دراسة تأثير تناول عسل النحل في تركيز هرمون الميلاتونين وعدد من المتغيرات الكيموحيوية والمناعية لدى النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن في مدينة كركوك

وداد محمود لهمود العبيدي

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

صممت الدراسة الحالية لمعرفة الدور الايجابي لعسل النحل في تركيز هرمون الميلاتونين وتراكيز عدد من المتغيرات الكيموحيوية والمناعية في النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن فقد شملت الدراسة الحالية (55) عينة دم من النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن، (21) امراة مصابة تطوعن لتناولن العسل الطبيعي مدة 21يوما بالمقارنة مع(20) عينة دم لنساء سليمات غير مصابات تراوحت اعمارهن بين (20– 49) سنة ، اذ تم جمع العينات من مستشفى كركوك العام ومن العيادات الاستشارية في مدينة كركوك من شهر شباط /2015 ولغاية شهر حزيران 2015، وقد كانت النتائج بالشكل التالي : ارتفاع معنوي ملحوظ ($P\leq0.01$) في تراكيز كل من الكرياتنين واليوريا وحامض اليوريك وفي تركيز الميلاتونين والمالون ثنائي الالديهايد وفي تركيز انترلوكين–1الفا وانترلوكين–6 وعامل النخر الورمي في مجموعة المصابات بالتهاب الكلى المزمن مقارنة مع مجموعة السيلمات ،في حين لوحظ انخفاض معنوي ملحوظ في تركيز الالبومين والكلوتاثيون والسيرولوبلازمين مقارنة مع مجموعة النساء السليمات ، بينما لوحظ حصول إنخفاض معنوي ملحوظ ($P\leq0.01$) ،في المتغيرات الكيموحيوية والمناعية المدروسة مع ارتفاع معنوي في تركيز الميلاتونين، الالبومين ،الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين في النساء المصابات واللاتي تناولن عسل النحل الطبيعي مقارنة مع مجموعة النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن بدون معالجة بالعسل الطبيعي.

المقدمة:

يعد مرض التهاب الكلى المزمن واحد من الامراض المنتشرة بشكل كبير في دول العالم حيث اشارت الدراسات الى ان لهذا المرض انعكاسات خطيرة على حياة الشخص المريض قد تؤدي بحياته الى الموت ،[1] ويعرف التهاب الكلى المزمن على انه وجود علامات تركيبية ووظيفية لتحطم الكلى لفترة ثلاثة اشهر على الاقل مع او بدون انخفاض معدل الترشيح الكبيبي للكلى [2]، كما ان للاصابة بداء السكر وارتفاع ضغط الدم والتهاب النفرونات الكبيبية المزمن من المسببات الواضحة للاصابة بالفشل الكلوي المزمن ، ومن جانب اخر فإن لالتهاب الكلى المزمن تأثيرات واسعة من ضمنها تسببه في إحداث إضطرابات هرمونية كإرتفاع تركيز الانسولين وهرمون النمو .[3].

كما وتعد الالتهابات واحدة من الاستجابات الدفاعية السريعة للعدوى إذ ان تنشيط المسارات المتممة يحفز تحبب الخلايا العملاقة والتي تتوسط عملية تحرر واطلاق السايتوكينات الالتهابية وتكون الاستجابة متمثلة باحمرار المنطقة المتضررة والانتفاخ مع انتاج حرارة والم مستمر مع تغيرات في عملية تدفق الدم مما يكون له تأثير واضح للسايتوكينات على منطقة تحت المهاد حيث يتحرر انترلوكين 1 وانترلوكين 6 وعامل النخر الورمي الفا الذي يحفز الخلايا الكبدية لافراز بروتين الطور الحاد المعروف بالبروتين الفعال C والذي يعد من ابرز المؤشرات للالتهاب [4]كما تلعب الالتهابات المزمنة دور اساسيا في تقدم المرض مع ملاحظة مستويات عالية من البروتين التفاعلي C والتي تترافق مع انخفاض وظيفة الكلى [5]، يرتفع مستوى انتاج وتحرر السايتوكينات بصورة عامة في مجرى الدم وانترلوكين 6 بصورة خاصة لتاثيراته المباشرة في عملية نمو وتمايز الخلايا ، الا انه في طور الاستجابة الحادة للالتهابات يكون هنالك تعبير جيني عالي المستوى وتحرر كميات كبيرة من انترلوكين 6 من الخلايا البلعمية والخلايا الدهنية كما هو الحال في الاشخاص الذين يعانون من البدانة والسمنة المفرطة [6، 7] ، الميلاتونين هو احد الهرمونات الذي يصنع ويفرز بصورة رئيسية من الغدة الصنوبريةوان اسم الميلاتونين مُشتق من تأثيره المباشر على صبغة الميلانين في جلد الضفدع ,كما انه يصنع في مناطق اخرى من الجسم فقد توصلت الدراسات الى انه يتم تصنيع هذا الهرمون في شبكية العين وفي القناة المعدية المعوية والصفائح الدموية الا ان المصدر الرئيسي لانتاج الميلاتونين من الغدة الصنوبرية ذو الصيغة التركيبية ($C_{13}H_{16}N_2O_2$) وان وزنه الجزيئي يبلغ (232.278g/mol),وهو من أهم الهرمونات التي تمتلك خصائص مضادة للالتهاب ومضادة للأكسدة فضلا عن امتلاكه خصائص عن دوره كمضاد للشيخوخة [8].كما ان للميلاتونين تاثيرا على خلايا الجهاز المناعي من خلال مستقبلات الميلاتونين المنتشرة في معظم اجزاء الجسم حيث ان كل من مستقبلات الميلاتونين الغشائية والنووية قد شخصت في خلايا الدم البيض حيث وجد معظم مستقبلات الميلاتونين على الخلايا الدم البيض اللمفية نوع CD^{4+} وعلى CD8 فضلا عن خلايا B و T لذلك فان من خلال وجود هذه المستقبلات يعمل الميلاتونين على تحوير الاستجابة للخلايا اللمفية المحفزة ، ومن جانب اخر يعمل الميلاتونين على حث انتاج السايتوكينات بواسطة خلايا الدم وحيدة النوية من خلال المستقبلات النووية للميلاتونين ،كما حددت فعالية التنظيم المناعي للميلاتونين من خلال المعاملة داخل خلوية بالميلاتونين من الناحية الجراحية والوظيفية في الكائنات المستئصلة منها الغدة النخامية ، وكذلك معاملة الخلايا المناعية خارج خلوي بالميلاتونين وهذا يعكس النشاط التحفيز المناعي له [9 ، 10 ، 11 ، 12] ،كما وتشير الدراسات السابقة الى ان الجهازين العصبي والغدي يمكن ان يتداخلا مع عمل الجهاز

