



مدل‌های حیوانی القای دیابت نوع ۱ در جوندگان: یک مطالعه مروری

علیرضا لطفی^۱، مظفر خزاعی^{۲*}

۱- دانشجوی دکتری تخصصی علوم تشریحی - کمیته تحقیقات دانشجویی - دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه - کرمانشاه - ایران.

۲- استاد علوم تشریحی - مرکز تحقیقات باروری و ناباروری - پژوهشکده فناوری سلامت - دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه - کرمانشاه - ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۴

چکیده

مقدمه: دیابت یک بیماری متابولیک مزمن با شیوع بالا است که با هیپرگلیسمی ناشی از کمبود نسبی یا فقدان انسولین، مشخص می‌گردد. دیابت نوع ۱ (تخریب سلول‌های بتا) و دیابت نوع ۲ (مقاومت در برابر انسولین و فقدان عملکرد جبرانی سلول‌های بتا) دو نوع اصلی دیابت می‌باشد. مدل‌های حیوانی دیابت به‌عنوان ابزار مهمی در بررسی این بیماری، کمک می‌کند تا از مطالعات چالش‌برانگیز غیراخلاقی و هزینه‌بر در نمونه‌های انسانی اجتناب گردد. لذا هدف مطالعه مروری حاضر، بررسی انواع مدل‌های حیوانی القایی و خودبخودی دیابت نوع ۱ در جوندگان است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مروری سیستماتیک، با کلید واژه‌های دیابت، القاء و مدل حیوانی در سال‌های ۱۹۹۱ تا ۲۰۲۱ در پایگاه‌های PubMed، Scopus و موتور جست‌وجو انجام شد. مقالات مربوط به موضوع مطالعه، انتخاب و بررسی شدند.

نتایج: از نیمه قرن بیستم تا امروز، مدل‌های جدیدی برای درمان و پیشگیری از دیابت در شرایط درون بدن و آزمایشگاهی معرفی شده‌اند. برای القای دیابت نوع ۱ مدل‌های متنوعی وجود دارد که هر یک دارای نقاط ضعف و قوت هستند. این مدل‌ها شامل مدل‌های خودبخودی، دستکاری ژنتیکی و القاء شیمیایی هستند. به‌طور معمول، یکی از روش‌های القاء دیابت در حیوانات، استفاده از مواد شیمیایی به‌ویژه استرپتوزوتوسین و آلوکسان است و حیوانات مورد استفاده عمدتاً جوندگان (موش صحرایی و موش) و به میزان کمتر گربه، سگ، خوک و پریمات‌ها هستند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه، هنوز مدل حیوانی استاندارد و کاملی وجود ندارد و راه طولانی تا رسیدن به یک مدل جامع از پاتوژنز و عوارض دیابت وجود دارد لذا توسعه این مدل‌ها ضروری می‌باشد. با توجه به اهمیت مطالعات دیابت، لازم است که انتخاب مدل حیوانی مناسب هر مطالعه با دقت انجام شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت، استرپتوزوتوسین، آلوکسان، مدل حیوانی.

*نویسنده مسئول: کرمانشاه، بلوار شهید شبرودی، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، تلفن: ۰۸۳۳۴۲۷۴۶۱۸، نمابر: ۰۸۳۳۴۲۸۱۵۶۳. Email:

Mkhazaei1345@yahoo.com

ارجاع: لطفی علیرضا، خزاعی مظفر. مدل‌های حیوانی القای دیابت نوع ۱ در جوندگان: یک مطالعه مروری. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۰؛ ۱۶(۳): ۲۸-۴۸.

مقدمه

دیابت یک شکل ناهمگن از اختلالات متابولیکی به دلیل نقص در ترشح و یا فعالیت انسولین است که با اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها و هیپرگلیسمی همراه است (۱). این بیماری در جوامع مختلف در حال گسترش است به طوری که برآورد می‌شود که شیوع آن از ۸/۳٪ (۳۶۶ میلیون نفر) در سال ۲۰۱۱ به ۹/۹٪ (۵۲۲ میلیون نفر) در سال ۲۰۳۰ برسد. همچنین شمار افراد مبتلا در آفریقا از ۱۴/۲ میلیون نفر در سال ۲۰۱۵ به ۳۴/۲ میلیون نفر در سال ۲۰۴۰ افزایش خواهد یافت (۲). یافته‌های اخیر نیز نشان می‌دهد که درصد ابتلا در زنان (۹/۲٪) کمتر از مردان (۹/۸٪) است (۳).

دو نوع بیماری دیابت وجود دارد: دیابت نوع ۱ (دیابت جوانان) و دیابت نوع ۲ (دیابت بزرگسالان) (۴). دیابت نوع ۱، اختلال خودایمنی ناشی از تخریب سلول‌های بتا تولیدکننده انسولین در جزایر لانگرهانس است و بیشتر در کودکان و جوانان شایع بوده است و در زمان تشخیص، تولید انسولین در بدن بیماران بسیار اندک و باید به طور مکرر تزریق زیرجلدی انسولین انجام گردد. همخوانی این نوع از دیابت در دوقلوهای همسان حدود ۲۷٪ است (۵) که نشان‌دهنده نقش هر دو عوامل ژنتیکی و فاکتورهای محیطی در شیوع این بیماری است (۶).

درمان دیابت نوع ۱ و ۲ متفاوت است. دیابت نوع ۱، تزریق چندگانه انسولین لازم دارد. درمان‌های مرسوم دیابت نوع ۲ بر ترشح انسولین و افزایش حساسیت‌زایی نسبت به آن تمرکز دارد و باعث ایجاد عوارض جانبی می‌شود. علاوه بر هزینه‌های درمانی دیابت سرسام‌آور است (۷) که باعث گرایش مردم به طب مکمل شده است. از جمله درمان‌های مکمل استفاده از ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاست (۸). لذا مهم است تا مطالعات برای کشف راهکارهای جدید در درمان این بیماری و توسعه مدل‌های تحقیقاتی، صورت بگیرد.

اپیدمیولوژی دیابت به خوبی مشخص شده است، اما اطلاعات بیشتری در مورد مکانسیم پیچیده آن که موجب بروز و پیشرفت بیماری است مورد نیاز می‌باشد و نمی‌توان مطالعات انسانی به دلیل مسائل قانونی و اخلاقی را به کار برد (۹). به دلیل پیچیدگی و جنبه‌های متفاوت دیابت، شبیه‌سازی مدل‌های حیوانی آن، باید با دقت زیاد صورت بگیرد و به طور ایده‌آل برای نمایش تنوع دیده شده در عوارض مربوطه این بیماری، باید از بیش از یک مدل حیوانی استفاده گردد. برای القاء دیابت در حیوانات آزمایشگاهی از عوامل شیمیایی، دستکاری‌های ژنتیکی و روش‌های ایمونولوژیکی استفاده می‌گردد. استرپتوزوتوسین (STZ) و آلوکسان مهم‌ترین و بیشترین ترکیبات شیمیایی مورد استفاده برای القای دیابت هستند. همچنین مدل‌های حیوانی دیابت می‌توانند بر اساس نوعی از دیابت که مورد مطالعه قرار می‌گیرد، دسته‌بندی شوند (۱۰). هدف از مطالعه

مروری حاضر، بررسی روش‌های القاء دیابت نوع ۱ و به طور خاص تأکید بر روش‌های شیمیایی است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مروری استراتژی جست‌وجو بر مبنای PRISMA در پایگاه داده‌های الکترونیکی شامل PubMed، Scopus و Google Scholar به کار گرفته شد. مطالعات مرتبط منتشر شده با مدل‌های خودبخودی و شیمیایی دیابت نوع ۱ با آلوکسان و STZ و سایر روش‌ها طی سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۲۱، با کلید واژه‌های "مدل حیوانی"، "دیابت نوع ۱"، "استرپتوزوتوسین"، "آلوکسان" و "مدل شیمیایی" جست‌جو و از نظر عنوان و چکیده بررسی و پس از حذف موارد نامرتب، مقالات نهایی انتخاب شدند (نمودار ۱).

نتایج

دیابت در ابتدا به عنوان یک نارسایی یا عدم عملکرد پانکراس شناخته می‌شد، بر همین اساس پژوهشگران این بیماری را با حذف قسمتی یا کل پانکراس مدل‌سازی می‌کردند. علاوه بر پانکراتکتومی نسبی یا کامل، روش‌های غیرجراحی برای القای هیپرگلیسمی وجود دارند. پنج گروه از مواد دیابت‌زا وجود دارند: مواد شیمیایی، عوامل بیولوژیکی، potentiatorها، پپتیدها و استروئیدها (۱۱). امروزه از مدل‌های حیوانی در تحقیقات زیست پزشکی، مطالعات بیولوژی نرمال و بررسی آسیب‌شناسی فرآیندهای خودبخودی یا القا شده استفاده می‌گردد. در حقیقت این مدل‌ها شباهت زیادی با نمونه‌های انسانی یا حیوانات دیگر دارند. طبق تعریفی از کمیته ملی شورای تحقیقات آمریکا، مدل‌های حیوانی دیابت در پنج گروه طبقه‌بندی شدند.

(۱) مدل‌های خودبخودی که بیماری یا شرایط موردنظر همانند انسان به صورت بی‌اختیار ایجاد شده است.

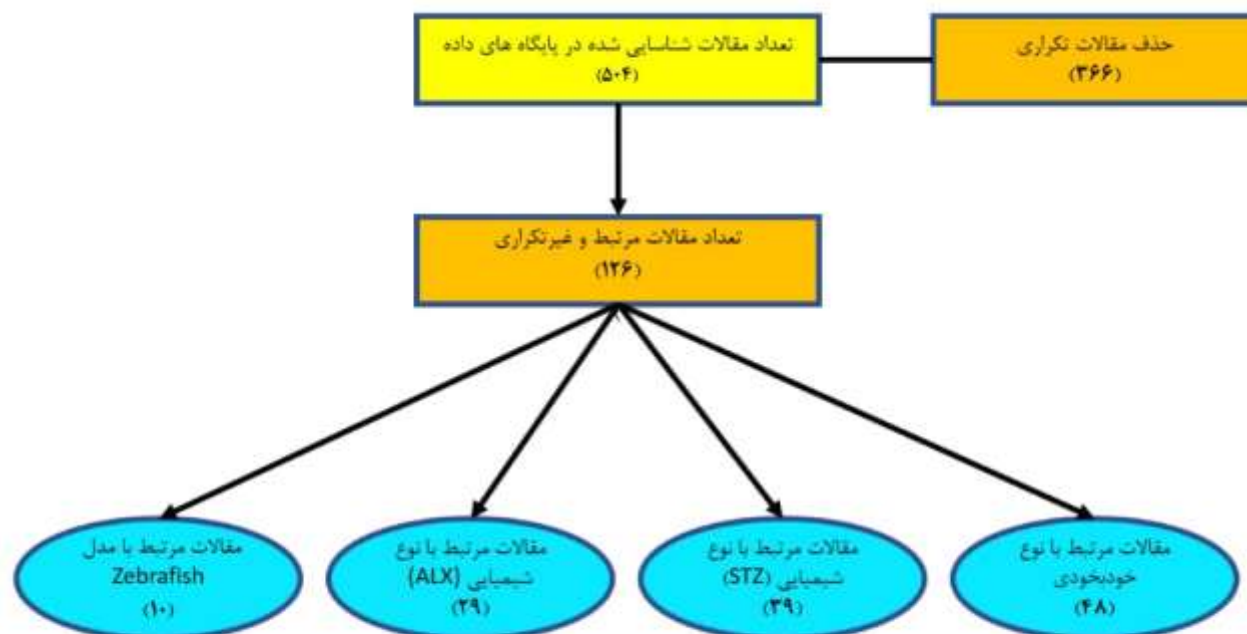
(۲) مدل‌های آزمایشگاهی که به روش‌های شیمیایی یا جراحی القاء می‌گردد.

