

## دراسة تأثير تراكيز مختلفة من الألوكسان في استحداث داء السكري التجريبي عند الأرانب

عبد الله ديريه\* موفق جنيد\*\* طلة قنبر\*\*\*

(الإيداع: 2 آيلول 2022 ، القبول: 2 تشرين الأول 2022)

الملخص:

أجريت هذه الدراسة على (40) أرنباً بالغاً، وهدفت إلى معرفة تأثير تراكيز مختلفة من الألوكسان (200-150-80) ملغ/كغ في استحداث داء السكري التجريبي من خلال مقارنة مستوى السكر عند الأرانب، استخدمت (4) مجموعات، حيث ضمت كل مجموعة (10) أرانب، تُركت المجموعة الأولى كشاهد طبيعي، بينما حقنت المجموعات الأخرى بالألوكسان لإحداث الإصابة بداء السكري التجريبي، قُدم للمجموعة الأولى ماء وغذاء فقط (شاهد)، في حين حقنت المجموعة الثانية من الألوكسان بجرعة (80) ملغ/كغ لأرانب، والمجموعة الثالثة حقنت بجرعة (150) ملغ/كغ من الألوكسان، والمجموعة الرابعة حقنت بجرعة (200) ملغ/كغ من الألوكسان. أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً ( $P \leq 0.05$ ) في تركيز سكر الدم عند الأرانب المعاملة بتراكيز مختلفة من مركب الألوكسان (80-150/200 ملغ/كغ وزن حي) مقارنة مع مجموعة الشاهد و تبين انه كلما زاد تركيز الجرعة المعطاة من مركب الألوكسان الى حيوانات التجربة زاد تركيز سكر الدم ومن ثمّ بالتالي زادت شدة الإصابة بداء السكري التجريبي.

الكلمات المفتاحية: داء السكري، الألوكسان، سكر الدم.

\*طالب ماجستير - قسم التشريح - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.

\*\* أستاذ - قسم التشريح - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.

\*\*\* مدرس - قسم وظائف الأعضاء - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.

## Studying the effect of different concentrations of alloxan on the development of experimental diabetes mellitus in rabbits

Abdullah Dirih \*      Moufak Junaid \*\*      Talah Kanbar \*\*\*

(Received: 2 September 2022 , Accepted: 2 October 2022 )

### Abstract:

This study was conducted on (40) adult rabbits, and it aimed to know the effect of different concentrations of alloxan (200–150–80) mg/kg in the development of experimental diabetes by comparing the sugar level in rabbits, (4) groups were used, where each A group of (10) rabbits, the first group was left as a normal control, while the other groups were injected with alloxan to cause experimental diabetes. The first group was given water and food only (control), while the alloxan was injected at a dose of (80) mg/kg to the rabbits of the second group, and a dose of (150) mg/kg of alloxan for the rabbits of the third group, and a dose of (200) mg/kg of alloxan for the rabbits of the fourth group.

The results showed a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in the blood sugar concentration in rabbits treated with different concentrations of alloxan compound (80–150–200 mg/kg live weight) compared with the control group. Experimental animals increased Glucose concentration and thus the severity of experimental diabetes increased.

Keywords: Diabetes Mellitus, Alloxan, Blood Sugar.

\*Master student – Department of Anatomy – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.

\*\*Professor – Department of Anatomy – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.

\*\*\* Lecturer – Department of Physiology – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.

## 1. المقدمة Introduction:

يعد مرض السكري Diabetes Mellitus عبارة عن اضطراب استقلابي مزمن ناتج من عوامل مختلفة وراثية أو فيروسية أو بيئية أو وظيفية، ويمثل مرض العصر وذلك لكونه يتميز بإحداث تغيرات كبيرة على مستوى الجسم، حيث وصفه العلماء بأنه عدة أمراض تتحد في مرض واحد يؤدي إلى أضرار بليغة في بعض أعضاء الجسم، وتشارك مع بعضها البعض بسمة فيزيولوجية مشتركة وهي ارتفاع سكر الدم Hyperglycemia في مصل الدم (Chauhan and Dixit., 2007).