المناعي لتحوير وظيفته وعمله حيث لوحظ ان العديد من النواقل العصبية والعوامل العصبية الغدية والهرمونية تغير من الوظيفة المناعية ،العسل الطبيعي محلول مائي مشبع من السكر ويتضمن خليط معقد من الكاربوهيدرات والانزيمات والاحماض الامينية والعضوية ومعادن ومواد اروماتية وصبغات وغيرها من المركبات التي تمنح العسل الطبيعي صفة كونه احد مضادات الاكسدة الطبيعية من خلال توافر فيتامينات مثل فيتامين C ومركبات فينولية مثل كرايسين chrysin بينوبانكسين pinobanksin واللوتيولين Luteolin ومركب بينوسيمبرين pinocembrin التي ثبت دورها في خفض الاجهاد التاكسدي في معظم البحوث التي اجريت على الانسان .[13] للعسل الطبيعي دو بارز في تسهيل عملية النوم من خلال المساهمة في تحرير الميلاتونين من الغدة الصنوبرية في الدماغ حيث اظهرت الدراسات السابقة ان العسل يمكن ان يتسبب في ارتفاع طفيف للانسولين فضلا عن ان تناول العسل الطبيعي الغني بالمركبات المضادة للاكسدة بشكل مستمر ومنتظم يحسن الاستجابة المناعية مما يعني ان لهذا المركب الطبيعي دورا في منع او تخفيف حدة بعض الامراض فضلا عن تداخله مع النوم المترافق مع اعادة بناء الانسجة والخلايا التالفة والتي من الممكن ان يكون له دور في الحد من انتشار الامراض في حال عدم النوم بشكل كافي ومريح يكون عامل خطر يهدد جسم الكائن الحي [14،15]

المواد وطرائق العمل:

تم جمع عينات الدم من المرضى المصابين بالتهاب الكلى المزمن بعد تشخيصه من قبل الطبيب المختص ، صممت الدراسة الحالية لتوضيح اهم التغيرات الحاصلة للنساء المصابات بعد تناولهن عسل النحل في عدد من المتغيرات الكيموحيوية والهرمونية فضلا عن التغيرات المناعية الحاصلة للمجاميع المدروسة وقد شملت الدراسة الحالية (55) عينة دم من النساء المصابات و(20) عينة دم للسيطرة بأعمار تراوحت بين (20–49) سنة ،اذ تم جمع العينات من مستشفى كركوك العام ومن العيادات الاستشارية في مدينة كركوك من بداية شهر شباط 2015/ ولغاية بداية شهر حزيران 2015.

وقد تم تقسيم المجاميع المدروسة كما يلي:

1– مجموعة النساء السليمات(السيطرة) :وقد شملت مجموعة نساء لا يعانين من التهاب الكلى المزمن وقد شخصت على انها مجموعة النساء السليمات وقد تضمنت 20 امراءة سليمة.

2– مجموعة النساء المصابات بالتهاب كلوي مزمن واللاتي تم تشخيصهن من قبل الاطباء المختصين بالاعتماد على التاريخ المرضي وعلى الفحوصات الكيموحيوية شملت (55) مريضة .

3– مجموعة النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن المتطوعات اللاتي تناولن العسل الطبيعي (21) امراءة من مجموع (55) وقد استمر تناولهن مدة ثلاث اسابيع متتالية وقد تم شراء العسل الطبيعي من منحل الشفاء المتخصص في مدينة كركوك كانت الجرعة اليومية للعسل هي ملعقة اكل صباحا وملعقة اكل قبل النوم اي ما يعادل 30 مل يوميا .