(۳) مدل ژنتیکی که با دستکاری‌های ژنتیکی ایجاد می‌شود.

(۴) مدل منفی که شامل حیوانات مقاوم در برابر بیماری‌ها و شرایط خاص هستند.

(۵) مدل اورقان: مدل‌های حیوانی با بیماری‌های ناشناخته برای انسان در این گروه قرار می‌گیرند.

در میان مدل‌های حیوانی، جوندگان به دلیل هزینه پایین، زمان تولید مثل کوتاه، چاقی وراثتی و هیپرگلیسمی مناسب‌تر هستند. مدل‌های حیوانی شناخته‌شده‌ای برای مطالعه دیابت نوع ۱ وجود دارند. توسعه مدل‌های دیابت می‌تواند به سه روش ایجاد گردد: شناسایی گونه‌هایی که به صورت خودبخودی دیابت داشته باشند، ایجاد گونه‌هایی متمایل به دیابت با استفاده از تکنیک‌های ژنتیکی و تخریب سلول‌های جزایر پانکراسی به وسیله مواد شیمیایی و روش‌های جراحی (۱۲).



نمودار ۱- مراحل ورود اطلاعات مقالات

۲-۱-۱ مدل‌های دیابت نوع ۱

دیابت نوع ۱، یک بیماری خودایمنی بر علیه سلول‌های بتای پانکراس است که منجر به فقدان تولید انسولین می‌گردد. در مدل‌های حیوانی نقص در تولید انسولین با مکانیسم‌های مختلفی انجام می‌شود. پنج مدل حیوانی خودبخودی برای دیابت نوع ۱ شامل موش nonobese diabetic (NOD)، موش صحرائی biobreeding (BB)، موش صحرائی Long Evans Tokushima، موش صحرائی Komeda diabetes-prone، موش صحرائی Lean (LETL)، موش صحرائی LEW Insulin dependent diabetes (KDP) و موش صحرائی mellitus (lew – iddm) می‌باشد. دو مدل NOD و BB، با اختلاف، بیشترین استفاده را در مطالعات مربوط به دیابت دارند (۳). ممکن است بعضی از گونه‌های جوندگان همانند انسان‌ها دیابت داشته باشند. این رده‌ها با انتخاب دقیق حیوانات متمایل به دیابت نوع ۱ در جمعیت‌های نرمال تکامل پیدا کرده‌اند. هنگامی که حیوانات دیابتی به‌طور انتخابی در میان یکدیگر پرورش یافته و جفت‌گیری می‌کنند، درصد بیشتری به دیابت مبتلا می‌شوند. آنها به‌طور مکرر بارور شده و موجب ایجاد صفات یکنواخت و یک شکل، از جمله صفات دیابتی، در جمعیت می‌شوند. در ادامه این مطالعه به بیان جزئیات و صفات هر کدام از این مدل‌ها پرداخته می‌شود.

۲-۱-۱-۱ مدل‌های خودبخودی دیابت

۲-۱-۱-۱ موش دیابتی غیرچاق [Nonobese diabetic (NOD)]

موش دیابتی غیرچاق [Nonobese diabetic (NOD)] ابتدا در سال ۱۹۷۴ در آزمایشگاه تحقیقاتی Shionogi، در آساکای ژاپن معرفی شد (۱۳). موش NOD بیشترین استفاده را در مطالعات دیابت نوع ۱ داشته و علائم بالینی آنها از جمله هیپرگلیسمی، پرادراری (Polyuria) و پرنوشی (Polydipsia) مشابه با نمونه‌های انسانی این بیماری است. به علاوه در این موش‌ها، عوامل ژنتیکی و همچنین شروع تخریب سلول‌های بتا قبل از ظهور علائم بیماری، تا حدودی مشابه با مدل انسانی است. التهاب انسولینی (Insulinitis) در حدود سن ۳ یا ۴ هفته‌گی رخ می‌دهد. در اینجا که مرحله پیش دیابتی نامیده می‌شود، به‌طور غالب لنفوسیت‌های CD4+، CD8+، B و سلول‌های کشنده طبیعی (NK) به درون جزایر پانکراسی نفوذ می‌کنند (۱۴). سرانجام بعد از یک دوره تخریب سلول‌های بتا که بیش از ۹۰٪ از سلول‌های پانکراسی از بین می‌رود، دیابت آشکار می‌شود (تقریباً در ۲۴ تا ۳۰ هفته‌گی). شیوع در موش‌های ماده (۹۰٪) بیشتر از موش‌های نر (۶۰٪ تا ۵۰٪) است (۳). این موش‌ها پس از تخریب سلول‌های بتا به سرعت وزن خود را از دست داده و نیازمند درمان با انسولین هستند.

انسان و موش NOD بیشتر آل‌های MHC برای بیان فعالیت‌های دیابت‌توزنی، نیازمند حضور ژن‌های دیگر می‌باشند (۱۵ و ۲۵). استراتژی‌هایی برای بهبود مدل موش‌های NOD شامل استفاده از دستکاری‌های ژنتیکی (۲۶) یا ایجاد مدل‌های موشی-انسانی با اجزا سیستم ایمنی انسانی وجود دارند (۲۷). با وجود محدودیت‌های موش NOD، هنوز به‌طور گسترده از آنها برای نشان دادن جنبه‌های زیادی از بیماری‌های انسانی استفاده می‌شود و به تشخیص مسیرهای ژنتیکی و سیگنالینگ دخیل در بیماری دیابت کمک می‌کند.

موش Akita مبتلا به دیابت نوع ۱، با جهش نقطه ای در ژن *Ins2* (*Ins2Cys96Tyr*) مشخص می‌شوند. این ژن در پردازش انسولین دخالت داشته و در نهایت موجب مرگ سلول‌های بتا، ایجاد فنوتیپ دیابت (۲۸) و عوارض آن می‌گردد (۲۹). جهش خودبخودی در ژن مذکور موجب انباشتگی پیش انسولین‌هایی با چین خوردگی‌های ناهنجار، درون شبکه آندوپلاسمی سلول‌های بتا می‌شود. این حالت باعث آپوپتوز سلول‌های بتا و در نتیجه اختلال در ترشح انسولین در این گونه حیوانی می‌گردد. در این موش‌ها هیپرگلیسمی، هیپوانسولینی، پرنوشی (*polydipsia*) و پرادراری دیده می‌شود. این موش‌ها به‌طور مکرر برای مطالعه عوارض مربوط به دیابت نوع ۱ کاربرد دارند. این مدل علاوه بر دیابت نوع ۱، دیابت نوع ۲ را نیز نشان می‌دهد به گونه‌ای که سلول‌های عضله اسکلتی، کبد و بافت چربی قهوه‌ای آنها در برابر انسولین مقاوم بوده و در نتیجه هیپرگلیسمی در این موش‌ها مشاهده می‌گردد (۳۰ و ۳۱). بنابراین موش‌های Akita به‌طور مکرر به‌عنوان مدل‌هایی برای هر دو نوع دیابت ۱ و ۲ مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۳۲).

۲-۱-۱-۲- موش Akita

موش Akita یکی از رایج‌ترین نمونه‌های حیوانی مورد استفاده در پژوهش‌های مربوط به بیوسنتز انسولین، استرس شبکه آندوپلاسمی و تأثیر آن بر میزان بقا سلول‌های بتا می‌باشد. علاوه بر این از این مدل برای مطالعه پاتوژنز دیابت و عوارض آن نیز استفاده می‌گردد (۳۳). موش‌های Akita به‌طور خودبخودی در حدود سن ۳ تا ۴ هفتگی دچار دیابت شدید می‌شوند. در مقایسه با نوع هتروزایگوت، در نمونه‌های هموزایگوت، فنوتیپ شدیدتری دیده شده و دچار مرگ پیش از بلوغ می‌گردند. نگهداری و بقای موش‌های Akita هتروزایگوت، نیازمند تولیدمثل بین یک جفت هتروزایگوت و نوع وحشی می‌باشد (۳۴). تغییرات پاتوفیزیولوژیک اولیه و عوارض دیابت در این موش‌ها مشابه با نمونه‌های انسانی است (۳۵). اما عوارض مربوط به مراحل پیشرفته این مدل مانند خونریزی زجاجیه و غشا فیبروواسکولار ایجاد نمی‌شود. در بررسی شبکه‌های موش‌های Akita، تغییرات اولیه نورونی، از دست‌رفتن سلول‌های آماکراین و گانگلیونی، افزایش میزان

ایجاد دیابت در موش NOD، با قرار گرفتن در معرض میکروب‌ها نسبت معکوس دارد. بنابراین باید در یک محیط مخصوص و عاری از پاتوژن [Specific Pathogen Free (SPF)] قرار بگیرند تا شرایط شیوع دیابت حفظ گردد. این مدل با توجه به تفاوت‌های جنسیتی، غیرقابل پیش‌بینی بودن بروز بیماری و وابستگی به شرایط SPF، در مقایسه با مدل‌های شیمیایی القای دیابت نوع ۱، گران است. علایم بالینی در موش NOD مشابه با انسان است با این وجود آنها در برابر افزایش کتواسیدوز مقاوم هستند و می‌توانند حدود ۲ تا ۴ هفته بعد از تأیید بیماری، بدون استفاده از انسولین زنده بمانند و سرانجام اگر دیابت درمان نگردد مرگ در اثر دهیدراته شدن اتفاق می‌افتد (۱۷-۱۵).

با استفاده از این مدل، پیشرفت‌های زیادی در فهم این بیماری، شامل تشخیص چندین اتوانتی‌ژن و بیومارکر مشابه با انسان و توسعه اهداف درمانی صورت گرفته است (۱۸). موش‌های NOD، به دلیل شباهت در ژن‌های ایجادکننده دیابت نوع ۱ با انسان، برای بررسی مکانیسم و مسیرهای این بیماری بسیار مفید هستند (۱۹). هم در انسان و هم در موش‌های NOD مهم‌ترین عامل ژنتیکی که با ابتلا به دیابت نوع ۱ همکاری می‌کند کمپلکس سازگاری بافتی (*major histocompatibility complex (MHC)*) است که تحت عنوان حساسیت وابسته به انسولین [*insulin dependent susceptibility 1 (idd1)*] در موش‌ها و دیابت ملیتوس وابسته به انسولین [*insulin dependent diabetes mellitus1 (IDDM1)*] در انسان شناخته می‌شود (۲۰ و ۲۱). به علاوه بیش از ۴۰ جایگاه ژنی در انسان و موش NOD نشان داده شده است که نقش مهمی در ابتلا به دیابت نوع ۱ دارند. این ژن‌ها مربوط به عملکرد سیستم ایمنی و تنظیم آن و همچنین در ارتباط با فعالیت سلول‌های بتای پانکراس هستند (۲۲). بنابراین این موش‌ها جهت آزمون راه‌های درمانی هدفمند برای تعدیل پاسخ خودایمنی، بسیار مناسب می‌باشند با این وجود باید توجه داشت که شماری از داروهای مؤثر بر موش‌های NOD وجود دارند که بر انسان بی‌تأثیر هستند (۲۳).

