سخن دبیر

پژوهش‌نامهٔ فیزیولوژی ورزشی کاربردی سال دهم/شمارهٔ بیستم/پاییز و زمستان ۱۳۹۳

دریافت: ۹۱/۰۶/۲۱ پذیرش :۹۲/۵/۱۹ ص ص:۲۲-۱۳

آلوکسان و استرپتوزوتوسین، ابزار پژوهش دیابت

مرضیه معینی فرد[۱]، دکتر مهدی هدایتی[۲]

چکیده

آلوکسان و استرپتوزوتوسین به طور گسترده در القای دیابت آزمایشگاهی در مدل حیوانی استفاده می‌گردند. هردو ماده با مکانیسم‌های متفاوتی، باعث تخریب سلول‌های بتا پانکراس می‌شوند. فعالیت دیابت‌زایی آنها به واسطه گونه‌های فعال اکسیژن صورت می‌گیرد. با این وجود، منبع تولید این رادیکالها در هرکدام از آنها متفاوت است. آلوکسان و محصول احیا شده آن یعنی دیالوریک اسید، باعث ایجاد رادیکال‌های سوپراکسید در طی واکنش‌های سیکل ردوکس می‌گردد. در ادامه این واکنش‌ها پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل تشکیل می‌شود که در نهایت سبب آسیب بافت پانکراسی می‌شوند. استرپتوزوتوسین نیز مانند آلوکسان بوسیله ناقل گلوکز یا همان ترانسپورتر گلوکز (GLUT2) وارد سلول بتا پانکراسی می‌شود. این ماده در داخل سلول باعث آلکیلاسیون DNA می‌گردد. آسیب DNA به واسطه متیلاسیون القایی توسط استرپتوزوتوسین، باعث فعالسازی فرآیند ترمیمی پلی ADP ریبوزیلاسیون می‌شود که در عمل دیابت‌زایی استرپتوزوتوسین نقش مهمی را ایفا می‌کند. این فرآیند باعث تخلیه سلول از NAD^+ و ATP شده که افزایش فعالیت آنزیم گزانتین اکسیداز را به همراه دارد. در پی فعالیت این آنزیم، رادیکال‌های آزاد تولید می‌شود که سبب تخریب بافتی پانکراس می‌شود. در نهایت آلوکسان و استرپتوزوتوسین، دیابت را به واسطه تخریبسلول‌های بتا پانکراسی در حیوانات آزمایشگاهی القا می‌کنند و در این حالت،هیپرگلایسمی و عدم ترشح انسولین در پلاسمای آنها مشاهده می‌شود.

کلمات کلیدی: آلوکسان، استرپتوزوتوسین، سلول‌های بتا پانکراس، دیابت

۱. کارشناس ارشد دانشگاه شهید بهشتی،تهران،ایران

۲. دانشیار مرکز تحقیقات سلولی پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم،دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران hedayati47@yahoo.com

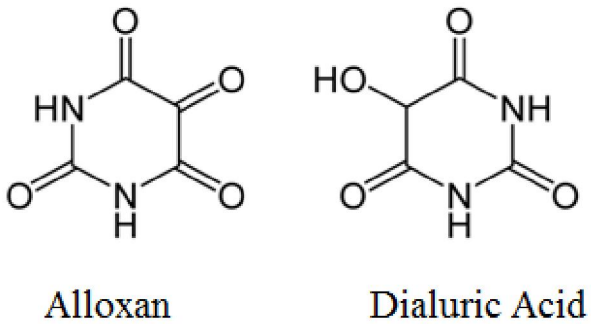
مقدمه

دیابت، شایع‌ترین ناهنجاری متابولیکی غدد درون ریز بدن است که با هیپرگلایسمی ناشی از نقص در ترشح و عملکرد انسولین مشخص می‌شود (۱). به دلیل اهمیت این بیماری، تلاش‌های زیادی برای بررسی این بیماری تا کنون صورت گرفته است. تحقیقات روی دیابت در انسان‌ها به دلیل ملاحظات اخلاقی محدود است و به‌کارگیری مدل‌های حیوانی برای بررسی هرچه بهتر این بیماری ضروری و مفید است. توجه به این نکته لازم است که هیچیک از مدل‌های حیوانی را نمی‌توان دقیقاً با مدل انسانی معادل‌سازی کرد اما می‌توان با استفاده از آنها به بینش‌های جدید و سودمندی درباره دیابت انسانی دست یافت.