جمع عينات الدم:

بعد انتهاء فترة اعطاء العسل الطبيعي للنساء المصابات فقد تم سحب (5) مل من فقد وضعت قطرات منه في انابيب اختبار خالية من مانع التخثر وتركت مدة ربع ساعة تقريبا في درجة حرارة الغرفة ,وبعدها تم الحصول على المصل بوساطة الجهاز المركزي بسرعة 3000 دورة /دقيقة وتم تقسيمه حسب انواع الفحوصات المطلوبة ,بعدها حفظت بدرجة –20° م في انابيب بلاستيكية معلمة جديدة ونظيفة لحين اجراء الفحوصات المطلوبة.

الاختبارات المستخدمة في البحث :

1– تقدير تركيز الكرياتين : تم تقدير تركيز الكرياتين في مصل دم النساء اعتمادا على عدة القياس من شركة (Bio.labo. Franch) .

2– تقدير تركيز اليوريا تم تقدير تركيز اليوريا في مصل دم النساء اعتمادا على عدة القياس من شركة (Bio.labo. Franch)

3– تقدير تركيز حامض اليوريك : تم تقدير تركيز حامض اليوريك في مصل دم النساء اعتمادا على عدة القياس من شركة (Bio.labo. Franch)

4– تقدير تركيز الالبومين : تم تقدير تركيز الالبومين في مصل دم النساء اعتمادا على عدة القياس من شركة (Bio.labo. Franch)

5– تقدير تركيز الكلوتاثيون:تم تقدير الكلوتاثيون في المصل باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين.[16]

6– تقدير تركيز السيرولوبلازمين تم تقدير تركيز السيرولوبلازمين في أمصال الدم باستخدام الطريقة المحورة للباحثين [17]

7– تقدير تركيز المالون ثنائي الالديهايد:تم تقدير تركيز المالون ثنائي الالديهايد في المصل باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين [18]

8– تقدير تركيز الميلاتونين: تم تقدير تركيز هرمون الميلاتونين في مصل دم النساء اعتمادا على عدة العمل من شركة Cusabio Biotech.China [19].

9– تقدير تركيز عامل النخر الورمي : تم تقدير تركيز عامل النخر الورمي في مصل دم النساء اعتمادا على عدة العمل من شركة Cusabio Biotech.China [20]

10– تقدير تركيز هرمون اللبتين : تم تقدير تركيز هرمون اللبتين في مصل دم النساء اعتمادا على عدة العمل من شركة mybiosource [21]

11– تقدير تركيز انترلوكين–1 الفا : تم تقدير تركيز انترلوكين–1 الفا في مصل دم النساء اعتمادا على عدة العمل من شركة peprotech [22]

12– تقدير تركيز انترلوكين–6 : تم تقدير تركيز انترلوكين–1 الفا في مصل دم النساء اعتمادا على عدة العمل من شركة peprotech [23]

النتائج والمناقشة

1- تقدير تركيز الكرياتنين واليوريا وحامض اليوريك والالبومين

اوضحت النتائج المبينة في الجدول (1) حصول ارتفاع معنوي ($P\leq0.01$) في تركيز الكرياتنين واليوريا وحامض اليوريك مع انخفاض تركيز الالبومين في النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن مقارنة مع النساء السليمات فقد جاءت النتائج متوافقة مع ما توصل اليه كل من [24،25،26]إذ اشاروا الى ارتفاع تركيز كل من الكرياتنين واليوريا وحامض اليوريك في حال تضرر النسيج الكلوي بسبب الادوية كتاثير جانبي لعلاج مرض او حالة معينة او بسبب خلل فسيولوجي داخلي يضر بوظائف الكلية الطبيعي ويعرقل عملها . في حين لوحظ انخفاض تركيز الالبومين في النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن وهذا يعود الى عدة اسباب من اهمها ان الالبومين واحد من مضادات الاكسدة داخلية المنشأ والتي تشترك في ازالة الجذور الحرة المتولدة نتيجة تضرر النسيج الكلوي كما وان للوزن الجزيئي الواطي الذي يتميز به الالبومين عن بقية انواع بروتينات الدم يسمح له بالنفاذ من النبيبات الكلوية مما يتسبب عنه ارتفاع تركيزه في بول المريض وانخفاض تركيزه في مصل الدم.

في حين اظهرت النتائج ان تناول العسل تسبب في احداث تغيرات ايجابية تمثل في خفض تركيز كل من الكرياتنين واليوريا وحامض اليوريك في النساء المصابات مقارنة مع النساء اللواتي يعانين من التهاب الكلى المزمن ولم يتناولن العسل الطبيعي ، مع حصول ارتفاع معنوي في تركيز الالبومين في النساء اللواتي يعانين من المرض وتناولن العسل الطبيعي مقارنة مع النساء المصابات ويعود السبب في ذلك الى امتلاك العسل الطبيعي مركبات فعالة متنوعة ذات طبيعة مضادة للاكسدة ومن ضمنها المركبات الفلافونويدية مثل chrysin وفيتامين C وغيرها التي تمتلك خاصية دفاعية للجسم وقد تعمل على تحفيز الخلايا الكبدية وتنشيط الانزيمات المسؤولة عن تصنيع الالبومين ومن جانب اخر يمكن للدور الاصلاحي للعسل في خلايا النسيج الكلوي تؤدي الى خفض ترشح الالبومين مما يتسبب عنه ارتفاع تركيزه في مصل الدم [27].