همانند انسان، موش NOD اتوانتی‌بادی‌هایی را بر علیه انسولین، گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز [*glutamic acid decarboxylase (GAD)*] و آنتی ژن جزیره‌ای ۲ [*Islet Antigen2 (IA2)*] ایجاد می‌کند (۲۴). ژن‌های زیادی در موش NOD وجود دارند که با آمادگی این موش‌ها در ابتلا به دیابت در ارتباط هستند. علاوه بر نقش مهم آل‌های MHC، در بعضی از موارد ژن‌هایی مانند *Ag7* و پروتئین مربوط به لنفوسیت T سیتوتوکسیک ۴ [*Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4 (CTLA4)*] به‌عنوان ژن‌های مشابه در انسان و موش محسوب می‌گردند. با این وجود، در

حدود ۸ تا ۱۶ هفته‌گی (سن بلوغ) به‌طور کامل دیابتی گشته و علائم انسولینوپنی، پرادراری و پرنوشی را که مشابه با نمونه انسانی است، بروز می‌دهند. در این گونه، دیابت تنها بعد از بلوغ دیده می‌شود و هر دو جنس مذکر و مؤنث به‌طور مشابه تأثیر می‌گیرند. در موش صحرایی BB-DP ظهور دیابت نیازمند حضور حداقل یک آلل RT1B/Du برای MHC II می‌باشد. همانند نمونه‌های انسانی کتواسیدوز بسیار شدید است و حیوان نمی‌تواند بدون انسولین زنده بماند (۳). یک مشکل قابل توجه در این مدل، لنفوپنی شدید سلول‌های T است که در مدل‌های انسانی و در موش‌های NOD وجود ندارد (۴۳).

۴-۱-۱-۲- موش صحرایی LEW.1AR1/-iddm

این مدل دیابت نوع ۱ به‌طور خودبه‌خودی، در یک کلونی پرورش داده شده از موش صحرایی lewis با MHC هاپلوتایپ مشخص (LEW.1AR1) در مدرسه پزشکی هانور، ایجاد شد. یکی از علائم این موش صحرایی التهاب انسولینی بوده و نشانه‌های دیابت حدود سن ۹-۸ هفته‌گی نمایان می‌شود. به‌طور اولیه احتمال وقوع دیابت در این حیوان تقریباً ۲۰٪ است (۴۴) ولی با آمیزش بیشتر موش‌های دیابتی با یکدیگر، احتمال وقوع به حدود ۶۰٪، با میزان برابر در هر دو جنس، افزایش می‌یابد. تقریباً یک هفته پیش از هیپرگلیسمی، حیوانات یک دوره پیش دیابتی به همراه نفوذ سلول‌های ایمنی به جزایر را نشان می‌دهند (۴۵). این دوره کوتاه پیش دیابتی اجازه تجزیه و تحلیل مؤثر مراحل مختلف نفوذ سلول‌های ایمنی را می‌دهد. برخلاف موش NOD و موش صحرایی BB، موش صحرایی LEW-iddm بیماری‌های خودایمنی دیگری را نشان نمی‌دهد. همچنین پس از بروز دیابت به خوبی زنده مانده و بنابراین می‌توان از آنها برای مطالعه عوارض دیابت استفاده کرد (۱۵).

با این وجود تاکنون بیشتر مطالعات مربوط به این مدل روی مکانیسم‌های دخیل در ایجاد و توسعه دیابت (۴۶) و مطالعات مداخله‌ای صورت گرفته است (۴۷). موش صحرایی LEW.1AR1 طی یک جهش خود به خودی به وجود می‌آید و همانند همه مدل‌های موش صحرایی، آلل RT1 B/Du را بیان می‌کند. LEW-iddm لنفوپنیک نیست و آسیب‌های پانکراسی مشابه موش‌های صحرایی BB و KDP ایجاد کرده و دیابت در سن ۶۰ روزگی ایجاد می‌گردد. احتمال بروز دیابت در هر دو جنس با هم برابر و حدود ۷۰٪ است. این حیوانات بدون دریافت انسولین قادر به حیات بوده و دارای علائمی مانند پایین بودن انسولین خون، هیپرگلیسمی، گلوکوزاوری و کتونوری هستند (۴۵). اتوانتی‌بادی‌ها برای آنزیم گلوتامیک اسید دکربوکسیاز [glutamic acid decarboxylase (GAD)] یا IA-2 در این مدل افزایش پیدا نکرده و بر خلاف مدل‌های دیگر، سلول‌های ایمنی به جزء پانکراس به تیروئید، پاروتید یا دیگر غدد هجوم نمی‌برند (۴۸).

نفوذپذیری انتخابی عروق، توسعه مویرگ‌های بدون سلول و افزایش لکوستازیس (leukostasis) مشاهده می‌شود (۳۶).

این تغییرات با مراحل اولیه رتینوپاتی دیابتی (DR) مرتبط است. با این وجود این موش‌ها برای شبیه‌سازی DR انسانی که نشان‌دهنده علائمی چون انحطاط نورونی، از بین رفتن و انسداد مویرگ‌ها، ادم شبکیه و نئوسکولاریزاسیون دور شبکیه است، کمتر پیشنهاد می‌شود. اگر پاسخ‌های ایمنی با میانجی‌گری سلول T-helper 17 (Th17) در ایجاد و پیشرفت DR نقش داشته باشد، آنگاه تمایز سلول‌های Th17 موجب DR شدید تری در موش‌های Akita خواهد شد. موش‌هایی که اینترفرون γ در آنها غیرفعال شده است [gamma interferon gene knockout mice (GKO)] مقدار بالایی تمایز و فعال شدگی در سلول‌های T-helper 2 (Th2) و Th17 دارند. در این موش‌ها فعال شدگی و تمایز T-helper 1 (Th1) مهار گشته و مقدار این سلول‌ها نسبت به دو سلول بیان شده کاهش پیدا کرده است (۳۷).

۳-۱-۱-۲- موش صحرایی BB (bio breeding)

در مدل شناخته‌شده با نام موش‌های BB (bio-breeding) با نام موش صحرایی پرورشی مستعد دیابت (BBDP/bio-breeding) (diabetes prone)، که دیابت وابسته به انسولین به‌طور خودبه‌خودی ایجاد می‌شود. این حیوانات در سن ۲ تا ۴ ماهگی هیپرگلیسمی، درجات مختلفی از نفوذ تک هسته‌ای‌ها به جزایر پانکراسی یا از دست دادن کامل سلول‌های بتا، کاهش انسولین و کتونوز را نشان می‌دهند (۳۸-۴۰). هنگام درمان موش صحرایی BB/Worchester (BB/W) با آنتی‌سرم‌های خرگوشی بر علیه لنفوسیت‌های آن، علائم دیابت در ۳۶٪ از موش‌ها، مشاهده نشده است. این نتایج نشان می‌دهد که دیابت در این حیوانات، یک نوع اختلال خود ایمنی با واسطه سلول است. تخریب سلول‌های بتا توسط یک گروه از سلول‌های ایمنی مثل لنفوسیت‌های T، لنفوسیت‌های B، ماکروفاژها و سلول‌های NK صورت می‌گیرد (۴۱). موش صحرایی BB از جفت‌گیری موش صحرایی نژاد ویستار مشتق می‌شود. دیابت نوع ۱ خودبخودی در این موش‌ها، برای اولین بار در سال ۱۹۷۴ در یک کلونی کانادایی تشخیص داده شد و منجر به ایجاد دو کلونی اصلی (BBDP/Worchester) و (BBDP) شد که همه نژادهای دیگر از آنها مشتق می‌گردند. (۴۲).

همان‌طور که از نام آن پیداست موش صحرایی پرورشی زیستی یک نمونه تولیدشده در آزمایشگاه است. موش‌های BB-DP بهترین مدل برای مطالعه دیابت نوع ۱ است و از لحاظ نحوه پیشرفت، شباهت‌های قابل توجهی بین موش صحرایی BB و دیابت انسانی وجود دارد. التهاب انسولینی به همراه جمعیت غالبی از لنفوسیت‌های Th1 مقدم بر شروع دیابت (قبل از ۲ تا سه هفته‌گی) است. موش صحرایی BB در

همچنین از آنها برای مطالعات مربوط به پیشگیری از بیماری، مارکرهای اولیه دیابت و رویکردهای درمانی نیز استفاده می‌شود. مستندات تا به امروز نشان می‌دهند که ژن‌های MHC II مهمترین عامل شرکت‌کننده در ایجاد دیابت نوع ۱ در این مدل‌ها و انسان می‌باشد. گرچه داشتن ژن‌های MHC II برای ابتلا به دیابت ضروری است اما منحصراً برای ایجاد این بیماری کافی نیست. شناسایی ژن‌های غیر MHC که در دیابت نوع ۱ شرکت می‌کنند، در دست تحقیق است. به دلیل وجود منشا مستقل مدل‌های مختلف دیابت خودایمنی، این احتمال وجود دارد که بعضی از ژن‌ها در بین مدل‌ها با یکدیگر متفاوت باشند. در موش‌های صحرایی سلول‌هایی که موجب ایجاد التهاب انسولینی می‌شوند شامل لئوسیت‌های CD4+(Cluster of Differentiation 4) و CD8+(Cluster of Differentiation 8)، سلول‌های دندرتی و مونوسیت - ماکروفاژ هستند. لئوسیت‌های T در موش‌هایی که تحت تأثیر اختلالات ایمنی (خودبه خودی یا آزمایشگاهی) قرار گرفته‌اند، سریعاً جزایر پانکراسی را مورد هدف قرار داده و منجر به ایجاد التهاب انسولینی و دیابت می‌شوند (۵۶).

۶-۱-۱-۲- موش صحرایی (KDP) Komeda diabetes-prone (KDP) یک مدل از زیرنژاد موش صحرایی LETL هستند که متحمل تخریب خودبه خودی جزایر سلولی شده‌اند. در مدل KDP در مقایسه با مدل BB-DP، دیابت کمی دیرتر پیشرفت می‌کند. در این مدل التهاب انسولینی شدید، تقریباً در هفته‌های ۱۷ تا ۳۱ ایجاد می‌گردد (۴۳). ژن‌های MHC و غیر از MHC در ابتلا این موش صحرایی به دیابت نوع ۱ نقش دارند. با این وجود همراهی ژن‌های غیر MHC همانند ژن Cblb (Casitas b-lineage lymphoma b) نقش مهمی را در پیش برد دیابت نوع ۱ ایفا می‌کند. ژن Cblb، یوبی کویبتین لیگاز را کد می‌کند. این لیگاز تحریک‌کننده CD28 در طی فعال شدن سلول‌های T بوده و تأثیر به سزایی در ابتلا به دیابت نوع ۱ دارد. این ژن هیچ ارتباطی با دیابت در نمونه‌های انسانی ندارد (۵۷).