برجسته‌ترین عوامل شیمیایی دیابت‌زا که در تحقیقات آزمایشگاهی روی مدل‌های حیوانی همچون موش و رت بکار می‌روند آلوکسان (ALX) و استرپتوزوتوسین (STZ) می‌باشند. هردوی آنها به طور انتخابی و با مکانیسم‌های متفاوتی باعث تخریب سلول بتا پانکراس می‌شوند و در نتیجه سببایجاددیابت در حیوانات آزمایشگاهی می‌شوند (۲). درک نحوه عمل این دو ماده شیمیایی برای دست‌یابی به اهداف تحقیقاتی مربوط به اختلال دیابت، لازم و ضروری است. این مقاله، به بررسی مکانیسم‌های دیابت‌زایی آلوکسان و استرپتوزوتوسین در مدل حیوانی می‌پردازد.

مکانیسم عمل آلوکسان

آلوکسان ۲، ۴، ۵، ۶ تترا اوکسی پیریمیدین (۵، ۶ دی اوکسی یوراسیل) می‌باشد. در حقیقت مشتق اکسیژنه پیریمیدین است. آلوکسان ماده‌ای محلول در آب است که از نظر مولکولی به گلوکز شباهت دارد و به همین دلیل نوعی آنالوگ یا مشابهگلوکز محسوب می‌شود. آلوکسان در pH ۷/۴ و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد ناپایدار است و در طی زمان کوتاهی بهاسید آلوکسانیک تبدیل می‌شود. آلوکسان محصول اکسیداسیون اسید اوریک است که در حضور گروه‌های تیول هم‌چون گلوتاتیون احیاء به اسیددیالوریک تبدیل می‌شود (شکل۱) (۳).



شکل۱. فرمول شیمیایی آلوکسان و اسیددیالوریک

خصوصیات دیابت‌زایی آلوکسان در سال ۱۹۴۳ برای اولین بار شرح داده شد. بر طبق این گزارش، آلوکسانبا تخریب سلول بتا پانکراس باعث القای دیابت نوع یک I (وابسته به انسولین) در مدل حیوانی می‌گردد (۴). آلوکسان به یکی از سه روش داخل وریدی، داخل صفاقی و زیر جلدی به بدن حیوان تزریق می‌شود. دوز مورد استفاده برای القای دیابت برحسب گونه حیوانی، روش تزریق و وضعیت تغذیه‌ای حیوان متفاوت خواهد بود. باید به این نکته توجه داشت که بافت پانکراس انسان به آلوکسان مقاوم است و این ماده در انسان، دیابت ایجاد نمی‌کند (۵).

دوز مورد استفاده از آلوکسان در رت هنگامی که به صورت داخل وریدی بکار رود، دو تا سه برابر کمتر از داخل صفاقی و زیر جلدی است (۶). همچنین زمانی که حیوان در وضعیت ناشتا قرار دارد نسبت به آلوکسان حساستر است چراکه گلوکز که در زمان غیر ناشتایی در خون بیشتر است، پانکراس را در برابر اثرات آلوکسان محافظت می‌کند (۷).

برای آنکه اثرات دیابت‌زای آلوکسان در حیوان بروز کند باید قبل از هر چیز وارد سلول‌های بتا پانکراس گردد. پیش از این بیان شد که آلوکسان ماده‌ای هیدروفیل است و نمی‌تواند از دو لایه لیپیدی غشاء عبور کند، اما به دلیل آن‌که به گلوکز شباهت دارد به واسطه ترانسپورتر گلوکز یعنی GLUT 2، جذب سلول‌های بتای پانکراس می‌گردد (۸). آلوکسان تمایل بالایی برای واکنش با گروه‌های تیول دارد به همین دلیل با دو گروه تیول موجود در آنزیم گلوکوکیناز وارد واکنش می‌شود. آلوکسان از طریق کربونیل موجود در کربن شماره ۵ خود با این تیول‌ها که در محل اتصالی سوبسترای آنزیم هستند، واکنش داده و باعث مهار فعالیت این آنزیم می‌گردد. گلوکوکیناز به عنوان حس‌گر قند خون شناخته می‌شود و در زمان سیری سبب اکسیداسیون گلوکز و افزایش میزان ATP گشته و در نهایت منجر به رهاسازی انسولین از سلول‌های بتا پانکراسی می‌گردد. بدین ترتیب آلوکسان با مهار آنزیم گلوکوکیناز سبب عدم ترشح انسولین و به تبع آن افزایش قند خون می‌گردد(۳،۹).