جدول (1): يوضح تاثير عسل النحل في تركيز كل من الكرياتنين واليوريا وحامض اليوريك والالبومين في النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن

المجاميع	الكرياتنين mg/dl	اليوريا mg/dl	حامض اليوريك mg/dl	الالبومين g/dl
السيطرة	0.92±0.26c	27.87±4.91c	2.72±0.61c	3.49±0.65a
المصابات	3.020±0.70a	42.09±7.58a	4.66±0.8a	2.38±0.18b
مصابات + عسل النحل	1.96±0.41b	31.33±4.21b	3.82±0.46b	3.26±0.44a

* الاحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية($P\leq0.01$).

2- تقدير تركيز الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين والمالون ثنائي الالديهايد

توضح النتائج في الجدول (2) حصول انخفاض معنوي($P\leq0.01$)في تركيز كل من الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين في مجموعة النساء المصابات 0.66±1.98 و 2.18±183.59 مقارنة مع مجموعة السيطرة 0.71±2.63 و 3.15±242.2 على التوالي ، في حين لوحظ حصول ارتفاع معنوي في تركيز المالون ثنائي الالديهايد في مجموعة النساء المصابات بالالتهاب الكلى المزمن 1.07±8.48 مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة 1.52±4.14وقد جاءت النتيجة متوافقة مع ما توصل اليه [5] اللذين اشاروا الى ان حقن ذكور الجرذان بمادة الاميكاسين وهي احد الادوية المستخدمة كمضاد حيوي الى تضرر الكلى واحداث خلل في عمل ووظائف الكلى حيث لاحظوا حصول ارتفاع تركيز المالون ثنائي الالديهايد وانخفاض تركيز الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين مقارنة مع مجموعة حيوانات السيطرة السليمة ، يعزى ذلك الى اسباب عدة منها: زيادة معدل إستهلاك الكلوتاثيون الذي يعد من اهم مضادات الاكسدة غير الانزيمية التي تشترك في ازالة الجذور الحرة ونواتجها ثم يتحول من الشكل الفعال الى الشكل غير الفعال ثنائي الكبريت [28]، وقد يعزى سبب خفض تركيز الكلوتاثيون الى أكسدته أو خفض تصنيعه حيث ان الاجهاد التأكسدي يسبب قلة في الكلوكوز –6 – فوسفات دي هايدروجينيز مما يسبب انخفاضا في NADPH الضروري للكلوتاثيون ريدكتيز فتقل فعاليته وهذا يؤثر على محتوى الكلوتاثيون في تلك الانسجة وعموما فإن نقص G-6-PDH يعد هو المسؤول عن زيادة الاذى التأكسد, ومن المعروف أن الكلوتاثيون من المواد المضادة للأكسدة داخلية المنشأ التي تعمل ضد المؤكسدات مثل الادوية والمسرطنات وان انخفاض الكلوتاثيون يجعل النسيج اكثر عرضة للأكسدة [29] ، او قد يعود السبب في انخفاض الكلوتاثيون الى قلة الشهية لدى المصابين مما يؤدي الى إنخفاض في مستويات مضادات الاكسدة الغذائية .

اما فيما يخص سبب انخفاض تركيز السيرولوبلازمين فقد يكمن في حالات التهابية ومضاعفات مثل التهابات الكبد الحادة والتهابات الكليتين والتي ينتج عنها وعن مسبباتها تراكيز عالية من الجذورالحرة، محفزاً بذلك السيرولوبلازمين على إزالة تلك الجذور مثل جذر السوبرأوكسايدا السالب والجذور الاخرى مؤديا الى استنفاذ هذا المركب وانخفاض تركزه او انخفاض تصنيعه من قبل الكبد [30]،كما ويرجع السبب في أن المالون ثنائي الالديهايد يعد من اهم النواتج النهائية لبيروكسدة الدهن المتسببة عن تفاعلات الجذور الحرة مع جزيئات

المركبات الحيوية وقد يرجع سبب ارتفاع تركيز المالونداياالديهايد في العديد من الحالات المرضية المحدثة للإجهاد التأكسدي الى ان نشاط الجذور الحرة يزداد زيادة تفوق قدرة مضادات الاكسدة لازالتها او معادلتها متسببا في زيادة تركيز المالونداياالديهايد والذي يعمل بدوره على فقدان مرونة الاغشية الخلوية .[31].

في حين أدت المعالجة بالعسل الطبيعي الى حصول تغيرات إيجابية واضحة في مجموعة النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن ومن ابرزها حصول ارتفاع معنوي في تركيز الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين وقد يرجع السبب في ذلك الى ان المركبات الفعالة التي يمتلكها العسل الطبيعي مثل الانزيمات والمواد الاروماتية والمركبات الفينولية المتنوعة والصبغات المختلفة التي تعمل كمضادات للاكسدة تخفض من حدة الاجهاد التاكسدي المتولد من المرض.[32].