احتمال وقوع دیابت در این موش صحرایی بین ۷۰٪ تا ۸۰٪ بوده و میزان شیوع در هر دو جنس برابر است (۱۲). موش صحرایی KDP با تخریب سلول‌های بتا در اثر خودایمنی، حمله سریع دیابت بدون تأثیر جنسیت و عدم وجود لئوسیتی قابل توجه در سلول‌های T، مشخص می‌شود. این موش‌ها می‌توانند به‌عنوان یک مدل حیوانی برای دیگر بیماری‌های خودایمنی به‌ویژه خودایمنی‌های مربوط به تیروئید مورد استفاده قرار بگیرند (۵۷ و ۵۸). اگرچه در مدل KDP مشابه با مدل‌های خودایمنی دیابت نوع ۱ در دیگر جوندگان، سلول‌های بتا در اثر التهاب انسولینی از بین می‌روند اما در این مدل سایتوکین‌ها متفاوت بوده به گونه‌ای که اینترفرون γ و فاکتور نکروزکننده تومور α (TNF) نسبت به اینترفرون β (IL-1 β) غالب‌تر است (۵۹). مطالعه‌ای

این مدل از مدل NOD متمایز بوده و برخلاف موش صحرایی BBDP، دیابت به‌طور مساوی در هر دو جنس مذکر و مؤنث اتفاق می‌افتد (۴۹). این حیوانات کتونوریک بوده اما لئوسیتیک نیستند و تعداد نرمال سلول‌های T (+ART) را نشان می‌دهند. در این مدل سلول‌های بتا در جزایر لانگرهانس مورد حمله لئوسیت‌های T، B، T، ماکروفاژ و NKها قرار گرفته و اینگونه به‌نظر می‌رسد که سلول‌های بتا از طریق آپوپتوز از بین می‌روند (۴۲). این تخریب آپوپتوزی سلول‌های بتا به وسیله سایتوکین‌های پیش‌التهابی آزاد شده از سلول‌های ایمنی مهاجم، القا می‌شود (۴۵). در مدل LEW.1AR1-iddm، سندرم دیابت به شکل یک نوع توارث اتوزومال مغلوب با نفوذ ناگهانی ۶۰ درصدی فنوتیپ چشم‌یافته نشان داده می‌شود. تجزیه و تحلیل ژنوم در این مدل امکان شناسایی سه نقطه مستعد ایجادکننده دیابت نوع ۱ را فراهم می‌آورد (۵۰).

در این مدل همانند انسان، موش NOD، موش‌های صحرایی BB و KDP یکی از این نقاط ژنی درون ناحیه MHC قرار گرفته است. این نقطه آمادگی لازم برای ابتلا به دیابت را در این نوع موش صحرایی فراهم می‌کند (۵۱). در این مدل مشخص گردید که انتقال انتخابی سلول‌های ایمنی از موش صحرایی هم نژاد و سالم به موش صحرایی LEW.1AR1-iddm پیش‌دیابتی باعث حفاظت بر علیه این بیماری می‌شود. بنابراین نتیجه بر این شد که محافظت سلول‌های بتا در برابر سلول‌های ایمنی خودی، به‌وسیله عوامل تنظیمی آزاد شده از سلول‌های ایمنی انتقال یافته صورت می‌گیرد (۵۲).

۵-۱-۱-۲- موش صحرایی Long Evans Tokushima Lean (LETL) Long Evans Tokushima Lean (LETL) یکی دیگر از نمونه‌های بیماری دیابت خودایمنی (دیابت نوع ۱) است که سلول‌های ایمنی به سلول‌های بتا در جزایر پانکراسی هجوم می‌برند (۵۳). از ویژگی‌های این مدل بروز سریع دیابت، عدم تفاوت جنسی در ابتلا به آن، خودایمنی بر علیه سلول‌های بتا و عدم ایجاد لئوسیتی T است. این حیوانات از نظر مکانیسم القا و نتایج پاتوفیزیولوژیکی به شدت به دیابت نوع ۱ انسانی شبیه بوده و شیوع بیماری در این گونه از ۱۶٪ تا ۲۰٪ متغیر است. هر دو جنس به‌طور یکسان تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۵۴). پرورش انتخابی موش‌های صحرایی LETL منجر به ایجاد یک کلونی با شیوع بالاتر دیابت (۸۰-۹۰٪) گردید. این نژاد، موش صحرایی Komeda Diabetes Prone (KDP rat) نامگذاری شدند. در موش‌های صحرایی LETL دیابت در سن ۳ تا ۴ ماهگی با نشانه‌هایی از جمله پر ادراری، افزایش وزن و هیپرگلیسمی آشکار می‌شود. این نشانه‌ها به‌طور ناگهانی ظاهر می‌گردند. بعلاوه در این مدل نفوذ لئوسیت‌ها به تیروئید و غدد بزاقی نیز گزارش شده است (۵۵).

مدل‌های خودبخودی دیابت در جوندگان و مدل انسانی این بیماری صورت گرفته است.

به صورت گسترده روی این نوع موش صحرایی تنها در ژاپن صورت گرفته اگرچه از آنها برای فهم عوامل ژنتیکی مستعد برای دیابت نوع ۱ استفاده گردیده است (۶۰). در ادامه، در جدول ۱ مقایسه بین انواع

جدول ۱- مقایسه ویژگی مدل‌های خودبخودی دیابت نوع ۱ در جوندگان با نمونه انسانی

ژن‌های غیر وابسته به MHC	ژن‌های وابسته به MHC	اختلالات ایمنی دیگر	نیاز سریع به انسولین	التهاب انسولینی	اتوانی‌بادی	کتواسیدوز	میزان شیوع	سن شروع	
CTLA-4, LYP/PEP tyrosine phosphatase, IL-2 and CD25	HLA-DQ	تیروئیدیت، آنمی بدخیم، بیماری سلیاک	دارد	سلول‌های T	Insulin, GAD, ICA, BSA, ICISA, CPH, EC, IA-2, IAA	سنگین	۹/۵٪	نوجوانی	Human
β2microglobulin, CTLA-4, LYP/PEP tyrosine phosphatase, IL-2 and CD25	I-Ag7	تیروئیدیت، سندروم Sjögren's	دارد	سلول‌های T	Insulin, ICA, GAD	ملازم	نر ≈ ۵۰-۶۰٪ ماده ≈ ۹۰٪	۲۴-۳۰ هفتگی	NOD موش
Ins2 (Ins2Cys96Tyrosine)			دارد (جنس نر)			ندارد		۴-۳ هفتگی	Akita
CTLA-4, IAN-4 (immune associated nucleotide-4)	حداقل RT1 هاپلوتاایپ B/Du	لیمفونتی، سیالیستیس	دارد	سلول‌های T	ICA	سنگین	۵۰-۸۰٪	۱۶-۸ هفتگی	BB rat
Cblb	حداقل RT1 هاپلوتاایپ B/Du	عدم نفوذ لنفوسیت‌ها به تیروئید، پاروتید و دیگر غدد		سلول‌های T	ICA	سنگین	۷۰٪	۳-۲ ماهگی	LEW-IDDM موش صحرایی
	RT1	نفوذ لنفوسیت به تیروئید و غدد بزاقی		سلول‌های T		سنگین	۱۶-۲۰٪	۴-۳ ماهگی	LETL
	حداقل RT1 هاپلوتاایپ B/Du	نفوذ لنفوسیت به تیروئید و کلیه	دارد	سلول‌های T	ناشناخته	سنگین	۷۰-۸۰٪	۴-۳ ماهگی	KDP

گونه‌های مختلف، متفاوت است. عقیده بر این است که این تفاوت‌ها به اختلافات در بیان GLUT2 مربوط می‌شود (۶۵).

در ادامه، دانش فعلی مربوط با مدل‌های شیمیایی دیابت شامل اطلاعات موجود در رابطه با مکانیسم عمل، زمان لازم، پروتکل‌های وابسته به دوز، مشکلات رایج و همچنین محدودیت‌های مربوط به کاربرد آزمایشگاهی آلوکسان و STZ در القاء دیابت بیان می‌گردد.

۱-۲-۱-۲- القاء دیابت نوع ۱ با STZ

استرپتوزوتوسین (STZ) یک ماده ضدباکتری بوده و به عنوان عامل آلکیل‌کننده در شیمی درمانی نیز استفاده می‌گردد (۶۱). اولین گزارش مبنی بر دیابتوزن بودن STZ در سال ۱۹۶۳ منتشر گردید و سپس از آن به طور گسترده برای القاء دیابت در جوندگان استفاده شد (۶۶). STZ به تنهایی، یا همراه با مواد شیمیایی دیگر و یا رژیم‌های غذایی خاص باعث القای هر دو نوع دیابت نوع ۱ و ۲ می‌شود (۶۷). در جوندگان یکی از روش‌های آسان القاء دیابت نوع ۱ تزریق تک دوز مشخص STZ است. اما به دلیل ناپایداری دیابت القاء شده با این روش و همچنین مرگ ۱۰ تا ۲۰ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه بر اثر

۲-۱-۲- مدل‌های شیمیایی دیابت نوع ۱

روش‌های زیادی برای القای دیابت نوع ۱ وجود دارد اما روش‌های شیمیایی با آلوکسان و STZ برای شبیه‌سازی پاتولوژی این بیماری، از اهمیت بیشتری برخوردار هستند. همانند همه مدل‌های حیوانی، آنچه که در مدل دیابت اهمیت دارد، نمایش ماهیت و پاتوژنز بیماری و ایجاد عوارض مربوطه آن است. با این حال حقیقت این است که نمی‌توان تأکید کرد یک مدل حیوانی دیابت وجود دارد که می‌تواند به طور کامل پیشرفت و عوارض این بیماری را در انسان شبیه‌سازی کند. تا به امروز آلوکسان و STZ به عنوان قوی‌ترین مواد شیمیایی دیابتوزن در نظر گرفته می‌شوند (۶۱). هر دو ماده مذکور مشابه به گلوکز هستند و از طریق انتقال‌دهنده گلوکز ۲ [glucose transporter 2 (GLUT2)] وارد سلول‌های بتا شده و در آنجا ذخیره می‌گردند (۶۱). اگرچه مکانیسم عمل آلوکسان و STZ کاملاً متفاوت است ولی روش انتخاب سلول‌های بتا، به عنوان سلول هدف، در هر دو ماده مشابه است (۶۲). سمیت STZ (۶۳) و آلوکسان (۶۴) برای سلول‌های بتا در بین

کمتری می‌باشد (۶۱). از این رو، این ماده به‌طور اختصاصی و به‌واسطه (GLUT2)، در سلول‌های بتا پانکراس انباشته می‌شود (۷۳ و ۷۴). سلول‌های تولیدکننده انسولین که این انتقال‌دهنده را بیان نمی‌کنند در برابر این ماده مقاوم هستند (۷۵). این مشاهدات سمیت بیشتر STZ را نسبت به نیتروزاوریای دارای MNU، در سلول‌های بتا پانکراس تأثیر GLUT2، توجیه می‌کند. STZ تنها بر سلول‌های بتا پانکراس تأثیر نمی‌گذارد بلکه سلول‌هایی در کبد و کلیه که انتقال‌دهنده GLUT2 را بیان کرده، تحت تأثیر این ماده قرار می‌گیرند (۷۶). با توجه به اینکه GLUT2 به مقدار کمتری در سلول‌های کبد و کلیه وجود دارد دوزهای بالای STZ می‌توانند بر عملکرد این اعضا تأثیرگذار باشند (۷۷).