ويعزى ارتفاع سكر الدم إلى النقص النسبي (داء السكري من النمط الثاني) أو المطلق (داء السكري من النمط الأول) في إفراز الأنسولين، وإن هذا الخلل الفيزيولوجي يسبب بالدرجة الأولى اضطرابات في استقلاب Metabolism المواد الغذائية التي تمثل مصادر الطاقة للجسم والتي تتمثل في الكربوهيدرات والدهون والبروتينات والأمر الذي يؤدي إلى ارتفاع الجلوكوز في مجرى الدم عن معدله الطبيعي (Al-Salmani., 2007).

ويمثل مرض السكري مشكلة صحية عالمية الانتشار وذلك يرجع لعدة أسباب في مقدمتها التغير الحاصل في نمط الحياة وتغيير العادات الغذائية والثورة التكنولوجية التي حدثت من حركة الإنسان (Rajagopal and Sasikala, 2008).

وشرع العلماء والباحثين في مختلف أنحاء العالم إلى إجراء الدراسات والبحوث العلمية حول هذا الداء في محاولة لإيجاد طرائق لعلاج بعد اتضاح المخاطر التي يسببها هذا الداء، ونظراً لعدم نجاح عمليات زرع البنكرياس السليم في أجسام مرضى السكري نجاحاً تاماً إلى الآن بسبب حدوث تفاعلات كيميائية مناعية نسيجية ضد الخلايا المزروعة داخل جسم المرضى (Chauhan and Dixit., 2007)، لذا فقد اتجه العلماء لدراسة المرض عن كثب وتحديد الصورة الدموية والكيميائية والنسجية للمراحل التي يمر بها داء السكري وابتكار التشخيص والدواء المناسب لكل مرحلة يمر بها المرض وذلك لكبح مضاعفات المرض والتي تشمل العديد من الأعضاء أهمها البنكرياس والكلى والكبد والدماغ وشبكية العين (Kim et al., 2006).

يستخدم الألوكسان Alloxan على نطاق واسع في دراسات مرض السكري التجريبي وجرعات مختلفة حيث يقوم الألوكسان بتدمير خلايا بيتا في البنكرياس بانتقائية عالية بشكل مشابه لمرض السكري الحقيقي عند البشر الذي يحدث نتيجة عوامل مختلفة (Me'ndez et al, 2005). وهو أحد نظائر الجلوكوز السامة التي تتراكم بشكل انتقائي في خلايا بيتا في البنكرياس عبر نواقل الجلوكوز. يولد الألوكسان أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) (Reactive Oxidative Spices) في تفاعل الأكسدة والاختزال الدوري مع منتجات الاختزال وهو حمض الديالوريك (Dialuric Acid). تؤدي الأكسدة المتتالية لحمض الديالوريك إلى إنتاج جذور فوق أكسيد، بيروكسيد الهيدروجين، وجذور الهيدروكسيل. هذه الجذور الهيدروكسيلية هي المسؤولة في النهاية عن موت خلايا بيتا، التي تتمتع بقدرة دفاعية منخفضة بشكل خاص من مضادات الأكسدة.

يثبط الألوكسان بشكل انتقائي إفراز الأنسولين ويعمل على رفع مستويات الجلوكوز من خلال قدرته على تثبيط انزيم الجلوكوكيناز (Glucokinase). ونظراً لخصائصه المؤكدة، فإن الألوكسان يعدل الجزيئات البيولوجية الكبيرة، ويفتت الحمض النووي ويدمر خلايا بيتا، مما يتسبب في حالة من مرض السكري المعتمد على الأنسولين (Zhang et al., 2009). حيث أظهرت الدراسات أن الجرعات المختلفة من الألوكسان تعمل على حدوث تغيرات نسيجية تتمثل بتخريب نسيج البنكرياس والكلى، وتغيرات كيميائية تتمثل في ارتفاع الجلوكوز واليوريا والكرياتينين وتغيرات وزنية تتمثل في وزن الجسم والأعضاء الحيوية (Ahmadvand et al., 2017; Mir et al., 2008).

## الأهداف Objectives:

- معرفة تأثير تراكيز مختلفة من الألوكسان (80-150-200) ملغ/كغ في إحداث داء السكري التجريبي وعلى مستوى تركيز الجلوكوز في مصل الدم عند الأرناب.

