

Deneysel diyabet modelleri

Experimental diabetes model

Oytun Erbaş

İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Öz

Diyabetes mellitus, insülin eksikliği veya insülinin etkisiz kalması sonucu oluşan; birlikte karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması düzensizliğinin eşlik ettiği hiperglisemi ile seyreden kronik metabolik bir sendromdur. Diyabetes mellitus toplumda en sık görülen kronik hastalıklardan biridir. Diyabet hastalığının gelişiminde genetik ve çevresel faktörler birlikte rol oynar. Deney hayvanlarında diyabet hastalığının modellenmesi ve komplikasyon mekanizmalarının anlaşılması önemli bir konudur. Diyabete bağlı mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişiminin önlenmesi için yeni ajanların denemesi modelleme ile mümkün olmaktadır. Streptozosin ve alloksan deneysel diyabet oluşturmak için en sık kullanılan ajanlardır. Son yıllarda genetik mutasyonlu spontan diyabetik sıçanların kullanılması daha güncel bir konudur. Böylece diyabetik indüksiyon için kullanılan streptozosin ve alloksana bağlı oluşabilecek direkt doku hasarı önlenmekte ve sadece hiperglisemiye bağlı etkilerin daha yalın olarak ortaya çıkması sağlanmaktadır.

Anahtar sözcükler: Alloksan; diyabet modelleme; Goto-Kakizaki; streptozosin.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic syndrome with hyperglycemia. It consists because of insulin deficiency/resistant, and ends up with dysregulation of protein, carbohydrate and lipid metabolism. Diabetes mellitus is one of the most common chronic disease. Genetic and environmental factors act together on development of DM. The modelling of DM and investigating its complications is an important subject. It could be possible to try new agents to inhibit development of macro and microvascular complications of DM, by experimental modelling. Streptozocin and alloxan are most frequently used agents to create DM model. In recent years, use of mutant spontaneous diabetic rats inspite of DM modelling is current. Thus, direct tissue damage during diabetic induction by streptozocin and alloxan is avoided and effects related hyperglycemia come in sight simply.

Keywords: Alloxan; diabetes modeling; Goto-Kakizaki; streptozocin.

Streptozosin (STZ) ve alloksan deneysel diyabet oluşturmak için en sık kullanılan ajanlardır. Bu ajanların intraperitoneal, subkutan, intravenöz (i.v.), parenteral verilmesiyle diyabet oluşturulabilir. Bu ajanlar pankreasta Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerini tahrip ederek, hipoinsülinemik ve hiperglisemik duruma neden olurlar.

Alloksan ve redüksiyon ürünü olan dialirik asid, superoksit radikali ve hidrojenperoksit gibi serbest radikallere dönüşür. Bu serbest radikaller pankreas beta adacığında masif kalsiyum artışına neden olarak, adacıkta toksisite oluştururlar.^[1]

Alloksanın diyabetik dozu oldukça dardır. Hafif yüksek dozda bile mortaliteye neden olabilir. Bu mortalitenin nedeni alloksanın böbrek tübül epitelinde toksisite ve buna bağlı böbrek yetmezliği oluşturmasıdır.^[2]

Alloksanın sıçanlarda i.v. dozu 65 mg/kg'dır. İntraperitoneal (i.p.) veya subkutan etkin doz daha yüksek tutulmalıdır.^[3]

İntraperitoneal doz 150 mg/kg altında tutulduğunda diyabet oluşturulamaz.^[4] Alloksan fare dozu i.v. 100-200 mg/kg kadardır.^[5]

Streptozosin nitrozüre grubu taşıyan alkilleyici bir kemoterapötiktir. 1950 yılında *Streptomyces achromogenes* mantarından izole edilmiştir.