آلوکسان (A) به واسطه واکنش با گلوتاتیون احیاء (GSH)، سیستئین و گروه‌های سولفیدریل موجود در برخی پروتئین‌ها احیا می‌شود و به اسیددیالوریک (AH_2) تبدیل می‌شود. در اثر واکنش اکسایشی برگشتی، سیکل ردوکسی بوجود می‌آید که در نتیجه آن گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) تولید می‌شود (۱۰).

اولین رادیکال ایجاد شده، سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) که در اثر اکسیداسیون اسید دیالوریک بوجود می‌آید (i) که در حین این واکنش ماده ناشناخته 305 نیز ایجاد می‌شود که در طول موج 305 nm جذب دارد (۱۱).

$$AH_2 + O_2 \longrightarrow AH^{\cdot} + O_2^{\cdot-} + H^+ \qquad \text{(i)}$$

رادیکال سوپراکسید قادر است یون فریک را از فریتین آزاد کرده و به یون فرو احیاء کند. پراکسید هیدروژن تحت اثر واکنش سوپر اکسید با اسیددیالوریک و تحت دیس موتاسیون سوپر اکسید حاصل می‌شود (ii-iii).

$$AH_2 + O_2^{\cdot-} + H^+ \longrightarrow AH^{\cdot} + H_2O_2 \qquad \text{(ii)}$$

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{\text{Dismutase}} H_2O_2 + O_2 \qquad \text{(iii)}$$

در حضور یون فرو و هیدروژن پراکسید و در پی واکنش فنتون، رادیکال فعال هیدروکسیل تولید می‌شود (iv).

$$Fe^{+2} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{+3} + OH^{\cdot} \qquad \text{(iv)}$$

رادیکالهای هیدروکسیل خطرناک‌ترینROS های تولیدی هستند که بیشترین اثر تخریبی را برروی سلول-های بتا پانکراس اعمال می‌کنند. فعالیت همزمان دو آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با کاتالاز، باعث محافظت بافت پانکراس در مقابل سمیت آلوکسان می‌شوند (v,iii) (۱۲).

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} O_2 + 2H_2O \qquad \text{(v)}$$

از طرف دیگر گلوکز نیز اثرات حفاظتی بر علیه آلوکسان دارد. اولین دلیل این ادعا، بکارگیری GLUT2 برای انتقال گلوکز به سلول است که بدین ترتیب برداشت آلوکسان، محدود می‌گردد (۱۳). دلیل بعدی واکنش پنتوز فسفات است که در اثر حضور گلوکز انجام می‌پذیرد و منجر به تولید حدواسط احیاء کننده NADPHمی‌شود. این حدواسطبه همراه آنزیم ردوکتاز باعث احیای گلوتاتیون اکسید شده به گلوتاتیون احیاء می‌گردد و گلوتاتیون احیا شده در اثر واکنشی که توسط آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز کاتالیز می‌شود سبب حذف پراکسید هیدروژن گردیده و بدین ترتیب اثر سمیت آلوکسان را کاهش می‌دهد (vi-vii) (۱۰،۱۴).

$$GSSG + 2NADPH \xrightarrow{\text{Reductase}} 2GSH + 2NADP^+ \qquad \text{(vi)}$$

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{\text{Peroxiase}} GSSG + 2H_2O \qquad \text{(vii)}$$

مکانیسم سومی که باعث حفاظت گلوکزی می‌شود، اشغال جایگاهاتصال آلوکسان به گروه‌های تیول موجود در آنزیم گلوکوکیناز، توسط گلوکز است که بدین ترتیب مانع اثر مهاری آلوکسان روی این آنزیم می‌گردد (۱۵). یک مرحله مهم در عمل دیابت‌زایی آلوکسان تغییر هموستاز کلسیم داخل سلولی است، به این ترتیب که باعث افزایش میزان کلسیم آزاد سیتوزلی در سلول‌های بتا پانکراس می‌گردد. این اتفاق به سه دلیل زیر رخ می‌دهد ؛ ۱) ورود کلسیم به داخل سلول در اثر حضور آلوکسان ۲) خروج کلسیم از ذخایر داخل سلولی همچون میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی ۳) محدود شدن حذف کلسیم از سیتوپلاسم سلول.