## 2. المواد وطرائق العمل **Material and Methods**:

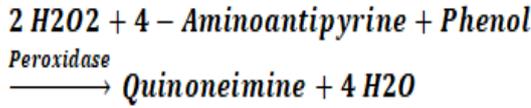
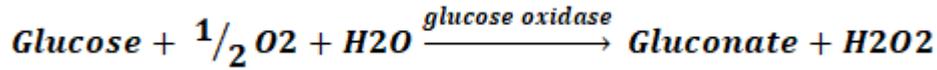
- **حيوانات الدراسة:** أجري البحث على (40) أرنباً بالغاً، ووزن وسطي يتراوح ما بين (1200-1700) غ، جُمعت من الأسواق المحلية. تمت التربية ضمن شروط صحية وظروف ملائمة لإجراء البحث، واستمرت التجربة لمدة (60) يوماً. وُضعت الأرانب داخل أقفاص معدنية خاصة وأقفاص خشبية تم صنعها محلياً مزودة بمعالف ومشارب لتوفير العلف والماء بشكل حر حيث وضع كل (2) أرنب في قفص معدني و+(4) أرانب في الأقفاص الخشبية، مع مراعاة المساحة اللازمة للأرنب الواحد. مع توفير درجة حرارة ( $20 \pm 2$ ) مئوية، ونظام إضاءة 12 ساعة إنارة و12 ساعة تعقيم. كما تم تغذية الأرانب على علف دواجن مرحلة ثانية والذي يحتوي على طاقة 3150 كيلو كالوري وبروتين خام بنسبة 21% والمركب من (كسبة فول الصويا وذرّة وزيت الصويا وفوسفات ثنائي الكالسيوم بالإضافة على بعض الفيتامينات والأملاح).
- **تصميم التجربة:** بعد مرور فترة (15) يوماً وتأقلم حيوانات التجربة مع الوسط المحيط، قُسمت إلى (4) مجموعات، حيث ضمت كل مجموعة (10 أرانب) قُدّم لها خطة علفية متوازنة وكانت المعاملة كالتالي :
  1. المجموعة الأولى (الشاهد): تضم (10) أرانب، حقنت بمحلول فيزيولوجي بجرعة 2 مل فقط داخل التجويف البريتوني ولم تعامل بالألوكسان.
  2. المجموعة الثانية: تضم (10) أرانب، استُحدث فيها داء السكري بواسطة الألوكسان بجرعة 80 ملغ/كغ داخل التجويف البريتوني.
  3. المجموعة الثالثة: تضم (10) أرانب، استُحدث فيها داء السكري بواسطة الألوكسان بجرعة 150 ملغ/كغ داخل التجويف البريتوني.
  4. المجموعة الرابعة: تضم (10) أرانب، استُحدث فيها داء السكري بواسطة الألوكسان بجرعة 200 ملغ/كغ. داخل التجويف البريتوني.
- **استحداث داء السكري بواسطة الألوكسان:** تم إيقاف إعطاء العلف للأرانب لمدة 24 ساعة قبل حقنها بالألوكسان (Monohydrate Alloxan) بتركيز (200-150-80) ملغم / كغم وزن الجسم. بعد أن أذيب في محلول ملحي فيزيولوجي saline Normal وتم حقنه بالبريتون، ثم أعيدت العليقة بعد الحقن مباشرة وأعطيت ماء شرب حاويا على 20 % من سكر الغلوكوز لمدة 24 ساعة لتفادي صدمة هبوط السكر نتيجة المعاملة بالألوكسان. لقد ظهرت علامات الإصابة بداء السكري بعد سبعة أيام وتم التأكد من ذلك يومياً بأخذ قياس مستوى السكر في الدم بواقع مرة كل يومين، إذ لوحظ على الأرانب علامات التعب وكثرة التبول وكثرة شرب الماء وتناول العلف بشراهة. بالنسبة للمجموعات الثانية والثالثة والرابعة (مجموعات التجربة) فقد تم حقنها بمادة الألوكسان داخل التجويف البريتوني خلال الأسبوع الأول والثاني من التجربة بمعدل مرة كل أسبوع داخل التجويف البريتوني ومن ثم تم سحب الدم من خمسة أرانب من كل مجموعة لمعرفة مستوى الغلوكوز خلال الفترة الأولى من التجربة وتُركت بقية الأرانب حتى نهاية التجربة لمعرفة مستوى الغلوكوز خلال الفترة الثانية من التجربة.
- **جمع عينات الدم:** جُمعت عينات الدم من حيوانات التجربة على مرحلتين:
  - (1) المرحلة الأولى كانت في نهاية الأسبوع الرابع من التجربة.
  - (2) المرحلة الثانية كانت في نهاية التجربة أي الأسبوع الثامن.
 أُخذت العينات من القلب مباشرةً بواسطة محاقن سعة (3) مل، وذلك بعد إجراء التعقيم المناسب لمكان سحب الدم . بعد سحب عينات الدم ، وضع في أنابيب غير حاوية على مانع تخثر وذلك لإجراء الاختبارات البيوكيميائية .