استفاده از دوز چندگانه STZ، موجب محدود شدن بیان GLUT2 در شرایط در بدن (in vivo) و آزمایش (in vitro) می‌گردد (۷۸). این ماده با آلکیل‌کردن DNA باعث مرگ سلول‌های بتا می‌شود (۷۵). آلکیل‌شدن DNA توسط بخش نیتروزاوری STZ به‌ویژه در محل O6 باز آلی گوانین، انجام می‌شود. لازم به ذکر است که پورین‌های متیله‌شده مختلفی بعد از تزریق STZ در بافت‌های رت‌ها وجود دارد (۷۹).

نیتریک اکسید یکی از محصولات آزاد شده داخل سلول بر اثر متابولیسم STZ است. این ماده باعث تخریب سلول‌های جزایر پانکراسی شده و همراه با STZ در آسیب به DNA همکاری می‌کند. این مشارکت در چندین آزمایش اثبات گردیده است (۶۶). به بیان دیگر کاهش تراکم نیتریک اکسید درون سلول‌های جزایر پانکراسی، با مهار فعالیت نیتریک اکسید سنتاز، تا حدودی تجزیه DNA را خنثی می‌کند (۸۰). همچنین نتایج مشابه هنگام از بین رفتن اثرات نیتریک اکسید به‌دست می‌آید.

فعالیت تخریبی دیگر STZ تولید گونه‌های فعال اکسیژن [reactive oxygen species (ROS)] است که در قطعه قطعه کردن DNA و برانگیختن تغییرات مضر در سلول به‌عنوان عامل کمکی عمل می‌کند. آنیون سوپراکساید در نتیجه تأثیر فعالیت STZ بر میتوکندری و افزایش فعالیت زانتین اکسیداز (xanthineoxidase) تشکیل می‌شود. همچنین STZ باعث مهار چرخه کربس (۸۱) و کاهش مصرف اکسیژن توسط میتوکندری می‌گردد. این تأثیرات موجب کاهش تولید ATP شده و مقدار این نوکلئوتید در سلول کاهش پیدا می‌کند (۸۲). محدودیت در تولید ATP توسط میتوکندری به‌طور نسبی توسط NO میانجی‌گری می‌شود.

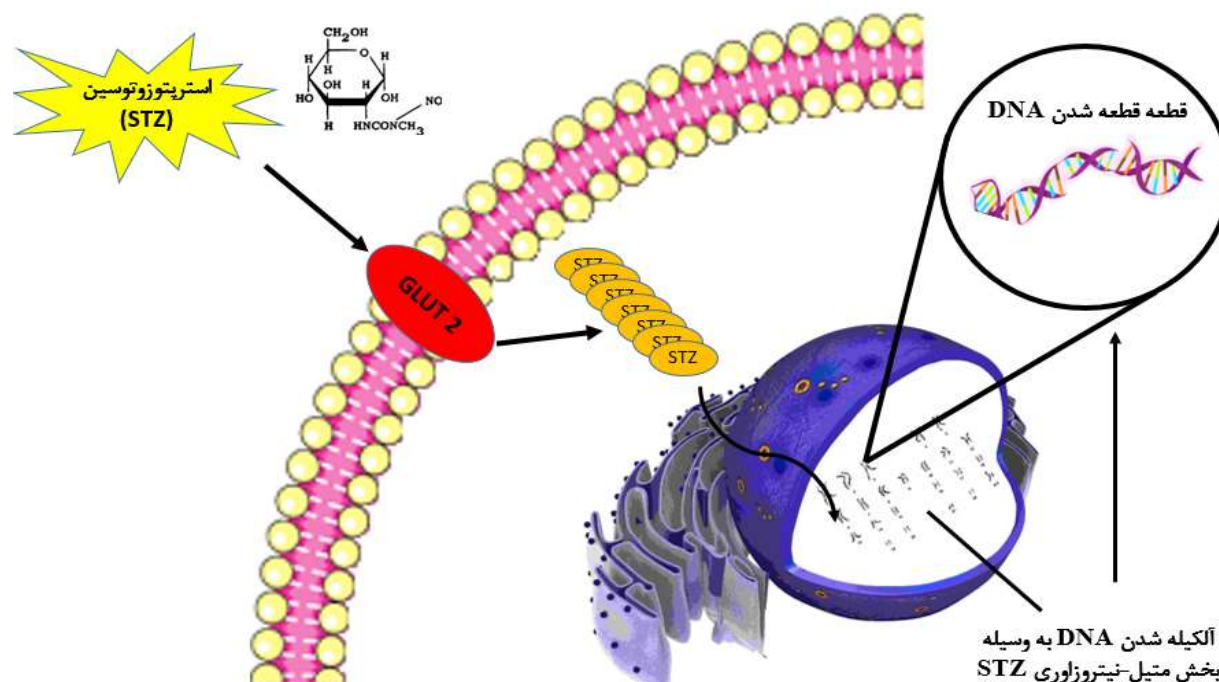
افزایش قند خون و یا سمیت STZ، اینگونه در نظر گرفته می‌شود که دوزهای چندگانه و پایین از امنیت بیشتری برای حفظ حیوانات مورد مطالعه برخوردار هستند (۶۸).

STZ خوراکی به سرعت در کبد متابولیزه شده و سپس توسط کلیه‌ها دفع می‌گردد. به همین دلیل استفاده از این ماده برای القاء دیابت، بیشتر با روش‌های تزریق داخل صفاقی یا داخل وریدی انجام می‌شود. در تزریق داخل صفاقی احتمال آسیب به احشا و در نتیجه مرگ حیوان وجود دارد. تزریق داخل وریدی STZ به یکی از وریدهای دمی یا ورید پنیس (برای جنس نر) صورت می‌پذیرد. تزریق زیر جلدی STZ نسبت به تزریق داخل صفاقی اثر دیابت‌زنی کمتری دارد (۶۹). به دلیل راحتی، تزریق داخل صفاقی بیشتر برای جوندگان و تزریق داخل وریدی برای حیوانات بزرگ‌تر به کار می‌رود. به‌طور معمول برای القاء دیابت در تزریق داخل وریدی نسبت به تزریق داخل صفاقی از دوزهای کمتری استفاده می‌شود زیرا در روش تزریق داخل وریدی زمان کمتری برای جذب لازم بوده و مقدار کمتری از STZ قبل از رسیدن به سلول هدف غیرفعال می‌گردد (۷۰). STZ نیمه عمر کوتاهی دارد (حدود ۱۵ دقیقه در سرم بعد از تزریق داخل وریدی) و سمیت آن برای کبد و کلیه‌ها بعد از ایجاد یک هیپرگلیسمی پایدار نادیده گرفته می‌شود. از این‌رو هرگونه تأثیر بر عملکرد کبد و کلیه‌ها به‌عنوان اثری از هیپرگلیسمی در نظر گرفته می‌شود. این موضوع اساس مطالعه مکانیسم عوارض مستقیم دیابت بر این ارگان‌ها (۷۱) و همچنین اعضا دیگر مثل مغز، قلب و عضلات است (۷۲).

۲-۱-۲-۲- مکانیسم عمل استرپتومایسز

STZ توسط استرپتومایسز آکروموژن (*Streptomyces achromogenes*) سنتز شده و برای القاء هر دو نوع دیابت وابسته به انسولین و غیروابسته به انسولین مورد استفاده قرار می‌گیرد. STZ یک آنالوگ نیتروزاوره و دارای یک بخش N-methyl-N-nitrosourea (MNU) است که به کربن شماره ۲ از یک هگزوز متصل است. در حالت عادی، سمی بودن STZ به میزان فعالیت آن در آلکیل‌کردن مولکول DNA از طریق بخش MNU، بستگی دارد. این ویژگی در این ماده و سایر مواد شیمیایی آلکیل‌کننده، تنها در صورت جذب آنها توسط سلول به نتیجه می‌رسد. با انتقال گروه متیل از STZ به مولکول‌های DNA، زنجیره ای از واکنش‌ها صورت گرفته و در نهایت منجر به قطعه قطعه شدن DNA می‌گردد (۶۱) (شکل ۱).

نیتروزاوره لیپوفیل است و به سرعت از غشا پلاسمایی عبور می‌کند اما STZ به دلیل داشتن بخش هگزوز دارای خاصیت چربی دوستی



شکل ۱- STZ یک آنالوگ گلوکز است و از طریق انتقال‌دهنده GLUT2 وارد سلول‌های بتا پانکراس می‌شود. بعد از ورود به هسته موجب آلیله شدن DNA و قطعه قطعه شدن آن و سرانجام مرگ سلول می‌گردد.

برای تعیین عوارض پاتولوژیکی دیابت و نشان دادن درمان‌های مؤثر برای آن مقبولیت پیدا کرده است (۲۲).

در مطالعه فورمن و همکاران با به کار بردن دوز پایین و چندگانه STZ، مدل‌های حیوانی دیابت ایجاد گردید. مطابق با این روش، القاء دیابت با استفاده از ۴۰ mg/kg/day STZ به روش تزریق داخل صفاقی در پنج روز متوالی انجام شد و از آن برای بررسی ظرفیت آنتی‌دیابتی مواد مختلف استفاده گردید (۸۹). این مدل به دلیل شباهت به دیابت نوع ۱ انسانی از نظر التهاب جزایر پانکراسی، التهاب انسولینی، کمبود انسولین و همچنین هزینه کم، مورد توجه قرار گرفت (۸۹).

در مطالعه ترولیناکی و همکاران، برای ایجاد مدل دیابت خود ایمنی از STZ با تزریق ۵۰ mg/kg/day به داخل صفاقی و به مدت پنج روز متوالی استفاده گردید. در این مطالعه موش‌ها با سطح گلوکز بیشتر از ۲۵۰ mg/dl به عنوان مدل‌های دیابتی در نظر گرفته شدند و بیان ژن Roundabout Guidance Receptor 4 (Robo 4) (ژن دخیل در پایداری اندوتلیوم و آنژیوژنز)، در به تأخیر انداختن یا درمان T1DM نقش داشت، زیرا کاهش بیان Robo4 در موش‌ها با افزایش نفوذپذیری اندوتلیوم عروقی پانکراس، نفوذ لکوسیت‌ها و آپوپتوز در سلول‌های جزایر همراه بود و موجب القای دیابت با روش تزریق دوز

۱-۲-۳-۲- القا دیابت نوع ۱ در موش با STZ مقدار STZ برای القا دیابت در گونه‌های حیوانی مختلف، متفاوت است (۸۳ و ۸۴). در موش‌ها نسبت به حیوانات دیگر از دوزهای بالاتری برای ایجاد این بیماری استفاده می‌شود. دو ساعت بعد از تزریق STZ هیپرگلیسمی به همراه تغییرات در مقدار انسولین رخ می‌دهد. تقریباً ۶ تا ۸ ساعت بعد از آن نشانه‌هایی از هیپرگلیسمی به همراه افزایش در مقدار انسولین خون دیده می‌شود. سرانجام در اثر کاهش مقدار انسولین خون، هیپرگلیسمی صورت می‌گیرد (۸۵). این تغییرات در مقدار قند خون و انسولین، ناهنجاری‌های ایجاد شده را در فعالیت سلول‌های بتا توجیه می‌کند.