ورود کلسیم به داخل سلول می‌تواند بدلیل توانایی آلوکسان در دپلاریزه کردن سلول‌های بتا پانکراس باشد (۱۶). در این حالت کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ، در اثر دپلاریزاسیون غشای سلولی، باز شده و منجر به ورود کلسیم به داخل سلول‌ها می‌گردد (۱۷). افزایش ناگهانی در ترشح انسولین از سلول‌های بتا متعاقب حضور آلوکسان، ممکن است ناشی از افزایش غلظت داخل سلولی یون کلسیم در این سلول ها باشد. بالا بودن میزان این یون به همراه ROS های تشکیل شده در اثر حضور آلوکسان در داخل سلول، باعث آسیب سلول‌های بتا پانکراس می‌گردد (۱۶،۱۷).

به طور کلی، عمل سمی آلوکسان در سلول‌های بافت پانکراس، شامل اکسیداسیون گروه‌های SH، مهار آنزیم گلوکوکیناز، تولید رادیکال‌های آزاد و تغییر در هموستاز کلسیم داخل سلولی می‌باشد.

در انتها، این نکته حائز اهمیت است که دیابت آلوکسانی با توجه به تخریب و نکروزه شدن بافت پانکراسی، مشابه دیابت نوع I خواهد بود. تنها گزارش مبتنی بر ایجاد دیابت نوع II به واسطه آلوکسان، مطالعه‌ای است که در سال ۱۹۹۳ روی موش‌های ۲، ۴ و ۶ روزه صورت گرفته است که بر طبق آن تزریق دوز ۲۰۰mg/kg داخل صفاقی باعث ایجاد این نوع دیابت می‌شود (۱۸). البته برای تائید آن تحقیقات بیشتری مورد نیاز است.

نکات عملی که هنگام استفاده از آلوکسان باید رعایت شود به قرار ذیل می باشد:

۱) قبل از تزریق آلوکسان، می‌بایست موش‌ها ۱۰ ساعت ناشتا (بی‌غذایی) باشند تا القای دیابت بهتر صورت گیرد. مصرف آب بلامانع است.

۲) برای افزایش پایداری آلوکسان، از بافر سیترات (pH =۴/۵) ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شود.

۳) آلوکسان قبل از تزریق، باید در سالین (۹٪ NaCl) رقیق شود.

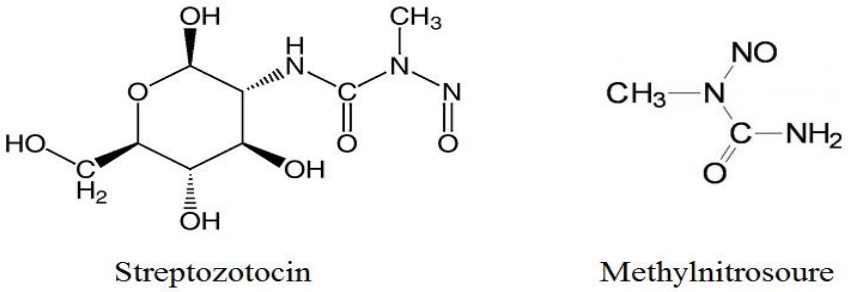
۴) دوز رایج تزریق آلوکسان، اگر به صورت تزریق وریدی باشد ۶۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان می‌باشد. اما در روش تزریق صفاقی، دوز مورد استفاده باید بیشتر از ۱۵۰ میلی‌گرم باشد که دوز رایج، ۲۰۰ میلی‌گرم است.

۵) معیار دیابتی شدن موش‌ها، قند خون بین محدوده ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی لیتر در منابع مختلف گزارش شده است.

۶) در صورت القای دیابت در حیوان پس از ۷۲ ساعت از زمان تزریق آلوکسان، می‌بایست قند خون در محدوده ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد.

مکانیسم عمل استرپتوزوتوسین

استرپتوزوتوسین همان ۲- دزوکسی – ۲ – (N متیل N نیتروز اوره)- D–گلوکوپیرانوز می‌باشد (شکل۲). این ماده ازاسترپتومایسیت آکروموژنز بدست می‌آید. بخش متیل نیتروز اوره آن، بخش نیمهسمی آن است و نیمه دیگر آن به دلیل داشتن شباهت مولکولی با گلوکز، استرپتوزوتوسین را به عنوان آنالوگ گلوکز مطرح کرده است. استرپتوزوتوسین ماده‌ای آبدوست یا هیدروفیل است و عامل آلکیله کننده می‌باشد. این ماده شیمیایی در pH ۷/۴ و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نسبتاً پایدار است (۱۹).