ثم تُفَلت الأنايب لمدة ( 15 ) دقيقة وبسرعة ( 3500 ) دورة/دقيقة للحصول على مصل نقي، ووضِع المصل في أنابيب إيندروف محكمة الإغلاق سعة ( 1.5 ) مل وتم تسجيل البيانات المطلوبة ومن ثم تم حفظ هذه الأنايب بدرجة حرارة ( - 20 درجة مئوية ) في المجمدة.

• الفحوص الكيميائية الحيوية: أنجز اختبار قياس سكر الدم في المصل مخبر قسم وظائف الأعضاء في كلية الطب البيطري في جامعة حماة باستخدام جهاز (Spectrophotometer-20 Genesys).

1) تقدير مستوى الجلوكوز في مصل الدم: تم قياس مستوى الجلوكوز في مصل الدم باستخدام الطريقة الأنظيمية (Trinder,1969) التي تضمنت استخدام عتيدة التحليل (Kits) والمصنعة من قبل شركة (BIOSYSTEMS)

لصناعة الكواشف، حيث كان مبدأ التفاعل بالشكل لتالي:



حيث أُجري الاختبار حسب توصيات الشركة المُنتجة.

### 3. التحليل الإحصائي Statistical analysis:

تم إدخال النتائج التي تم الحصول عليها إلى الحاسوب وُحلت باستخدام برنامج Statistix Analytical software version 1.0. حُسبت قيمة P بطريقة تحليل التباين وحيد الاتجاه (One-way ANOVA)، وتم الحصول على المتوسط (mean) والانحراف المعياري للمتوسط (SD) Standard deviation of mean، وذلك في كل مجموعة معاملة، وفي كل مرحلة من مراحل التجربة، لتحديد فيما إذا كانت الفروق معنوية أم لا. وتم احتساب الفرق معنوياً عند مستوى احتمال (P≤0.05).