در حال حاضر، استفاده از دوزهای پایین و چندگانه STZ در موش‌ها، برای ایجاد دیابت نوع ۱ عمومیت پیدا کرده است (۸۶). به طور معمول در این روش، مقدار ۴۰-۶۰ mg/kg.day به مدت چهار یا پنج روز متوالی استفاده می‌گردد (۸۷). این روش غالباً در موش‌ها کاربرد داشته و القاء دیابت ملیتوس وابسته به انسولین [IDDM (insulin dependent diabetes mellitus)] به واسطه فعالیت سیستم ایمنی انجام می‌شود. در صورت مهار اختصاصی فعالیت سیستم ایمنی، قبل از تزریق STZ، توانایی این ماده برای القا دیابت کاهش پیدا می‌کند (۸۸). به طور گسترده، استفاده از این روش در موش‌های C57BL/6

موش‌های صحرایی اندازه‌گیری شد. حیواناتی که میزان گلوکز خون آنها بالاتر از ۲۰۰ mg/dl بود به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. نتیجه این مطالعه ارایه‌دهنده یک گزارش جامع از تأثیر T1D ناشی از STZ بر ترکیب میکروبیوتای روده، تنوع و تولید متابولیت تخمیر میکروبی در طول زمان بود. همچنین تغییرات مشاهده شده در میکروبیوتای روده موش‌های صحرایی T1D، فقط ناشی از توسعه بیماری است و هیچ نقشی در ایجاد دیابت ندارد. طبق نتایج به‌دست آمده، یک هفته بعد از تزریق STZ، با توجه به سطح بالای گلوکز خون (۱۰/۳ ± ۵۷۲/۶ mg/dl)، دیابت شدیدی در حیوانات مورد مطالعه مشاهده گردید. در حالی که سطح نرمال گلوکز در رت‌ها حدود ۱۰۴/۲ ± ۲/۱ mg/dl گزارش شده است. افزایش شدید در سطح گلوکز خون در طول دوره مطالعه ثابت باقی ماند. در رت‌های دیابتی پراداری، پرنوشی، پرخوری و مدفوع زیاد و در مقایسه با گروه کنترل کاهش وزن قابل توجهی مشاهده گردید (۹۵).

ظرفیت دیابت‌زنی STZ در حیوانات و حتی نژادهای مختلف، متفاوت است. بنابراین یک مطالعه برای مقایسه تأثیر تک دوز STZ بر موش‌های صحرایی نژاد nude(NR) و Sprague-Dawley(SD) صورت گرفت. هدف از این مطالعه بررسی تفاوت‌های مربوط به نژادها در پاسخ به خاصیت دیابت‌زنی STZ بود. به همین جهت مقدار ۱۵۰ mg/kg STZ به داخل صفاق یک گروه هشت تایی موش‌های صحرایی SD و یک گروه بیست تایی موش‌های صحرایی NR تزریق گردید. شدت القا دیابت در طول مطالعه با استفاده از اندازه‌گیری روزانه وزن، نشانه‌های بالینی و سطح گلوکز خون بررسی شد. به‌طور میانگین در موش‌های صحرایی نژاد NR پنج روز بعد از تزریق STZ تعداد چهار موش صحرایی جان خود را از دست دادند در حالیکه تنها بعد از دو روز از تزریق STZ، همین تعداد از موش‌های صحرایی نژاد SD مردند. نتایج نشان داد که سطح گلوکز سرم تنها در ۳۵٪ از موش‌های صحرایی NR افزایش پیدا کرد در حالیکه در موش‌های صحرایی SD افزایش زیادی در سطح گلوکز خون مشاهده شد. بنابراین رت‌های SD به درمان با انسولین نیاز پیدا کردند. بنابراین نژاد SD در مقایسه با نژاد NR، آمادگی بیشتری برای القا دیابت با STZ (مقدار ۱۵۰ mg/kg) دارند (۹۶).

در مطالعه دیگری با تزریق ۲۰ mg/kg.day STZ به مدت سه روز، القا دیابت را در موش‌های صحرایی نژاد ویستار همراه با آسیب برگشت‌پذیر به پانکراس مشاهده نمودند. این مدل به‌طور بهتری، دیابت انسانی را که در آن سلول‌های بتا هنوز درجه‌ای از عملکرد دارند، شبیه‌سازی می‌کند. استفاده از این مدل می‌تواند هنگام قرار گرفتن دیابت در فاز بهبود، برای مطالعات مربوط به بازیابی عملکرد سلول‌های بتا پانکراس مناسب باشد. به‌طور معمول موش‌های صحرایی نژاد

پایین چندگانه [multi low dose streptozotocin (MLDS)] گردید (۹۰). همچنین یک مطالعه نشان داد که پنج روز بعد از تزریق آخرین دوز STZ (۵۰ mg/kg/day) افزایش در بیان سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1A، IL-1B، IL-2، IL-6، TNF-α و IFN-γ در خون و همچنین نفوذ لنفوسیت‌های CD3 به جزایر پانکراسی صورت گرفت. به علاوه افزایش اندک، اما چشمگیر مقدار گلوکز خون در روز بیست و پنجم بعد از آخرین تزریق مشاهده گردید (۹۱).

حلال STZ در مطالعات مربوط به القا دیابت، بافر سیترات است زیرا در STZ در PH اسیدی از پایداری بیشتری برخوردار است. با این وجود در صورت استفاده از STZ بلافاصله بعد از حل کردن آن، می‌توان از نرمال سالین به‌عنوان حلال استفاده کرد (۷۰). نکته دیگر حساسیت کمتر موش‌های ماده نسبت به موش‌های نر در برابر STZ است به همین دلیل بیشتر مطالعات مربوط به این مدل در جمعیت موش‌های نر انجام می‌گردد (۸۹).

روش دیگر القا دیابت در موش‌ها، استفاده از تک دوز STZ است. در این روش از مقدار متوسط تا بالای STZ (۱۰۰-۲۵۰ mg/kg) استفاده می‌شود (۸۷). برای نمونه در یک مطالعه تک دوز بالای این ماده (۲۰۰ mg/kg) به‌طور مستقیم، موجب مرگ سلول‌های بتا گردید و در مدت زمان ۴۸ ساعت، دیابت با سطح گلوکز خون بالاتر از ۵۰۰ mg/dl ایجاد شد (۹۲). برخی از موش‌ها بعد از دریافت دوز بالای STZ به دلیل نکرور سلول‌های بتا و در نتیجه آزاد شدن میزان زیاد انسولین و نهایتاً ایجاد هیپوگلیسمی شدید و کشنده، سریعاً (تا ۲۴ ساعت) جان خود را از دست دادند. در این حالت اگر تعداد موش‌های مرده بیشتر از ۲۰ درصد باشد از تزریق داخل صفاقی ۱ میلی‌لیتر محلول ۵٪ گلوکز، به جای نوشیدن آب ساکارز ۱۰٪ استفاده می‌گردد تا از هیپوگلیسمی کشنده جلوگیری شود (۹۳). سلول‌های بتا چندین گونه حیوانی شامل موش، موش صحرایی، میمون و به مقدار کمتر خرگوش به اثرات STZ حساس هستند. در حال حاضر برای القا دیابت در رت‌ها و موش‌ها، بیشتر از STZ استفاده می‌گردد.

۲-۱-۲-۴- القا دیابت نوع ۱ با STZ در موش صحرایی

به‌طور معمول از موش‌های صحرایی برای القا دیابت، با STZ استفاده می‌شود. همانند موش‌ها ایجاد این بیماری وابسته به مقدار STZ بوده و با دو روش تک دوز و چند دوز انجام می‌گیرد. یکی از روش‌های رایج استفاده از تک دوز STZ (بین ۴۰ تا ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در رت‌ها با سن ۸ تا ۱۰ هفته‌ای است (۹۴). بیشتر محققان برای القا این مدل از تک دوز ۶۵ mg/kg استفاده می‌کنند.

در مطالعه پاترسون و همکاران، تزریق داخل صفاقی STZ (mg/kg) ۶۰، باعث القا دیابت نوع ۱ در رت‌های Sprague-Dawley گردید. در پایان هر هفته سطح گلوکز در نمونه‌های خون وریدهای دمی

آلوکسان موادی هستند که بیشترین کاربرد را در مطالعات مربوط به دیابت دارند. تجزیه و تحلیل اطلاعات نشان می‌دهد که برای القا دیابت در مطالعات حیوانی ۳/۳۰٪ مطالعات از آلوکسان، ۹/۵۷٪ دیگر از STZ و بقیه موارد از گلوکز، فروکتوز و دستکاری‌های ژنی استفاده می‌شود. با این حال تزریق داخل صفاقی مقدار ۱۷۰ تا ۲۰۰ mg/kg آلوکسان بیشترین تأثیر را در القا دیابت دارد. اولین گزارش مبنی بر دیابت ژنی این ماده توسط Dunn و McLetchie منتشر گردید و آنها توانستند با آلوکسان دیابت را در خرگوش القا نمایند (۱۰۲). در این مدل دو پیامد پاتولوژیکی متفاوت دیده می‌شود. این پیامدها شامل القا دیابت در اثر مهار ترشح انسولین تحریک شده با گلوکز یا تشکیل رادیکال‌های آزاد (ROS) پیش‌برنده نکرز سلول‌های بتا هستند. ترشح انسولین با مهار آنزیم حساس به گلوکز (گلوکوکیناز) توسط آلوکسان است در حالی که اثر دوم به‌طور نسبی در ارتباط با سیکل اکسایش کاهش و تولید ROS است. این اثرات به‌طور ویژه در ارتباط با مشخصات شیمیایی آلوکسان و ساختار آن هستند.

۲-۱-۱-۶- مکانیسم عمل آلوکسان

آلوکسان از نظر ساختاری بسیار شبیه به گلوکز است. این ماده هیدروفیل برای سلول‌های بتا سمی است و تحت عنوان مونوهیدرات آلوکسان در محلول‌های آبی وجود دارد (۶۱). گلوکز یک مولکول آبدوست است به همین دلیل قادر به عبور از غشا لیپیدی دولایه و ورود به درون سلول نیست. بنابراین از طریق مکانیسم انتشار تسهیل شده، شامل یک پروتئین انتقالی واقع در غشا سلول، به نام انتقال‌دهنده گلوکز ۲ (glucose transporter 2) جا به جا می‌گردد. به سبب شباهت با گلوکز، آلوکسان نیز برای ورود به سلول، نیازمند انتقال از طریق GLUT2 است (۱۰۳). لازم به ذکر است که آلوکسان اثر مهاری بر عملکرد این انتقال‌دهنده نداشته (۱۰۴) و به‌صورت نامحدود وارد سلول می‌شود (۱۰۵). بنابراین این ماده بر سلول‌های ترشح‌کننده انسولین که این انتقال‌دهنده را بیان نمی‌کنند، تأثیر سمی ندارد (۱۰۶). مکانیسم جذب گلوکز در انسان و حیوانات متفاوت است و این موضوع دال بر این است که چرا آلوکسان، حتی در دوزهای بالا، برای نمونه‌های انسانی غیر سمی است (۱۰۷).