Yapısı glukoza çok benzer bu nedenle glikoz taşıyıcısı 2 aracılıklı olarak pankreas beta adasına alınır (Şekil 1). Deoksiribonükleik asitte alkillenme oluşturarak hücre ölümüne yol açar.^[6]

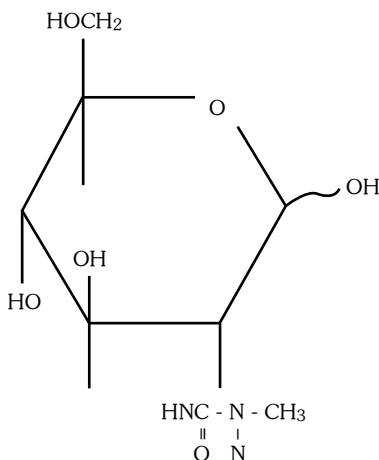
Sıçanlarda diyabet oluşturmak için en çok kullanılan doz i.p. olarak 60-80 mg/kg'dır.^[7] Ancak daha yüksek dozlar da kullanılabilir.

Fare dozu 150 mg/kg'dır. Dişi fareler STZ'ye daha az duyarlıdır. Sıçanlarda 40 mg/kg altındaki dozlar diyabet oluşturmak için yetersiz kalmaktadır. Streptozosin pH 4.5, 0.1 mollük sitrat tampon içinde çözülerek uygulanır.^[4]

Streptozosin verildikten iki gün sonra kuyruk veninden ölçülen kan glukoz seviyesi 200-300 mg/dL'den büyükse bu sıçanlar diyabetik kabul edilir. Tip 2 diyabet modeli oluşturmak için ise i.p. veya i.v. olarak STZ neonatal 1. günde verilir. 8-10 haftalık olduklarında bu sıçanlarda orta dereceli kan glukoz yüksekliği ve oral glukoz tolerans testinde yetmezlik bulguları oluşur.^[8]

Erişkin sıçanlara düşük dozda STZ multipl dozda (40 mg/kg, 5 gün) verilirse inflamasyonla giden otoimmün tip 1 diyabet modeli oluşturulabilir.^[9]

Tek doz 60-100 mg/kg STZ verilen diyabet modeli otoimmün profil oluşturmaz. Bu model insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus modelidir.^[10] Streptozosin sadece adacık hasarı yapmaz.



Şekil 1. Streptozosinin kimyasal yapısı.

Bunun yanında böbrek hasarı ve endotel hasarı da oluşturur.^[11]

Streptozosin alkilleyici olduğundan deoksiribonükleik asit hasarı yapar. Bu nedenle uzun dönem yaşayan hayvanlarda onkojenik indüksiyon yaparak karaciğer ve böbrek tümörleri gelişimine neden olabilir.^[12]

Streptozosin uzun dönem yaşatılan sıçanlarda fonksiyonel insulinoma gelişimine ve kan glukozunda düzelmeye neden olabilir.^[13]

Streptozosin veya alloksan ile oluşturulan beta adacık hasarı sonucu ortaya çıkan depolanmış insülin, akut dönemde hipoglisemi ve mortaliteye neden olur. Bu nedenle ilk 12-24 saatte %5 glukoz solüsyonu verilmelidir.

Aç olan hayvanlar alloksan etkisine daha duyarlıdır.^[4] Hayvanın tok olması alloksan etkisini kısmi olarak azaltır.^[3] Alloksan veya STZ uygulanması deneysel protokollerde genel olarak 8-12 saat açlıktan sonra yapılır. Bu protokollerle sıçan, fare ve maymunda diyabet indüksiyonu yapılabilir. Tavşan ve domuzlar STZ'ye daha dirençlidir.^[9]

Ferrik nitritriasetat nadir olarak diyabet indüksiyonunda kullanılır. Tavşanlar ve sıçanlar ferrik nitritriasetat verilmesinden 60 gün sonra diyabetik semptomlar gösterirler. Bu esasen hemakromatozis sekonder oluşan bir diyabet modelidir.^[14]

Cerrahi modeller

Diyabet oluşturmada diğer bir yöntem pankreasın total rezeksiyonudur. Cerrahi girişim gerektirmesi ve malabsorbsiyon oluşması tekniğin zor kısımlarıdır.