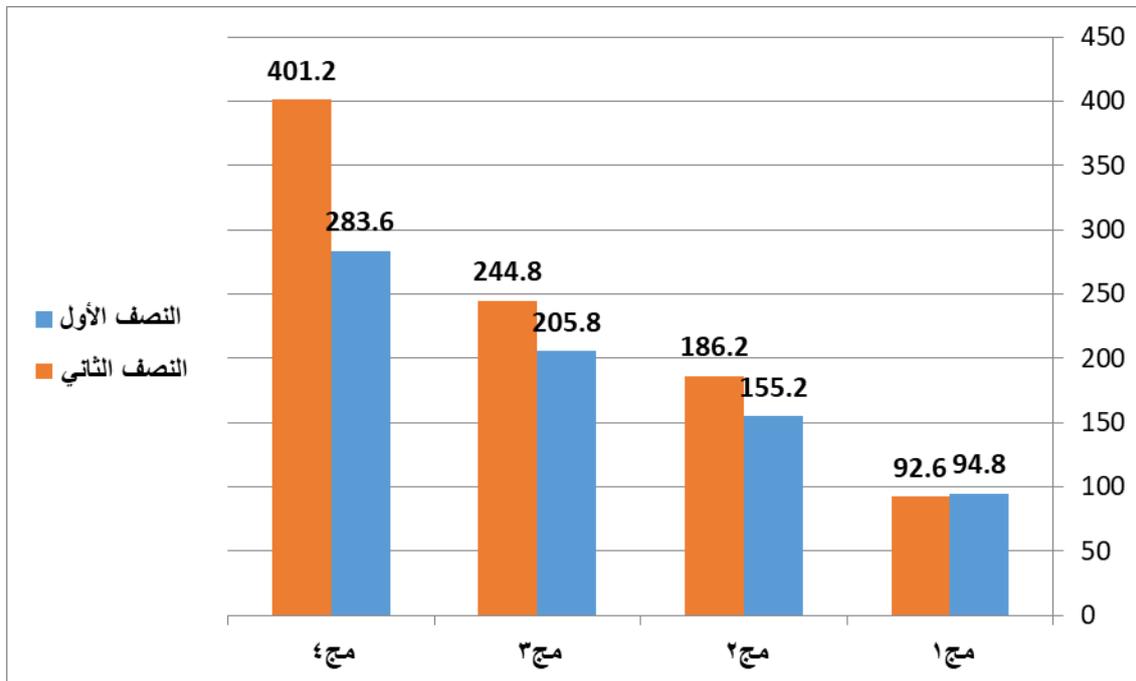
### 4. النتائج Results:

#### 1.5. مستوى السكر في مصل الدم:

الجدول رقم (1): يبين نتائج مستويات الجلوكوز في مصل الدم ملغ/دل

الفترة	المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
النصف الأول (الاسبوع الرابع)	مج1	5	94.80 <sup>a</sup>	7.29	85	105
	مج2	5	155.20* <sup>a</sup>	12.07	140	168
	مج3	5	205.80* <sup>a</sup>	14.10	185	222
	مج4	5	283.60* <sup>a</sup>	21.30	262	315
النصف الثاني (الاسبوع الثامن)	مج1	5	92.60 <sup>a</sup>	9.45	85	109
	مج2	5	186.20* <sup>b</sup>	11.88	169	197
	مج3	5	244.80* <sup>b</sup>	27.96	210	273
	مج4	5	401.20* <sup>b</sup>	31.64	357	440

يدل الرمز \* على وجود فرق معنوي عند المقارنة ما بين مجموعة الشاهد (مج1) من جهة وباقي مجموعات التجربة (مج2، مج3، مج4) من جهة أخرى، أما الرموز a، b فتدل على وجود فرق معنوي في حال اختلافهما عند المقارنة ما بين كل مجموعة في النصف الأول مع ما يقابلها في النصف الثاني.



المخطط رقم (1): يبين مقارنة مجموعة الشاهد مج1 وتأثير المعاملة بالألوكتسان بجرعات 80 ملغ/كغ للمجموعة الثانية و150 ملغ/كغ للمجموعة الثالثة و200 ملغ/كغ للمجموعة الرابعة خلال النصف الأول والثاني من التجربة على مستويات غلوكوز الدم.

## 5. المناقشة Discussion :

التغيرات في مستويات الغلوكوز في مصل الدم: تشير النتائج في الجدول رقم (1) بأن حقن الألوكتسان بجرعات (200-150) ملغ/كغ من أجل استحداث داء السكري التجريبي في أرانب التجربة قد أدى إلى ارتفاع معنوي  $P < 0.05$  في مستويات الغلوكوز في مصل الدم مقارنةً بمستواه الطبيعي في مجموعة الشاهد التي لم تحقن بالألوكتسان، ويعتقد أن ذلك يعود إلى وجود أنواع الأوكسجين التفاعلية الفعالة في مركب الألوكتسان (Mansi., 2005) التي لها القدرة على مهاجمة جزر لانغرهانس في البنكرياس وبالتحديد خلايا بيتا المُفرزة للأنسولين.