گلوکوکیناز دارای دو گروه تیول (-SH) است که آن را مستعد اکسیداسیون با آلوکسان می‌نماید (۱۰۸). این حادثه در همان ابتدای قرار گرفتن آنزیم در معرض آلوکسان اتفاق افتاده و چند دقیقه بعد از تزریق این ماده باعث مهار ترشح انسولین، می‌شود (۱۰۹). آلوکسان می‌تواند فعالیت چندین آنزیم دیگر دارای گروه تیول را مثل فسفوفروکتوکیناز (۱۱۰)، اکونیتاز (۱۰۸)، هگزوکیناز (۱۲۴) و پروتئین کیناز وابسته به کالمودولین/کلسیم (۱۱۱) مهار کند. با این وجود

ویستار و Sprague Dawley، با تزریق تک دوز STZ (۴۰ mg/kg) -۶۰ برای القا دیابت مورد استفاده قرار گرفتند (۹۷ و ۹۸). با این وجود در این مدل‌های حیوانی، القا دیابت با تک دوز بالاتر STZ آسیب‌های غیرقابل برگشتی را به پانکراس ایجاد می‌کند. مطالعات بافتی وجود التهاب انسولینی همراه با نابودی قابل توجه شماری از سلول‌های بتا و همچنین نفوذ سلول‌های التهابی را در مقایسه با گروه‌های درمان نشده با STZ نشان داد (۹۹).

۵-۲-۱-۲- القا دیابت نوع ۱ با آلوکسان

از آلوکسان به‌طور گسترده برای القا دیابت در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌گردد. این ماده با فعال کردن پراکسیداسیون لیپیدها باعث مرگ سلول‌های بتا شده و در نتیجه دیابت نوع ۱ را القا می‌کند. گزارش‌ها حاکی از آن است که هیپرگلیسمی ایجاد شده در اثر مصرف آلوکسان و کاهش انسولین و افزایش گلوکاگون است. آلوکسان علی‌رغم از بین بردن سلول‌های بتا موجب تحریک سلول‌های آلفا جزایر شده و در نتیجه از این طریق نیز هیپرگلیسمی را القا می‌کند (۱۰۰).

اگرچه مدت زیادی است که از آلوکسان و STZ برای القا دیابت در حیوانات استفاده می‌شود ولی در جاهایی دیگر این مواد نادیده گرفته می‌شوند. برای نمونه، کاملاً آشکار است که این داروها باعث کاهش انسولین می‌گردند اما کمتر مطالعه‌ای وجود دارد که با استفاده از این مواد، نمونه‌های انسانی دیابت (جوانی و بزرگسالی) به‌طور کامل شبیه‌سازی گردند. علاوه بر این به نظر می‌رسد که حیوانات زیادی وجود دارند که در برابر اثر این داروها مقاوم بوده و یا تنها در بخش کوچکی از جمعیت درمان شده دیابت تکامل پیدا کرده است (۱۰۱).

آلوکسان به‌عنوان یک عامل ایجاد هیپرگلیسمی شناخته می‌شود ولی در ۴۸ ساعت اولیه بعد از تزریق آن یک هیپوگلیسمی آشکار مشاهده می‌گردد که احتمالاً نتیجه آزاد شدن انسولین سلول‌های بتا آسیب دیده می‌باشد. به همین دلیل لازم است که میزان قند خون در این بازه زمانی اندازه‌گیری و اجازه دسترسی نامحدود حیوانات به مایعات خوش طعم و غنی از شکر در هفته اول بعد از تزریق داده شود. ارزان بودن و دسترس بودن آلوکسان نسبت به STZ باعث شده تا این ماده به میزان بیشتری مورد استفاده قرار بگیرد (۶۲). آلوکسان با نام شیمیایی ۵،۵ دی‌هیدروکسیل پیرامیدین-۲، ۴، ۶-تریون (5,5-dihydroxyl pyrimidine-2,4,6-trione) یک ترکیب آلی و مشتق از اوره، کاربونیون و مشابه با گلوکز است (۶۱). فرمول مولکولی آن C4H2N2O4 و جرم آن ۱۴۲/۰۶ می‌باشد.

به‌طور کلی عوامل دیابت‌ژنی دیگری نیز وجود دارند که می‌توان به دیتیزون (dithizone)، مونوسدیم گلوتامات (monosodium glutamate)، تیوگلوکز طلا (gold thioglucose)، استرس‌های بالای فروکتوز و گلوکز و سرم‌های ضد انسولین اشاره کرد. ولی STZ و

تیموس موش‌ها نیز به مقدار ۴ تا ۵ برابر کمتر از بیان آن در پانکراس است. این میزان از بیان در تیموس به اندازه‌ای نیست که روی سطح این هورمون در جریان خون تأثیر داشته باشد (۱۲۰). در حال حاضر شواهدی وجود دارند که سلول‌های تیموس با تولید پپتیدهایی مثل تیمولین می‌توانند پاسخ‌های التهابی را تعدیل کرده و در آینده داروهای ضدالتهابی مؤثر باشند (۱۲۱). گفته می‌شود شکست‌های اولیه یا اکتسابی در تحمل ایمنی مرکزی نسبت به سلول‌های بتا نقش اولیه‌ای در پاتوژنز دیابت نوع ۱ دارند. این اطلاعات باعث ایجاد رویکردهای تنظیم‌کننده برای بازیابی تحمل ایمنی مرکزی نسبت به سلول‌های بتا گردیده است (۱۲۲). در نهایت حدود ۱۵٪ از حیوانات دو تا پنج ماه بعد از تزریق آلوکسان به دیابت مبتلا شدند. بنابراین اینگونه نشان داده شد که این شرایط ریسک ابتلا به دیابت نوع ۱ را در موش‌ها بالا می‌برد. در طرف دیگر تزریق دو دوز ۲۵۰ mg/kg و ۳۰۰ mg/kg آلوکسان، در فاصله یازده روز، باعث القاء دیابت پیشرفته در موش‌ها گردید. تجزیه و تحلیل‌های انجام شده، ۱۰ روز پس از دومین تزریق آلوکسان، همواره سطح گلوکز را بالاتر از ۱۸ mmol/l نشان داد. در این حالت موش‌ها با قطعیت به‌عنوان نمونه‌های دیابتی شناخته می‌شوند (۱۲۳).

پژوهش ویدیاستوتی و همکاران نشان داد که عدم دسترسی به غذا ۶ تا ۸ ساعت قبل از تزریق آلوکسان باعث بهبود القاء دیابت در موش‌ها می‌گردد (۱۲۴). آنها آلوکسان (۱۶۰ mg/kg) را به‌صورت محلول در ۰/۳ میلی‌لیتر آب، به روش زیرجلدی و به پشت گردن موش‌ها تزریق نمودند و در نهایت موش‌هایی را که سطح گلوکز ناشتا بالاتر از ۲۰۰ mg/dl بود به‌عنوان گروه دیابتی در نظر گرفتند. موضوع دیگر کاهش وزن موش‌ها در نتیجه تزریق آلوکسان بود. این موضوع نشان داد که آلوکسان باعث تخریب ساختار پانکراس شده و در نتیجه میزان ترشح انسولین و متابولیسم در بدن مختل می‌گردد (۱۲۴).

در روش‌های القاء دیابت با استفاده از آلوکسان، ۱۲ ساعت قبل از درمان با این ماده، موش‌ها به هیچ منبع غذایی دسترسی ندارند. آلوکسان در نرمال سالین (PH=۷/۴) و به داخل صفاق موش‌ها تزریق می‌گردد. بعد از ۲۴ ساعت، برای جلوگیری از هیپوگلیسمی در اثر آزاد شدن مقدار زیاد انسولین (در نتیجه تخریب سلول‌های بتا)، محلول گلوکز ۵٪ به موش‌ها داده شد (۱۲۵).

۸-۲-۱-۲- القاء دیابت نوع ۱ با آلوکسان در موش صحرائی

در برخی از مطالعات برای القاء دیابت در حیوانات آزمایشگاهی مثل موش‌های صحرائی از چندین بار تزریق آلوکسان به طور متوالی استفاده می‌گردد. در مطالعه شی و همکاران (۲۰۱۶) با استفاده از محلول آلوکسان مدل‌های آزمایشگاهی دیابت نوع ۱ ایجاد شد (۱۲۶).

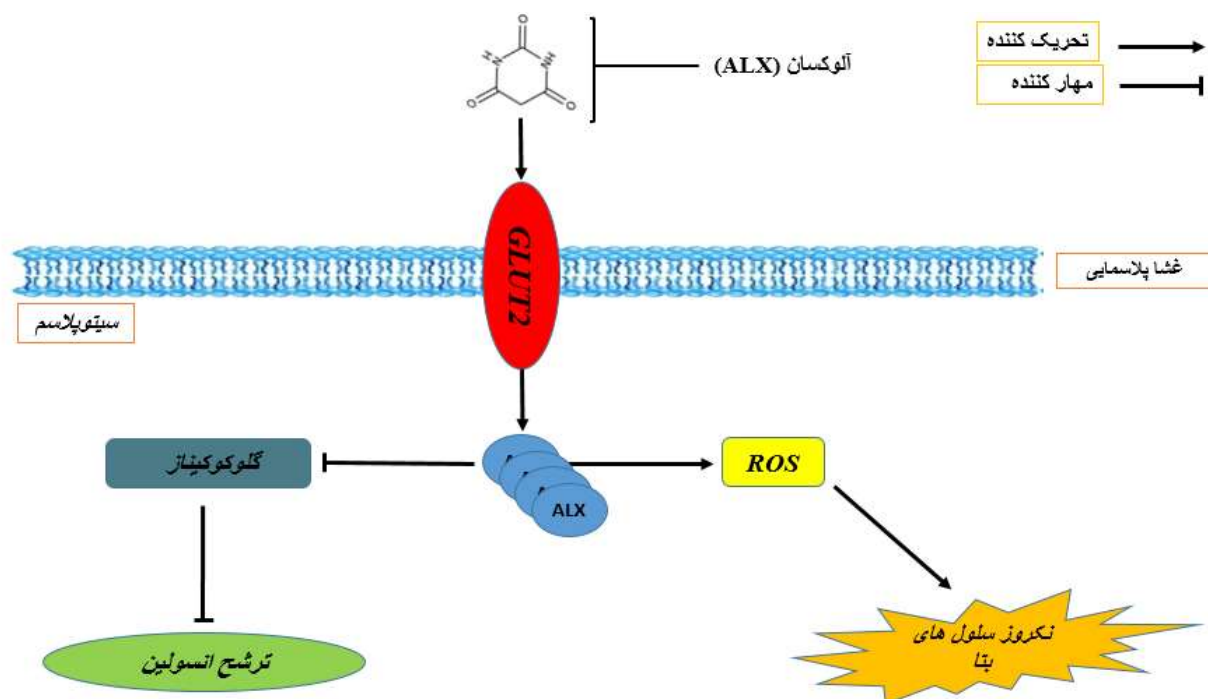
گلوکوکیناز آماده‌ترین آنزیم تیولی در برابر سمیت آلوکسان، درون سلول‌های بتا است (۱۱۲ و ۱۱۳).