Genetik spontan diyabetik sıçanlar

Goto-Kakizaki sıçanları diyabetik olmayan Wistar sıçanları içinden seçilip üretilen hiperglisemik sıçanlardır. Tip 2 diyabetes mellitus modeli olarak kullanılırlar.^[15]

Spontan tek gen mutasyonu ile oluşmuş ve otozomal resesif kalıtılan tip 2 diyabetik sıçanlar da vardır. Bunlara örnek olarak ob/ob ve db/db fareler ile fa/fa sıçanlar verilebilir.^[16]

ob/ob farede kromozom 6'da kodlanan leptinin bir mutasyonu sonucu anormal bir leptin üretimi söz konusudur; bu durum hiperfaji, azalmış enerji tüketimi ve obezite ile sonuçlanır.^[16]

db/db farelerde 4. kromozomdaki hipotalamik leptin reseptör geninde mutasyon vardır ve reseptör leptine yanıt veremez.

NOD ve BB farelerde adacık otoimmünitesi vardır. 12-13. haftalarda hiperglisemi gösterirler ve tip 1 model için kullanılırlar. Spontan otoimmün diyabet modeli olan BB sıçan ilk kez 1974'te, Kanada-Ottawa'da Biobreeding Laboratuvarları'nda tanımlanmıştır ve ismini buradan alır.^[17]

Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 2001;50:537-46.
2. Lenzen S, Tiedge M, Jorns A, Munday R. Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan. In: Shafir E, editor. *Lessons from Animal Diabetes*. Boston: Birkhauser; 1996. p. 113-22.
3. Federiuk IF, Casey HM, Quinn MJ, Wood MD, Ward WK. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comp Med* 2004;54:252-7.
4. Katsumata K, Katsumata K Jr, Katsumata Y. Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan- or streptozotocin-induced diabetes in rats. *Horm Metab Res* 1992;24:508-10.
5. Miranda M, Muriach M, Roma J, Bosch-Morell F, Genovés JM, Barcia J, et al. Oxidative stress in a model of experimental diabetic retinopathy: the utility of peroxytrite scavengers. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2006;81:27-32. [Abstract]
6. Mythili MD, Vyas R, Akila G, Gunasekaran S. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. *Microsc Res Tech* 2004;63:274-81.
7. Patel R, Shervington A, Pariente JA, Martinez-Burgos MA, Salido GM, Adeghate E, et al. Mechanism of exocrine pancreatic insufficiency in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1084:71-88.
8. Pascoe WS, Storlien LH. Inducement by fat feeding of basal hyperglycemia in rats with abnormal beta-cell function. Model for study of etiology and pathogenesis of NIDDM. *Diabetes* 1990;39:226-33.
9. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med* 2005;22:359-70.
10. Yu WJ, Juang SW, Chin WT, Chi TC, Chang CJ, Cheng JT. Insulin restores neuronal nitric oxide synthase expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 2000;68:625-34.
11. Valentovic MA, Alejandro N, Betts Carpenter A, Brown PI, Ramos K. Streptozotocin (STZ) diabetes enhances benzo(alpha)pyrene induced renal injury in Sprague Dawley rats. *Toxicol Lett* 2006;164:214-20.
12. Kazumi T, Yoshino G, Fujii S, Baba S. Tumorigenic action of streptozotocin on the pancreas and kidney in male Wistar rats. *Cancer Res* 1978;38:2144-7.
13. Steiner H, Oelz O, Zahnd G, Foresch ER. Studies on islet cell regeneration, hyperplasia and intrainsular cellular interrelations in long lasting streptozotocin diabetes in rats. *Diabetologia* 1970;6:558-64.
14. Awai M, Narasaki M, Yamanoi Y, Seno S. Induction of diabetes in animals by parenteral administration of ferric nitrilotriacetate. A model of experimental hemochromatosis. *Am J Pathol* 1979;95:663-73.
15. Chen D, Wang MW. Development and application of rodent models for type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:307-17.
16. Pickup JC, Williams G. *Textbook of Diabetes*. 2nd ed. Vol. 1. Oxford: Blackwell Science Inc; 2002.
17. Like AA, Butler L, Williams RM, Appel MC, Weringer EJ, Rossini AA. Spontaneous autoimmune diabetes mellitus in the BB rat. *Diabetes* 1982;31:7-13.