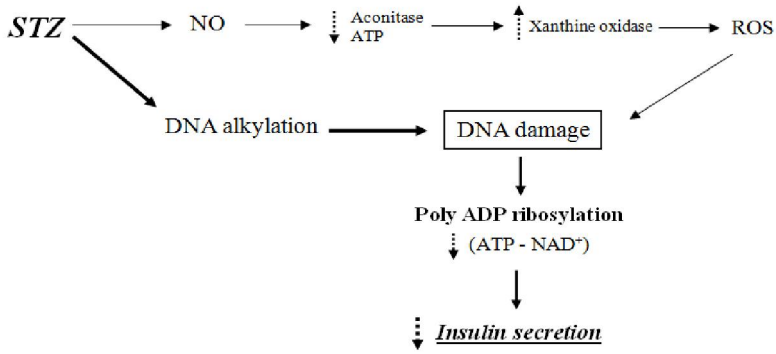
شکل۲.فرمول شیمیایی استرپتوزوتوسین و متیل نیتروزاوره

استرپتوزوتوسین برای القای هر دو نوع دیابت (I و II) به کار می‌رود. استرپتوزوتوسین را به مانند آلوکسان، می‌توان به سه صورت داخل وریدی، داخل صفاقی و زیر جلدی تزریق کرد.برای ایجاد دیابت نوع I، معمولاً از دوز بین ۴۰ تا ۶۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت تزریق وریدی استفاده می‌شود. در روش تزریق صفاقی، برای القای این نوع دیابت باید از دوز بیشتری استفاده کرد.همچنیناگر استرپتوزوتوسین به صورت

چندگانه با دوز پایین به کار رود، می‌توان دیابت نوع I را با فعال‌سازی مکانیسم ایمنی در موش ایجاد کرد (۲۰).دیابت غیر وابسته به انسولین (نوع II) را می‌توان به واسطه تزریق ۱۰۰ میلی‌گرم استرپتوزوتوسین به صورت داخل صفاقی و یا داخل وریدی به موش یک روزه ایجاد کرد (۲۱). همچنین در مطالعه‌ای تریق صفاقی همزمان استرپتوزوتوسین به میزان ۶۵ میلی‌گرم و NAD به میزان ۲۳۰ میلی‌گرم به موش‌های بالغ باعث ایجاد دیابت نوع II در آنها شده است (۲۲).

تغییر میزان گلوکز و انسولین خون در پی تزریق استرپتوزوتوسین، ناشی از عملکرد غیرطبیعی سلول‌های بتا پانکراس است. استرپتوزوتوسین باعث اختلال در اکسیداسیون گلوکز می‌گردد، همچنین ساختو ترشح انسولین را کاهش می‌دهد. استرپتوزوتوسین توسط سلول‌های بتا پانکراس به وسیله GLUT2 برداشت می‌شود و بدین طریق وارد این سلول‌ها شده و آسیب بافتی ایجاد می‌کند. در مطالعه‌ای، مقابله با اثر سمی استرپتوزوتوسین به واسطه کاهش بیان ترانسپورتر گلوکز، گزارش شده است (۲۳). نتایج عمل سمی استرپتوزوتوسین در سلول بتا پانکراس، ناشی از تغییرات ایجادی در DNA سلولی است. آزمایشات اخیر نشان داده است که اصلی‌ترین دلیل تخریب و مرگ این سلول‌ها به سبب آلکیلاسیون DNA آنها می‌باشد. ویژگی آلکیلاسیون استرپتوزوتوسین، مربوط به بخش نیتروزاوره آن می‌باشد که بیشتر موقعیت O^6 گوانین در DNA در معرض متیلاسیون قرار می‌گیرد (۲۴).

با توجه به اینکه استرپتوزوتوسین، دهنده NO است به نظر می‌آید به همراه استرپتوزوتوسین باعث آسیب DNA می‌گردد. سلول‌های بتایی که در معرض استرپتوزوتوسین قرار می‌گیرند، تغییراتی را نشان می‌دهند که مشابه عمل NO است. از جمله، می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم گوانیلیل سیکلاز اشاره کرد که به موجب آن، میزان cGMP دراین سلول‌ها افزایش می‌یابد (۲۵). NO با اتصال به آنزیم آکونیتاز در میتوکندری، باعث مهار چرخه کربس می‌گردد که در این حالت تولید ATP کاهش یافته و در این حالت به دلیل افزایش سوبسترای (ADP) آنزیم گزانتین اکسیداز، این آنزیم فعال شده و از محصولات جانبی آن رادیکال سوپراکسید و در ادامه پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌باشد (۲۶). گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده باعث آسیب DNA سلولی می‌شوند. در اینجا ذکر این نکته ضروری است که *اصلی‌ترین دلیل سمیت استرپتوزوتوسین، متیلاسیون DNA سلولهای بتا پانکراس است. به هرحال عمل همزمان NO و ROS در قطعه قطعه شدن یافراگمانتاسیون DNA سلولی نقش داشته و بدین ترتیب باعث تخریب این سلولها می‌گردد* (شکل۳).