ولعل من اهم اسباب ارتفاع تركيز السيرولوبلازمين في النساء المصابات وتناولن عسل النحل بصورة منتظمة خلال فترة 3 اسابيع متواصلة هي وفرة المركبات الفعالة كالفينولات المتعددة والفلافونويدات فضلاً عن توفر الفيتامينات للعسل الطبيعي والتي تمتلك فعالية مضادة للاكسدة وقدرتها على ازالة التاثير السمي للمركبات الموكسدة وتثبيط بيركسدة الدهون من جهة وتحفيز نشاط الانزيمات المضادة للاكسدة داخلية المنشأ مثل السوبرأوكساید دسميوتيز والكاتاليز من جهة اخرى ,بذلك يقل تأثيرالإجهاد التأكسدي على السيرولوبلازمين وقد يؤدي إلى ارتفاع تركيزه في الدم.[33].

في حين لوحظ انخفاض معنوي للمالون ثنائي الالديهايد في مجموعة النساء اللاتي تناولن العسل الطبيعي مقارنه مع مجموعة النساء المصابات و يعزى ذلك الى عدة اسباب من اهمها وفرة المركبات الفعالة كالفلافونويدات والفينولات المتعددة والتي تمتلك خصائص مضادة للاكسدة في قدرتها على ازالة جذر الهيدروكسيل السام وتخليص الخلية من ضرره ومنع بيركسدة الدهون وبالتالي منع تكوين المالونداياالد يهايد وانخفاض تركيزه في مصل الدم ، يمتلكه العسل من تاثيرات مضادة للاكسدة متمثلة بالمركبات الفلافونويدية والعناصر النزرة التي تعكس قدرته في خفض بيركسدة الدهون.[34،35]

3- تقدير تركيز هرمون الميلاتونين :

اشارت النتائج المبينة في الجدول(2) حصول ارتفاع معنوي في تركيز هرمون الميلاتونين ($P\leq0.01$) في النساء المصابات بالالتهاب 89.55±3.07 مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة 56.28±2.13 وقد جاءت النتيجة متوافقة مع ما توصل اليه [33] فقد اشارت الدراسات السابقة الى حصول ارتفاع معنوي في تركيز هرمون الميلاتونين في حالات الالتهاب المزمن وذلك لارتباط هرمون الميلاتونين بتحفيز وتنشيط الجهاز المناعي حيث يعد الميلاتونين واحد من ابرز العوامل المتداخلة مع تكوين خلايا الدم وانتاج الخلايا المناعية والسيطرة على عملها ، فقد اشارت الدراسات الى دور الميلاتونين في تحفيز انتاج السايتوكينات المناعية ،تحسين عمل الخلايا الالتهامية مع زيادة فعالية الخلايا القاتلة الطبيعية للاستجابة المناعية . من المهم جدا ملاحظة دور الميلاتونين في التنظيم الايجابي للاستجابة المناعية في حين على النقيض فقد بحوث ودراسات سابقة بدور الميلاتونين كاحد العوامل المضادة للالتهاب من خلال تثبيط الاستجابة المناعية [36،37،38،39،40]

كماوقد يرجع سبب ارتفاع تركيز هرمون الميلاتونين في حالات الالتهابات الحادة والمزمنة الى دور الميلاتونين كواحد من اهم العوامل المخفضة للالتهابات الحادة والمزمنة كونه واحد من مضادات الالتهاب الذي يتداخل مع مواقع الارتباط المتخصص الذي يتواجد في الخلايا اللمفية والخلايا الالتهامية[41] كما ان للميلاتونين خصائص مناعية محورة من خلال تنظيم انتاج السايتوكينات المناعية فضلا عن اشارت التجارب السريرية الى تاثيره في خفض التصاق الجزيئات والسايتوكينات من ضمنها انترلوكين -6 وانترلوكين -8وعامل النخر الورمي -الفا فضلا عن تحوير عدد من المعايير الالتهابية في مصل الدم [42،43]،كما واظهرت النتائج ارتفاع تركيز هرمون الميلاتونين في النساء المصابات اللواتي تناولن عسل النحل مدة 21 يوما وقد كانت النتيجة 2.76±21. 121 مقارنة مع مجموعة النساء المصابات 78.55±3.07 ولم يتناولن العسل ويرجع ذلك الى سببين رئيسيين الاول : ان تركيز الكلوكوز في العسل يمكن له ان يحفز في افراز نسبة قليلة من الانسولين حيث ان للانسولين دور في تحفيز تحرر التربتوفان وهو احد الاحماض الامينية الاساسية في الدماغ والذي يتحول الى مركب السيروتونين وخلال فترة الظلام يتحول الى الميلاتونين حيث ان للميلاتونين دورا بارزا في تثبيط تحرر الانسولين ،مما يساهم في ثبات تركيز سكر الدم خلال الليل مما يجعل من الميلاتونين احد اهم اسباب اصلاح الخلايا التالفة خلال فترة النوم وهو ما يمنح الميلاتونين لقب هرمون السعادة لكونه يساهم في زيادة الاستجابة المناعية وتسهيل اعادة بناء وترميم الانسجة التالفة خلال فترة النوم [34]،السبب الثاني ان عسل النحل واحد من المواد الغذائية الغنية بالمركبات المضادة للاكسدة ومن ضمنها الميلاتونين التي سرعان ما يتم إمتصاصه من قبل الامعاء وارتفاع تركيزه في مصل الدم.