حيث إن التسمم الحاصل في الخلايا يتميز بتخريب انتقائي لخلايا بيتا (Ahren and Sundkvistm., 1995). فقد أحدث الألوكتسان تحطيماً في الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين في خلايا بيتا في جزر لانغرهانس في البنكرياس والتسمم الذي حصل فيها كان من خلال إنتاج كمية مرتفعة من الجذور الحرة وأنواع الأوكسجين الفعالة (Takasu et al., 1991)، والتي سببت بدورها تأثيراً محطماً عن طريق التلف التأكسدي (Hye-Won et al., 2000)، لذلك فإن آلية عمل الألوكتسان تقوم على إحداث تلف تأكسدي من خلال إنتاج الجذور الحرة بشكل يحاكي أو مشابه لما يحصل عند الإصابة بداء السكري البشري (El-Missiry and Gindy, 2000). ومن الملاحظ حسب الأبحاث المتوفرة أن زيادة الإجهاد التأكسدي يُعد مسبباً رئيساً لارتفاع غلوكوز الدم عند الإصابة بداء السكري المُستحدث بواسطة الألوكتسان، وذلك نتيجة إنتاج كميات كبيرة من الجذور الحرة التي تتلف الأنسجة بالمشاركة مع أنواع الأوكسجين التفاعلية ذات المصادر المتعددة (Valko et al., 2007)، وهبوط في الدفاعات المضادة للأكسدة (Stefano et al., 1997) وبالتالي زيادة التعقيدات المرافقة لداء السكري

(Akinosun and Bolajoko, 2007; Dallatu et al., 2009) ، حيث يُسبب أشكالاً متعددة من الخلل في عمليات الاستقلاب كالتصلب العصيدي الذي ينتج عنه رفع مستوى تركيز الكوليستيرول و تلف الأعصاب و العديد من التأثيرات الضارة الأخرى (Fehri et al., 1994). و أشار (Vijayanand and Wrsely., 2011) أنه في المراحل الأولى بعد حقن الألوكسان يحصل انخفاض مفاجئ في إفراز الأنسولين بوجود أو غياب الغلوكوز ، حيث يُمتص الألوكسان بشكل سريع بواسطة خلايا بيتا في البنكرياس، وتبدأ عمليات الاختزال بوجود عوامل اختزال مختلفة والتي ترتبط بمجاميع السلفاهيدريل (SH) الموجودة في بنية أنزيم الغلوكوكايناز (Glucokinase) (المسؤول عن استقلاب الغلوكوز) الموجود في أغشية خلايا الجسم مؤدياً إلى تحطم المواقع المخصصة لنقل الغلوكوز وتكوين جسر ثنائي لكبريت وبالتالي تثبيط الأنزيم، الذي يؤدي بدوره الى ارتفاع مستوى سكر الدم. في حين أشار الباحث (Federiuk et al., 2004) إلى أن المرحلة الرابعة والأخيرة من آلية عمل الألوكسان يحدث فيها فرط سكر الدم الدائم. والتي لاحظ فيها من الناحية الشكالية والنسجية تحلل كامل للحبيبات وفقدان كامل لخلايا بيتا حيث تظل الخلايا المحيطة بخلايا بيتا إلى حد ما سليمة، مما يدل على الطابع الانتقائي لألوكسان في تخريب خلايا بيتا.

وبينت نتائج الدراسة وجود فروق معنوية في مستوى الغلوكوز  $P < 0.05$  عند المقارنة بين الجرعات حيث كان المجموعة الثالثة المعاملة بجرعة (150) ملغ/كغ أعلى معنوياً  $P < 0.05$  من المجموعة الثانية المعاملة بجرعة (80) ملغ/كغ، في حين كانت المجموعة الرابعة المعاملة بجرعة (200) ملغ/كغ أعلى معنوياً  $P < 0.05$  من المجموعة الثالثة المعاملة بجرعة (150) ملغ/كغ ويتفق هذ مع العديد من الدراسات، حيث توافقت النتائج التي حصلنا عليها مع نتائج الباحث (Carvalho et al., 2003) الذين وجدوا أن حقن الجرذان بمادة الألوكسان بجرعة مقدارها 80 مغ/كغ من وزن الجسم عن طريق الوريد الذيلي أدى إلى ارتفاع مستوى سكر الدم من 120 مغ/دل إلى 270 مغ/دل، وكانت متوافقة لما توصل إليه (Dubey et al., 1994) الذي أعطى الألوكسان بجرعة 150 مغ/كغ من وزن الجسم حقناً بالبريتون، وأدى إلى ارتفاع معنوي في متوسط مستوى الغلوكوز في الدم عند الأرانب. وتوافقت نتائجنا أيضاً مع نتائج الباحث (Murugan et al., 2009) الذين حقنوا الجرذان بالألوكسان بجرعة 120 مغ/كغ من وزن الجسم بالبريتون ولاحظ تجاوز متوسط سكر الدم عندها 330 مغ/دل بينما كان مستوى تركيز الغلوكوز في مجموعة الشاهد ما يقارب 90 مغ/دل.