شکل۳. مکانیسم عمل استرپتوزوتوسین در سلول بتا پانکراس

آسیب DNA، سبب فعالسازی مسیر ترمیمی پلی ADP- ریبوزیلاسون می‌گردد که در نتیجه این مسیر، سلول از NAD^+ تخلیه شده و متعاقب آن میزان ATP سلول کاهش می‌یابد. کم شدن میزان ATP سلول باعث مهار ساختو ترشح انسولین می‌گردد (۲۷). نیکوتین آمید، مهارکننده آنزیم پلی ADP ریبوز پلی‌مراز است که به کارگیری این ماده باعث توقف اثرات دیابت‌زایی استرپتوزوتوسین می‌شود (۲۸). آزمایشات اخیر نشان داده است که موش‌های فاقد این آنزیم در برابر آسیب بافت پانکراس و هیپرگلایسمی ناشی از آن مصون هستند. این نکته خود تایید کننده اهمیت فعالسازی این مسیر ترمیمی در بروز دیابت در مدل حیوانی به واسطه استرپتوزوتوسین است (۲۹).

از آنجایی که استفاده از STZ در القای دیابت رایج‌تر است، نکات عملی که هنگام استفاده از این ترکیب باید رعایت شود به قرار ذیل می باشد:

۱) قبل از تزریق محلول استرپتوزوتوسین، می‌باید موش‌ها بین ۱۲ تا ۲۴ ساعت ناشتا (بی غذایی) باشند. این عمل به القای بهتر دیابت کمک می کند. بطور متوسط ۱۸ ساعت ناشتایی داده می‌شود. مصرف آب بلامانع است.

۲) از آنجایی که استرپتوزوتوسین در محیط اسیدی پایدار است، از محلول بافری سیترات با اسیدیته ۳/۵ تا ۴/۵ استفاده می شود. اسیدیته رایج ۴/۵ می باشد.

۳) غلظت بافر سیترات از ۱۰ تا ۱۰۰ میلی مولار باید باشد و غلظت رایج برای این بافر ۲۰ میلی مولار می باشد.

۴) برای افزایش پایداری استرپتوزوتوسین از بافر سیترات ۲۰ میلی مولار با اسیدیته ۴/۵ و خنک استفاده می‌شود. یعنی بافر در یخچال نگهداری شده و در زمان حل کردن استرپتوزوتوسین بافر بسیار خنک می باشد.

۵) مقدار استرپتوزوتوسین تزریقی از ۴۰ تا ۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان گزارش شده است. دوز رایج ۵۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن حیوان است. یعنی اگر وزن موش ۲۴۰ گرم باشد ۱۳/۲ میلی گرم استرپتوزوسین باید تزریق شود.

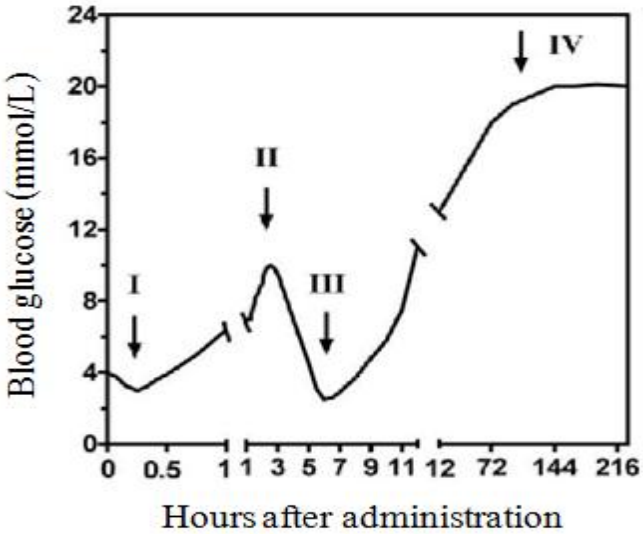
۶) معمولا معیار دیابتی شدن موش‌ها قند خون بالاتر از ۲۴۰ میلی گرم در دسی لیتر می‌باشد. برخی منابع قند بالاتر از ۱۵ میلی مولار یا همان ۲۷۰ میلی گرم در دسی لیتر را در نظر می‌گیرند. به هرحال محدوده ۲۴۰ تا ۳۶۰ میلی گرم در دسی لیتر در منابع مختلف استفاده شده است.