جدول (2): يوضح تأثير عسل النحل الطبيعي في تركيز هرمون الميلاتونين و المالون ثنائي الالديهايد والكلوتاثيون و السيرولوبلازمين في النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن

المجاميع	الميلاتونين Pg/ml	المالون ثنائي الالديهايد µmol/L	الكلوتاثيون µmol/L	السيرولوبلازمين µmol/L
السيطرة	56.28±2.13c	4.14±1.52b	2.63±0.71b	242.2±3.15a
المصابات	89.55 ±3.07b	8.48±1.07a	1.98±0.66c	183.59±2.18c
مصابات + عسل النحل	121.21±2.76a	5.10±1.25b	3.68±0.88a	228.34±2.90b

* الاحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية($P\leq0.01$).

4- تقدير تركيز IL-1α و IL-6 و عامل النخر الورمي و اللبتين

اوضحت نتائج الدراسة الحالية حصول ارتفاع معنوي ($P\leq0.01$)في تركيز اللبتين و عامل النخر الورمي وانترلوكين 1- وانترلولوكين-6 في النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن مقارنة مع مجموعة النساء السليمات وقد جاءت النتيجة متوافقة مع ما توصل اليه [44] الى حصول ارتفاع معنوي في تركيز هرمون اللبتين في معظم الاضطرابات الايضية والالتهابات المزمنة والحادة وله دور في تطور امراض القلب الوعائية ، كما وبينت الدراسات التي اجريت على الحيوانات التجريبية ان الارتفاع المفرط للبتين في مصل الدم قد يتسبب في ارتفاع ضغط الدم مع اضطرابات كلوية ، حيث ان للبتين دور في تنشيط الجهاز العصبي السمبثاوي التي لها دور في ارتفاع ضغط الدم ومن ثم خلل في الوظيفة الكلوية ،كما واشارت الدراسات الى ان مستوى اللبتين يكون مترافقا مع زيادة التهاب الكلية من خلال تقدير تركيز كل من البروتين التفاعل C وعامل النخر الورمي ،ومن جانب اخر فقد توافقت النتائج الحالية مع ما توصل اليه[45] من ان في حالة الالتهابات المزمنة تؤدي الخلايا البلعمية دورا رئيسيا من خلال زيادة افراز السايتوكينات المهيئة والبادئة للالتهاب ومن ابرزها انترلوكين -1 و عامل النخر الورمي-الفا ،في حين كان تاثير تناول عسل النحل جليا وواضحا في خفض تركيز المتغيرات المناعية المدروسة البتين وانترلوكين -1 وانترلوكين -6 وعامل النخر الورمي والبروتين الفعال C في النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن واللاتي تناولن العسل الطبيعي مقارنة مع النساء المصابات ولم يتناولن العسل نظرا لما يتميز به العسل الطبيعي كونه من احد المركبات الطبيعية الغنية بالمواد الفعالة المضادة للاكسدة والمضادة للالتهاب والتي تحفز تصنيع الميلاتونين بدرجة كبيرة الميلاتونين فقد اوضح [46].

جدول(3):يوضح تاثيرعسل النحل في تركيزانترلوكين -1 وانترلوكين 6 وهرمون اللبتين وعامل النخر الورمي في النساء المصابات بالتهاب الكلى المزمن

المجاميع	IL-1α Pg/ml	IL-6 Pg/ml	TNF Pg/ml	اللبتين ng/ml
السيطرة	36.21±0.03c	22.61±0.93c	32.11±1.08c	2.18 ±0.87c
المصابات	337.7±4.62a	218±5.19a	294.39±8.3a	11.96±1.00a
مصابات +عسل النحل	225 ± 2.33b	149±1.71b	185.26±5.5b	5.68 ± 1.45b

* الاحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية($P\leq0.01$).

الا ان حقن الميلاتونين تسبب في خفض تركيز انترلوكين 1 و 6 وعامل النخر الورمي في الجرذان المعاملة بحامض الخليك ، كما ان للميلاتونين دورا في معالجة الامراض من خلال خفض التاثيرات الالتهابية عن طريق غلق عوامل الاستنساخ NF-kB ،مسببا خفض تكون المزيد من انواع الاوكسجين الفعالة داخل الخلية ,في الوقت نفسه يظهر الميلاتونين قدرة على تثبيط نشاط انزيم Cyclooxygenase-2 وكذلك تثبيط انزيم المسؤول عن تكوين اوكسيد النتريك NO synthaseحيث يلاحظ زيادة فاعلية هذين الانزيمين خلال الاضطرابات الالتهابية المزمنة. فضلا عن دور العسل في تثبيط عامل النخر الورمي الذي يعد واحد من ابرز العوامل المهيئة للمسار الالتهابي [47، 48].

References

1-Stanisław, N.; Longin, N.; Katarzyna, P. and Ciepielewska,(2012). Basic endocrinological disorders in chronic renal failure. J. of Endocrinolog ; 63 (3):151-59.

2- Bucher, N. and Malt, R.(1971) Regeneration of the liver and kidney. Boston: Little Brown, pp. 32–4.

3-Graves, J.W.(2008) Diagnosis and Management of Chronic Kidney Disease. Mayo Clin Proc, 83(9):1064-1069.