كما توافقت نتائج بحثنا مع ما ذكره الباحث (Hashemi et al., 2009) الذي وجد أن حقن الأرانب في التجويف البريتوني بمادة الألوكسان بجرعة 200 ملغ/كغ من وزن الجسم أدى إلى زيادة مستوى سكر الدم من 86 الى 505 مغ/دل، وقد أدت الجرعة ذاتها إلى غياب كامل لخلايا بيتا في جزر لانغرهانس في البنكرياس في المجموعة المحقونة بالألوكسان وأوضح انه تزداد شدة الإصابة بداء السكري بزيادة جرعة الألوكسان وذلك بسبب موت عدد أكبر من خلايا بيتا في جزر لانغرهانس بالبنكرياس.

## 6. الاستنتاجات Conclusions:

يستنتج من هذه الدراسة:

- بينت هذه الدراسة إمكانية استخدام الألوكسان كعقار لاستحداث داء السكري عند الحيوانات المخبرية و بجرعات (200-150) ملغ/كغ حيث أدت الجرعات السابقة إلى رفع تركيز الغلوكوز في مصل الدم.
- بينت هذه الدراسة أنه كلما زاد تركيز الألوكسان زادت شدة الإصابة بداء السكري.

## 7. التوصيات Recommendations:

- البحث مستقبلاً عن طريق دراسة التأثير طويل الأمد لحقن الألوكسان أي لمدة ستة أشهر أو أكثر.

- اجراء دراسات ذات منحنى متغاير من خلال دراسة تأثير الألوكسان على عناصر بيوكيميائية أخرى وبطرق حقن مختلفة للوصول إلى الجرعات التي يجب استخدامها في الأبحاث بدقة كبيرة.

#### 8. المراجع References:

1. Ahmadvand, H., Shahsavari, G., Tavafi, M., Bagheri, S., Moradkhani, M. R., Kkorramabadi, R. M., ... & Moghadam, S. (2017). Protective effects of oleuropein against renal injury oxidative damage in alloxan-induced diabetic rats; a histological and biochemical study. *Journal of nephropathology*, 6(3), 204.
2. Ahren, R. and Sundkvist, G. (1995): Long Term Effects of Alloxan in Mice. *Int. J. Pancreatol.* 2, 197–201.
3. Akinosun, O.M. and Bolajoko, E.B. (2007): Total Antioxidant Status in type 2 Diabetic Patients: Experience at University College Hospital (UCH), Ibadan, Nigeria. *Niger. J. Clin. Pract.* 10(2), 126–129.
4. AL-Salmani, M.H. (2007) Study of metabolic effect of some drugs and medicinal Plants of Patients with diabetes mellitus . M. Sc thesis ,college of Medicine , Al-Nahrain University .
5. Carvalho, E.N.; Carvalho, N.A.S. and Ferreira, L.M. (2003): Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. *Acta Cir Bras* {serial online}. 18 Special Edition. Available on URL <http://www.scielo.br/acb>.
6. Chauhan, N.S. and Dixit, V.K. (2007): Antihyperglycemic activity of the ethanolic extract of *Curculigo orchioides* Gaertn. *Pharmacognosy Magazine*, 3:237– 240.
7. Dallatu, M.K.; Anaja, P.O.; Bilbis, L.S. and Mojiminiyi, F.B.O. (2009): Antioxidant micronutrient potentials in strengthening the antioxidant defense in alloxan-induced diabetic rats. *Nig. Journ. Pharm. Sci.* 8(1), 89–94
8. Dubey, G.P.; Dixit, S.P. and Singh, A. (1994): Alloxan-induced diabetes in rabbits of a herbal formulation D-400 *Indian Journal of Pharmacology*. 26, 225–226.
9. El-Missiry, M.A. and El-Gindy, A.M. (2000): Amelioration of Alloxan induced Diabetes mellitus and Oxidative stress in Rats by oil of *Eruca sativa* seeds. *Ann Nutr Metab.* 44, 97–100.
10. Federiuk, I. F., Casey, H. M., Quinn, M. J., Wood, M. D., & Ward, K. W. (2004). Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comparative medicine*, 54(3), 252–257.