۷) روش رایج القای دیابت در موش صحرایی تزریق صفاقی است. هرچند با دوز کمتر تزریق وریدی نیز استفاده شده است.

۸) در صورت القای دیابت معمولا ۳ تا ۵ روز پس از زمان تزریق STZ، می بایست قند خون از ۲۵۰ میلی گرم در دسی لیتر افزایش یابد.

پاسخ مرحله‌ای به آلوکسان و استرپتوزوتوسین

هنگامی که هر یک از این دو ماده به مدل حیوانی تزریق می‌شود، پاسخ چند فازی در غلظت گلوکز همراه با تغییرات معکوس در میزان انسولین پلاسما مشاهده می‌گردد (شکل۴) (۳۰-۳۲).



شکل۴.پاسخ مرحله‌ای قند خون به دوزدیابتیکآلوکسان واسترپتوزوسین

در فاز اول، ۳۰ دقیقه پس از تزریق آلوکسان و یا استرپتوزوتوسین، هیپوگلایسمی گذرا دیده می‌شود که تا یک ساعت بعد میزان انسولین و قند خون به حالت فیزیولوژیک برمی‌گردد. فاز دوم بعد از ۱ ساعت از تزریق این مواد می‌باشد که با هیپرگلایسمی به علت هیپوانسولینمی، همراه است. این علائم تا ۳ ساعت بعد نیز پایداری دارد. در فاز سوم که ۴ تا ۸ ساعت پساز تزریق ایجاد می‌شود، هیپوگلایسمی شدید به دلیل خروج تمام ذخایر انسولین موجود در گرانول‌های ترشحی سلول بتا پانکراس و همچنین تخریب و پارگی غشای این سلول‌ها به واسطه عمل سمی این مواد شیمیایی، مشاهده می‌شود. فاز چهارم یا فاز نهایی به صورت هیپرگلایسمی دیابتیک مشخص می‌شود که تا چند روز پس از تزریق نیز دیده می‌شود.

نتیجه‌گیری

امروزه آزمایشات زیادی درارتباط با بیماری دیابت به وسیله استفاده از آلوکسان و استرپتوزوتوسین بر روی مدل‌های حیوانی صورت می‌گیرد که داشتن اطلاعات درباره مکانیسم عمل دیابت‌زایی این دو ماده می‌تواند در طراحی استراتژی‌های جدید و کارآمد در ارتباط با تحقیق و بررسی دیابت انسانی، موثر باشد.