4- Maurice, D., Katherine, L. Hull, A., C. Smith, J., Burton, S. and Nicolette, C.(2013) Inflammatory Factors and Exercise in chronic Kidney Disease

International Journal of Endocrinology Article ID 569831, 12.
5- Abeer, R. Abd A. and Sajida, H. Ismail. (2012). The Protective Effect of Honey Against Amikacin-induced Nephrotoxicity in Rats Iraqi J. Pharm Sci,21(2) .
6- Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt J. (2001) Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. Nephrol Dial Transplant ; 16: 335–340.
7- Vidya M., Louise F., Jaswinder S., Gokhan H., Rosaire G., Stephan E., Humphries D. and Jonathan P.(2001). Adrenergic Regulation of IL-6 Release from Adipose Tissue: In Vivo and in Vitro Studies The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86(12):5864–5869
8- Escames, G. and Acuna-Castroviejo, D.(2009). Melatonin, synthetic analogs, and the sleep/wake rhythm. Rev. *Neurol* ;48:245-54.
9- Garcia-Maurino S., Gonzales –Haba M., Calvo, J.(1997). Melatonin enhance IL-2, IL-6 and IFN –g production by human circulating CD4+ cells J.Immunol.159:574-581.
10- Maestroni G.(2001). the immunotherapeutic potential of melatonin. Exp. Opin Invest Drugs.10:467-476.
11- Pozo, D., Delagado, M., Fernandez-Santo, J.(1997). Expression of melatonin receptors mRNA in T and B subsets of lymphocytes from rat thymus and spleen .FASEBJ.,11:466-473.
12- Garcia-Maurino S., Gonzales –Haba M., Calvo, J.(1998). Involvment of nuclear binding sites for melatonin in the regulation of IL-2 and IL-6production in humon blood mononuclear cells. J. Neuroimmunol., 92:76-84.
13- Pedraza-Chaveri J, Maldonado PD, Medina-Campos O.(2000). Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicit: Relation antioxidant enzymes. Exp physiology,29:602-611.
14 - Saravan, a K. J. and Mahitosh, M. (2009). Antiproliferative effect of honey and of polyphenols. Biomedicine and Biotechnology;34: 1-10.
15- Heba M Halawa, Nagwa E El-Nefiawy, Noha A Makhlouf and Awatef A. Mady (2009). Evalution of honey protective effect on lead induced oxidative stress in rats. JASMR; 2: 197-209.
16-Sedlak,J. and Lindsay, R. H. (1968). Analytical biochemistry. pp:192. Cited by Al-Zamyle (2001).
17- Sunderman, F. W.; Nomato, S. (1970). Measurement of human serum ceruloplasmin by its para phenylendiamine oxidase activity. Clin. Chem. 16(11), 903-910.
18- Guidet,B. and shah,S.(1989). *Am J. Physiol*; 257(26):440. cited by Muslih, R., Al-Nimer, M. and Al-Zamely, O. (2002). The level of Malondialdehyde after activation with H_2O_2 and $CuSO_4$ and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute Myocardial infarction. *National journal of chemistry*; 5: 139-148.
19- havali, S.; Samejima, M.; Uchida, K.; Morita, Y.and Fukuda, A(1999). Improved enzyme immunoassay method for melatonin: Application to the determination of serum Melatonin in Rats ,Sheep and Humans, Clinical Chemistry 54:690-692.
20- Aukrust, P.(1994) Serum levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α) and soluble TNF receptors in human immunodeficiency virus type1infection-correlations to clinical immunologic, and virologic parameters. J. Inf. Dis. 169:420-424.
21- Maffei, M.(1995). Leptin Levels in Human and Rodent Measurement of Plasma Level Leptin and ob RNA in Obese and Weight Reduce Subjects. Nat. Med.1:1155.
22-Matsuo Y, Sawai H, Funahashi H, Takahashi H, Sakamoto M, Yamamoto M, Okada Y, Hayakawa T, Manabe T.(2004). Pancreas, (28):3 344-352.
23-Hirano, T., Akira, S., Taga, T. (1990).Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today* 11 443-449 .
24- Heinegard, D. and Tederstrom, G.(1973). Determination of serum creatinine by irect colorimetric method. Clin. Chem. Acta.,43:305-309.
25. Fawcett, JK and Scott, JE.(1960). Determination of urea in blood or serum. J. Clin. Path. 13: 156-159.
26-Marije Russcher1, Birgit Koch2, Elsbeth Nagtegaal1, Karien van der Putten (2012).The role of melatonin treatment in chronic kidney disease Frontiers in Bi\]oscience 17, 2 644-2656.
27-Eduardo Scandinari Manzolli, Juliana Mara Serpeloni (2015). Protective Effects of the Flavonoid Chrysin against Methylmercury - Induced Genotoxicity and Alterations of Antioxidant Status, In Vivo Oxidative Medicine and Cellular Longevity, Article ID 602360, 7.
28- Fisher, C. J. (2003). Organoselenium compounds as glutathione peroxi-dase mimics. B-180 Medical Laboratories Free Radical and Radiation Biology Program, University of Iowa. 77: 222.
29- Murray, R.; Granner, D.; Mayes, P. and Rodwell, V. (2000). Harper's Biochemistry 25th ed. Appleton and Lange, USA.
30- Verma, V.; Ramesh, V.; Tewari, S.; Gupta, R. and Sinha, N. (2005). Role of bilirubin, vitamin C and ceruloplasmin as anti-oxidants in coronary artery disease (CAD). *Indian Journal of Clinical Biochemistry*; 20(2): 68-74.
31- Sies, H. (1995). Oxidative stress: introductory remarks. Sies H., ed. Oxidative stress. New York: Academic, pp. 1 – 8.
32-Gora, D., Sandhya, M., Shiv, G. and Praveen, S. (2006). Oxidative stress, α-tocophrol, ascorbic acid and reduced glutathione status in schizophrenics. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 21 (2) 34-38
33. Vilma, B., Petras, V., Violeta, C. (2007) Radical scavenging activity of different floral origion honey and bee bread phenolic extracts. Elsevier,30: 1-6.
34. Cristine F. E. Grael S.(2010).In vitro study of antioxidant and scavenger properties of phenolic

