the epithelium lining these tubes, and infiltration of inflammatory cells inside was also revealed. Interstitial tissue of the cortex with the appearance of fibrosis in some histological sections. In some sections, enlargement of some tubule cells appeared, and in some of them a decrease in cell size. As for the nuclei of the tubule cells, it was observed that some of them had thickened and others had enlarged.

As for the pancreas of male rats with induced diabetes and treated with the drug Metformin at a concentration of 0.4 mg/kg/day, it also showed histological changes, according to what was revealed in the microscopic examination, as congestion was observed inside the blood vessels and bleeding inside the septum separating the lobes, as well as bleeding inside the acini of the exocrine part. Congestion of the pancreatic artery and vein, fibrosis around the blood vessels, congestion, and the appearance of edema. As for the internal secretory part, it was noted that the small size of cells inside the islet, bleeding inside the islet, congestion of the capillaries with the occurrence of cell rarefaction, in addition to a reduction in the size of the islet of Lankarhans and its features are unclear, a decrease in the number of cells Noticeably.

---

Histological sections of the liver of male rats with induced diabetes and treated with modern types of medications belonging to the Gliflozin class, which are both Empagliflozin at a concentration of 5 mg/kg and Dapagliflozin at a concentration of 2 mg/kg, over a period of 30 days of the experiment, showed the appearance of many histological changes, some of which were severe. These changes included the formation of a blood clot. Blood inside the central vein, consolidation of blood vessels, rupture and necrosis of hepatic cells, intrasinusoidal hemorrhage, severe infiltration of inflammatory cells, radial irregularity of the cells around the central vein, but rather irregularly. It was also noted that some cell nuclei had suffered from enlargement and others had become wrinkled. Some hepatic cells and their nuclei decomposed, and the cells appeared in a dull color, Collection of Kupffer cells and spread of fatty tissue in the sinusoids, enlargement of some hepatic cells, thrombosis in the portal vein and its expansion and thickening of its wall, rupture and necrosis of part of the membrane of the central vein, and the appearance of fibrosis. In some sections, narrowing of the sinusoids and venous degeneration were observed.

As for the kidneys of diabetic male rats treated with one of the SGLT2i drugs (Empagliflozin or Dapagliflozin), they also showed histological changes that were severe in some of them, including an increase in the thickness and density of the basement membrane of the glomeruli and some urinary tubules, an expansion of the Bowman space, and atrophy of the glomeruli in some sections as well. It was observed that severe blood bleeding occurred inside the glomerulus and between the tubules, necrosis of the glomerulus, as well as rupture of cells in the parietal region of the glomerulus, swelling and separation of some of the epithelial cells lining the renal tubules from the basement membranes and

---

their accumulation in the lumen Cavitation and severe degeneration of the renal tubules, represented by the death of nuclei in the epithelial cells lining the renal tubules, the sloughing of part of the basement membrane surrounding the glomerulus, the death of some cells in the glomerulus, dense infiltration of inflammatory cells, a small size of the cells lining the tubules, thickening of the wall of the blood vessels in them, and congestion of the collecting tubules. The expansion of the tubule was observed as a result of the loss of epithelial cells and their nuclei. In some sections, a narrowing of Bowman's space appeared as a result of enlargement of the glomerulus, as we notice the contact of the glomerulus with its capsular wall.

As for the pancreas of male rats with induced diabetes and treated with one of the SGLT2i drugs (Empagliflozin or Dapagliflozin), it also suffered from severe histopathological changes, including severe congestion within the branch of the pancreatic vein and blood vessels, the appearance of rupture and necrosis in the wall of the intralobular duct, as well as the appearance of edema and bleeding within the gland tissue. Between the acini, we notice atrophy of some secretory acini in the exocrine part. It was also noted that congestion appeared within the interlobular pancreatic duct, thickening of its wall, fibrosis of one of its poles, severe congestion of the large blood vessels, and expansion of the lumen of the interlobular duct. As for the internal secretory part, represented by the islets of Langerhans, it suffered a group of histological changes. These changes included bleeding within the islet, congestion of capillaries, loss of beta cells, small size of the remaining cells, and the appearance of ruptures within the islet. The histological sections also showed the presence of large fat droplets and adipose tissue, and the filling of the pancreatic vein also appeared. With adipose tissue. In addition, the

---

appearance of nerve bundles in the gland tissue and the infiltration of inflammatory cells. There was a loss of beta cells, even if they were present in very small numbers, as well as a clear decrease in the number of cells remaining in the islet, which led to the small size of the islet compared to the cells in the control group.

The study concluded that injection of alloxan led to the induction of diabetes in rats and the occurrence of behavioral changes as well as histological changes in the liver, kidneys and pancreas. This study showed that in order to determine how diabetes treatment medications, namely Metformin and modern medications (Empagliflozin and Dapagliflozin) affect these organs, immunohistochemical tests and histological studies must be performed at concentrations other than those used.