References

1. American Diabetes Association. 1997. Report of the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 20:1183-201.
2. Szkudelski T, Kandulska K, Okulicz M. 1998.Alloxan in vivo does not only exert deleterious effects on pancreaticcells.Physiol Res, 47: 343-346
3. Lenzen S, Munday R. 1991. Thiol-group reactivity, hydrophili- city and stability of alloxan, its reduction products and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. BiochemPharmacol, 42:1385-1391.
4. Dunn JS, Sheehan HL, Mclethie NGB. 1943. Necrosis of islets of Langerhans produced experimentally. Lancet, 1: 484-487.
5. Eizirik DL, Pipeleers DG, Ling Z. 1994. Major species differences between humans and rodents in the susceptibility to pancreatic beta-cell injury.ProcNatlAcadSci, 91: 9253-9256.
6. Katsumata K, Katsumata Y, Ozawa T, Katsumata K, Jr. 1993. Potentiating effects of combined usage of three sulfonylurea drugs on the occurrence of alloxan diabetes in rats.HormMetab Res, 25: 125-126.
7. Bansal R, Ahmad N, Kidwai JR. 1980.Alloxan-glucose interaction: effect of incorporation of ^{14}C-leucine into pancreatic islets of rats.ActaDiabetolLat, 17: 135-143.
8. Gorus FK, Malaisse WJ, Pipeleers DG. 1982. Selective uptake of alloxan by pancreatic B-cells. Biochem J, 208:513-515.
9. Miwa I, Hara H, Matsunaga H, Okuda J. 1984. Inhibition of glucokinase in hepatocytes by alloxan. BiochemInt, 9:595-602.
10. Winterbourn CC, Munday R. 1989. Glutathione-mediated redox cycling of alloxan. Mechanisms of superoxide dismutase inhibition and of metal-catalyzed OH. formation. BiochemPharmacol, 38:271-277.
11. Sakurai K, Ogiso T. 1991. Inhibitory effect of glutathione on the generation of hydroxyl radicals in the reaction system of glutathione-alloxan.Chem Pharm Bull, 39: 737-742.
12. Munday R. 1988. Dialuric acid autoxidation. Effects of transition metals on the reaction rate and on the generation of "active oxygen" species. BiochemPharmacol, 37:409-413.
13. Lenzen S, Panten U.1998.Alloxan: history and mechanism of action. Diabetologia, 31:337-342.
14. Elsner M, Gurgul-Convey E, Lenzen S. 2006. Relative importance of cellular uptake and reactive oxygen species for the toxicity of alloxan and dialuric acid to insulin-producing cells. Free RadicBiol Med 41:825-834.
15. Tiedge M, Richter T, Lenzen S. 2000. Importance of cysteine residues for the stability and catalytic activity of human pancreatic beta cell glucokinase. Arch BiochemBiophys, 375:251-260.
16. Park BH, Rho HW, Park JW. 1995. Protective mechanism of glucose against alloxan-induced pancreatic beta-cell damage.BiochemBiophysResCommun, 210: 1-6.
17. Kim HR, Rho HW, Park JW. 1994. Role of Ca^{2}+ in alloxan-induced pancreatic beta-cell damage.BiochimBiophysActa, 1227: 87-91.
18. Kodama T, Iwase M, Maki Y, Yoshinari M. 1993.New diabetes model induced by neonatal alloxantreatment in rats. Diabetes Res ClinPract, 20:183-9.
19. Axler DA. 1982. Stability of the diabetogenic activity of streptozotocin. IRCS Med Sci, 10:157-158.
20. Ganda OP, Rossi AA, Like AA. 1976. Studies on streptozotocin diabetes. Diabetes, 25: 595-603.

21. Portha B, Picon L, Rosselin G. 1979. Chemical diabetes in the adult rats as the spontaneous evolution of neonatal diabetes.Diabetologia, 17: 371-377.
22. Larsen MO, Wilken M, Gotfredsen CF. 2002. Mild streptozotocin diabetes in the Gottingen minipig. A novel model of moderate insulin deficiency and diabetes.Am J PhysiolEndocrinolMetab, 282: E1342-51.
23. Thulesen J, Orskov C, Holst JJ, Poulsen SS. 1997. Short-term insulin treatment prevents the diabetogenic action of streptozotocin in rats. Endocrinology, 138: 62-68.
24. Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R. 2000. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin.Diabetologia, 43: 1528-1533.
25. Kroncke KD, Fehsel K, Sommer A, Rodriguez ML. 1995. Nitric oxide generation during cellular metabolization of the diabetogenic N-methyl-N-nitroso-urea streptozotocin contributes to islet cell DNA damage.BiolChem Hoppe-Seyler, 376: 179-185.
26. Nukatsuka M, Sakurai H, Yoshimura Y. 1988. Enhancement by streptozotocin of O_2" radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic betacells.FEBSLett, 239: 295-298.
27. Pieper AA, Brat DJ, Krug DK. 1999. Poly (ADP-ribose) polymerase-deficient mice are protected from streptozotocin-induced diabetes.ProcNatlAcadSci USA, 96: 3059-3064.
28. Dulin WE, Wyse BM. 1969. Reversal of streptozotocin diabetes with nicotinamide. ProcSocExpBiol Med, 130:992-994.
29. Burkart V, Wang ZQ, Radons J, Heller B. 1999. Mice lacking the poly (ADP-ribose) polymerase gene are resistant to pancreatic beta-cell destruction and diabetes development induced by streptozocin. Nat Med, 5:314-319.
30. Mythili MD, Vyas R, Akila G, Gunasekaran S. 2004. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. Microsc Res Tech, 63:274-281.
31. Ledoux SP, Hall CR, Forbes PM. 1988. Mechanismsof nicotinamide and thymidine protection from alloxan and streptozotocin toxicity. Diabetes, 37: 1015-1019.
32. Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res, 50:537-546.