compounds from lychnophora species. Maced J Med Sci; 33: 867-870.
35. Aldina k., et al(2009). The influence of L-ascorbic acid content on total antioxidant activity of bee-honey. European Journal of Scientific Research; 32: 95-101.
36-Kimata H.,(2007). Laughter elevates the level of breast–milk melatonin.J.Psychosom,Res.,62:699-702.
37- Shaji V., Kulkarni S., Agrewala J. (1998). Regulation of secretions of IL- 4 and IgGI isotype by melatonin –stimulated ovalbumin specific T cells Clin. Exp. Imunol.,111:181-185.
38- Escames G., Acuna-Castroviejo D, Lopez, L. (2006). Pharmacological utility in the treatment of septic shock:exper. and clini. evidence, J. Pharm Pharmacol,58:1153-1165.
39- Nosolova V., Zeman S., Tomaszewsk R.(2007). Protective effect of melatonin in acetic acid induced colitis in rats. J. Pineal Res.,42:364-70.
40- Jaworek J., Leja-Szpak A, Jaworek J., Nawrot-Porabka K.(2004). The circadian rhythm of melatonin modulates the severity of caerulein –induced pancreatitis in the rat. J. Pineal Res.,37:161-170.
41- Emanuela E. and Salvatore C. (2010). Antiinflammatory Activity of Melatonin in Central Nervous System Curr Neuropharmacol.; 8(3): 228–242.
42- Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Naji L, Fernández-Santos JM, Martín-Lacave I, Guerrero JM, Calvo JR. (2005) Beneficial pleiotropic actions of melatonin in an experimental model of septic shock in mice: regulation of ro-/ anti-inflammatory cytokine network, protection against oxidative damage and antiapoptotic effects. J. Pineal Res. ;39:400–408.
43. Casha S, Yu WR, Fehlings MG.(2001). Oligodendroglial apoptosis occurs along degenerating axons and is associated with FAS and p75 expression following spinal cord injury in the rat. Neuroscience.103 :203–218.
44- Shankar,[1] Shirmila Syamala,[2] Jie Xiao,[1] and Paul Muntner(2012), Clinical Study Relationship between Plasma Leptin Level and Chronic Kidney Disease Journal of Nephrolog (32)6.
45-Simón Navarrete, Marcelo Alarcón, Iván Palomo. (2015).Aqueous Extract of Tomato (Solanum lycopersicum L.) and Ferulic Acid Reduce the Expression of TNF-α and IL-1β in LPS-Activated Macrophages .Molecules; 20(8): 15319-15329 .
46- Tahan G[1], Gramignoli R, Marongiu F, Aktolga S, Cetinkaya A, Tahan V, Dorko K.. (2011).Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid- induced colitis in rats., Dig Dis Sci. Mar; 56(3):715-20. doi:
47- Li, J.; Yu, J.; Yu, H.; Xu, X.; Yu, L.; Liu, J. and Luo, H.(2005). Melatonin reduces inflammatory injury through inhibiting NF-kappaB activation in rats with colitis. Mediators Inflamm.185–193
48- A. J Tonks, R.A Cooper, K.P Jones, S Blair, J Parton, A Tonks. (2009). honey stimulates inflammatory cytokine production monocytes 21(5): 242– 24.

Study of honey bee effect on melatonin concentration and many immunological and biochemical parameters in women suffering Chronic kidney disease in Kirkuk city

Wedad Mahmood L. Al-obaidi
Dep. Of Biology, College of Science , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

Abstract:
The present study designed to demonstrate positive effect for honey bee on melatonin conc. and some immunological and biochemical parameters in women suffering Chronic kidney disease (CKD), the study include (55) blood samples get from women with CKD , (21) women from them volunteered to eat natural honey for thirty days, compared with (20) samples for normal women as control with age (20-49)year ,the samples were collected from Kirkuk hospital and clinicals from febreuary/2015 to june/2015.
We reach to following conclusions: high significant increase in creatinin ,urea ,uric acid conc. And Melatonin ,MDA, Leptin ,IL-1α , IL-6 and TNF-α in women suffering from CKD compared with control group. whereas we found high significant decreasing in Albumin, GSH, Ceruloplasmin conc. In women with CKD compared with control . there were high significant decrease in biological ,immunological parameters with high significant increasing in Melatonin, Albumin, GSH, Ceruloplasmin in women with CKD and eat natural honey in compare with women with CKD without treatment with honey .