11. Fehri, B.; Aiache, J.M.; Memmi, A.; Korbi, S.; Yacoubi, M.T.; Mard, S. and Lamasion, J.L. (1994): Hypotension, hypoglycemia and hypouricemia recorded after repeated administration of aqueous leaf extract nettle and olea eroupaea . J.Pharm–Belg.49(2),101–108.
12. Hashmi, M.,; Dostar, Y.; Rohani, S.R.; Azizi Saraji, A.R. and Bayat, M.(2009): Influence of Aloxanes on thw Apoptosis of pancreas B–Cells of rat. World Journal of medical sciences. (2), 70–73.
13. Hye–Won, R.; Ji–Na, L. and Hyung, R. (2000): Protective mechanism of glucose against alloxan induced B–cell damage. Exp. Mol. Med.; 32(1): 12–7.
14. Kim, S.; Hyun, S. and Choung, S. (2006) . Anti– diabetic effect of cinnamon extracton blood glucose in db/db mice. J Ethnopharmacol., 104:119–123.
15. Mansi, K.M.S. (2005): Effect of oral administration of water extract in alloxan– induced male rabbits. Pak. J. Physiol. 6(1),39–41.
16. Me´ndez Jose´ D, Herna´ndez Roberto De Haro.(2005). L–Arginine and polyamine administration protect b–cells against alloxan diabetogenic effect in SpragueDawley rats. Biomed Pharmacother 2005;59:283e9.
17. Mir, S.H.; Abdul–Baqui, Bhagat, R.C.; Darzi,M.M.and Abdul–Wahid S. (2008) .Biochemical and Histomorphological Study of Streptozotocin–Induced Diabetes Mellitus in Rabbits .Pakistan J. Nut. 7 (2): 359–364.
18. Murugan, M.; Uma, C. and Reddy, M. (2009): Hypoglycemic and hypolipidemic activity of leaves of mucuna pruriens in alloxan induced diabetes rats. Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 1(2)69–73.
19. Rajagopal, K., & Sasikala, K. (2008). Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of Nymphaea stellata in alloxan–induced diabetic rats. Singapore medical journal, 49(2), 137.
20. Takasu, N.; Aswan, T.; Komiya, I.; Nagasawa, Y. and Yamada, T.(1991): Alloxan– induced DNA strand breaks in pancreatic islets evidence for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as an intermediate. Biol.Chem. 266(4), 2112–2114.
21. Trinder, P.(1969): Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann. Clin. Biochem. P, 24–27.

22. Stefano, A.S.; Marra, G.; Giardina, B.; Cotroneo, P.; Mordent, A.; Martororana, G.E.; Manto, A. and Ghirlanda, G. (1997): Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes*. 46, 1853–1858.
23. Vijayanand, S. and Wrsely, E. G. (2011): Evaluation of Antidiabetic activity of *Melia Azadirach* on alloxan induced diabetic rats. *Inter. J. of current Pharm. Res* .,3(4):37–40.
24. Valko, M. Leibfritz, D. Moncol, J. Cronin, M. T. D. Mazur, M. & Telser, J. (2007): Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84. Doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.
25. Zhang, Y.; Lee, A.S.; Shameli, A.; Geng, X.; Finegood, D.; Santamaria, P. and Dutz, J.P. (2010) . TLR9 blockade inhibits activation of diabetogenic CD8+T cells and delays autoimmune diabetes. *J Immunol.*,184: 5645–5653.