آلوکسان با مهار گلوکوکیناز از اکسیداسیون گلوکز و در نتیجه تولید ATP جلوگیری می‌نماید و در اثر کمبود ATP سیگنال‌های لازم برای ترشح انسولین، سرکوب می‌گردد (۱۱۴). ممکن است آلوکسان از طریق یک مکانیسم مشابه، بیوستنز انسولین را نیز مهار کند (۱۱۵). بنابراین آلوکسان دارای دو اثر پاتولوژیکی متفاوت است: یکی از اثرات آن به‌طور انتخابی سبب مهار ترشح انسولین از طریق مهار اختصاصی گلوکوکیناز می‌باشد. گلوکوکیناز یک سنسور مربوط به گلوکز در سلول‌های بتا است. تأثیر دیگر آلوکسان از طریق تشکیل ROS و متعاقب آن نکرور سلول‌های بتا می‌باشد (شکل ۲). این تأثیرات به ویژگی‌های شیمیایی آلوکسان، که به‌طور اختصاصی موجب جذب و انباشتگی این ماده در سلول‌های بتا می‌گردد، نسبت داده می‌شود. آلوکسان یک ترکیب شیمیایی بسیار ناپایدار بوده (۱۱۶) و از نظر شکل مولکولی شبیه به گلوکز است (۱۰۳).

۷-۲-۱-۲- القاء دیابت نوع ۱ با آلوکسان در موش

برای القاء دیابت در موش از مقادیر مختلف آلوکسان استفاده می‌گردد. به‌طور معمول دامنه این تغییرات بین ۵۰ تا ۲۰۰ mg/kg متفاوت است. در مطالعه اوزاکی و همکاران، تزریق داخل وریدی ۷۵ mg/kg آلوکسان به موش‌ها، هیپرگلیسمی (>300 mg/dl) و گلوکوزاوری (>500 mg/dl) شدید به مدت ۳۵ هفته مشاهده گردید و بین هفته‌های ۲۶ تا ۴۱ هیچ تغییر وزنی در آنها دیده نشد.

در پژوهش دیگری، تزریق تک دوز ۲۵۰ mg/kg آلوکسان باعث ایجاد یک فاز پیش دیابت و تزریق دو مرحله متوالی ۲۵۰ mg/kg و ۳۰۰ mg/kg آلوکسان با فاصله زمانی یازده روز دیابت پیشرفته القاء گردید. وضعیت ایمنی حیوانات پیش دیابتی بعد از یازده روز، یعنی هنگام پایین‌تر بودن سطح گلوکز از نمونه‌های دیابتی، مورد بررسی قرار گرفت. التهاب مزمن که شاخصه دیابت نوع یک است، در نتیجه آزاد شدن میانجی‌های التهابی به‌ویژه IL-1 β و TNF- α اتفاق می‌افتد. این فاکتورها مقاومت سیستماتیک نسبت به انسولین و آسیب سلول‌های بتا را پیش می‌برند. علاوه بر استرس اکسیداتیو، سرکوب عملکرد تیموس نیز باعث ایجاد التهاب مزمن می‌گردد. در دوره جنینی، تیموس نقش مهمی را در ایجاد تحمل ایمنی مرکزی نسبت به خانواده پروتئین‌های نورواندوکراین، شامل سلول‌های ترشح‌کننده انسولین در جزایر پانکراسی ایفا می‌کند. در حقیقت، چندین ژن نورواندوکرینی در سلول‌های اپیتلیالی تیموس انسان و حیوانات رونویسی می‌شوند (۱۱۷). گزارشاتی مبنی بر بیان کم preproinsulin (ppIns) در تیموس نوزادان و جنین انسان وجود دارد (۱۱۸ و ۱۱۹). بیان این ژن در



شکل ۲- آلوکسان به دو طریق باعث القاء دیابت نوع ۱ می‌گردد. در یک مسیر با مهار گلوکوکیناز از تولید و ترشح انسولین جلوگیری می‌کند. در مسیر دوم با تشکیل رادیکال‌های آزاد موجب مرگ‌های بتا می‌شود و در نتیجه دیابت نوع ۱ را القاء می‌کند.

موش‌های صحرایی دیابتی نشان‌دهنده تغییرات نکروتیک شدید بود. پس از ۲۶ هفته، مقاطع پانکراسی به‌دست آمده افزایش اسیدوفیلی، نفوذ سلول‌ها به دیواره بین لبولی، خونریزی، ورود فیبروبلاست‌ها به برخی از لبول‌های پانکراسی و درهم گسیختگی آسینی‌های پانکراسی را نشان داد. همچنین مقاطع پانکراسی رنگ شده با روش گوموری تغییر یافته، تغییرات هسته، کاربولیز، ناپدید شدن هسته و تقلیل محتویات هسته را در سلول‌های بتا نمایش دادند (۱۲۷).

در پژوهش دیگری القا دیابت نوع ۱ با روش تزریق چندگانه داخل صفاق آلوکسان (۷۵ mg/kg) در بافر سیترات (۵۰ mM و pH=۳)، در پنج روز متوالی انجام شد. همان‌طور که انتظار می‌رفت مارک‌های متابولیسم بی‌هوازی مانند لاکتات پلاسما، در موش‌های صحرایی افزایش پیدا کرد. از سوی دیگر آلوکسان، سطح انسولین را به میزان چشمگیری کاهش داد که نشان‌دهنده القاء دیابت در این گروه از حیوانات بود (۱۲۸). در ادامه در جدول ۲ نمونه‌هایی از مقادیر به‌کار رفته آلوکسان و STZ در مطالعات مختلف آورده شده است.

موش‌های صحرایی در دو نوبت و با فاصله ۲۴ ساعت، تحت تزریق داخل صفاقی ۱۰۰ mg/kg آلوکسان قرار گرفتند. بعد از نوبت دوم تزریق، مقدار قند خون (بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی) اندازه‌گیری و قند خون بالاتر از ۱۶/۷ mmol/lit به‌عنوان مدل دیابتی در نظر گرفته شدند. در گروه دیگر از موش‌های صحرایی تک دوز آلوکسان (mg/kg ۲۰۰) تزریق گردید. القاء دیابت در ۴۴٪ از موش‌های صحرایی صورت گرفت و مقدار مرگ‌ومیر در این گروه ۲۴٪ بود. در طرف مقابل گروهی که تزریق آلوکسان در دو مرحله و به مقدار mg/kg ۱۰۰ انجام شد نتایج بهتری را به همراه داشت. در این گروه درصد القاء دیابت تقریباً ۶۴٪ و میزان مرگ و میر حیوانات ۱۲٪ بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که القا دیابت با استفاده از روش چند دوز می‌تواند اثر القایی بیشتر و تلفات کمتری داشته باشد (۱۲۶).

روش تزریق چند دوز آلوکسان در حیوانات دیگر مثل خرگوش نیز به‌کار رفته است. نمونه‌ای از این تحقیقات با تزریق چهارگانه آلوکسان به میزان mg/kg ۸۰، در فواصل یک هفته‌ای و به روش داخل صفاقی بر خرگوش‌های سفید نیوزیلندی انجام گردید. حدود ۷ هفته بعد، مقاطع پانکراسی رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین در

جدول ۲- مقادیر مورد استفاده آلکوسان و STZ در چند مطالعه مختلف (MLD*: multiple low dose)

مدل	مدل حیوانی	زمان ناشتا	نحوه استفاده	روش معمول تزریق	دوزهای مورد استفاده (mg/kg)
آلکوسان	موش	۱۲-۲۴ ساعت	داخل صفاقی	داخل وریدی	۶۰-۷۵-۸۰-۱۰۰
				داخل صفاقی	۹/۱۸۶-۲۰۰-۳۰۰-۵۰۰
				زیر جلدی	۱۰۰-۱۵۰-۱۶۰-۲۰۰-۴۱۰
آلکوسان	موش صحرایی	۱۲-۲۴ ساعت	داخل صفاقی	داخل وریدی	۴۰-۵۰-۶۵
				داخل صفاقی	۷۵-۱۰۰-۱۵۰
				زیر جلدی	۳۰-۱۱۰-۱۳۵-۱۷۰
STZ	موش	۱۲-۲۴ ساعت	داخل صفاقی	داخل وریدی	۳۰-۱۲۰-۱۴۰-۱۵۰-۱۸۰-۲۰۰
				داخل صفاقی	MLD:۵۰*
				زیر جلدی	۶۰-۷۰-۱۲۰-۲۰۰
STZ	موش صحرایی	۱۲-۲۴ ساعت	داخل صفاقی	داخل وریدی	۲۰-۴۰-۵۰-۶۰-۶۵-۷۵
				داخل صفاقی	MLD:۵۵
				زیر جلدی	۷۰-۲۰۰
STZ	موش صحرایی	۱۲-۲۴ ساعت	داخل صفاقی	داخل وریدی	۲۰-۴۰-۵۰-۶۰-۶۵-۸۰
				داخل صفاقی	۳۵-۵۰-۵۵-۶۰-۶۵-۸۰
				زیر جلدی	۵۵-۶۰-۷۰-۱۰۰

۱-۳-۱- مزایای مدل دیابت Zebrafish

Zebrafish به‌عنوان یک مدل محبوبیت زیادی را در مطالعه دیابت و شماری از بیماری‌های متابولیکی دیگر به‌دست آورده است (۱۳۲). در مقایسه با نمونه‌های دیگر مزایای زیادی دارد. اولین مزیت وجود جنین‌های شفاف آنها که اجازه تصویربرداری از ارگان‌ها و فرآیندهای فیزیولوژیکی در شرایط *in vivo* فراهم می‌کند (۱۳۳ و ۱۳۴). دوم اینکه می‌توان با استفاده از روش‌های ژنتیکی، مانند سیستم CRISPR/Cas9 و تکنولوژی *amorpholino* تغییرات ژنتیکی را در این جانداران ایجاد نمود (۱۳۵). همچنین متابولیسم گلوکز در نمونه‌های بالغ این حیوانات و تکامل این فرآیند در جنین‌های Zebrafish بسیار شبیه به نمونه‌های انسانی و سایر پستانداران دیگر است (۱۳۶).

در Zebrafish تغییرات حاصل از هیپرگلیسمی در ارگان‌ها سریع‌تر از جوندگان اتفاق می‌افتد. بنابراین در مطالعات این نمونه‌ها نسبت به موش‌ها و موش صحرایی، زمان کمتری برای آنالیز این تغییرات لازم است. این تغییرات در موش‌های صحرایی ممکن است تا هفته‌ها طول بکشد ولی در Zebrafish تنها دور روز زمان می‌برد (۱۳۴). شش روز پس از لقاح، پانکراس در لاروهای این گونه شکل و موقعیت نهایی خود را به‌دست آورده و دارای سر، گردن و دم مشخص می‌باشد. جزایر توسط بافت برون ریز پانکراس محاصره شده و در بخش بزرگ قدامی قرار می‌گیرد. گردن کوچک و دم بزرگ پانکراس شامل بخش برون ریز می‌باشند. به همین دلیل بسیاری از پژوهشگران از Zebrafish به‌عنوان مدل برای مطالعه مکانیسم مولکولی تکامل پانکراس و بیماری‌های پانکراسی استفاده می‌کنند (۱۳۷).

۱-۳-۲- القاء دیابت نوع ۱ در Zebrafish

اخیراً Zebrafish به‌عنوان یک مدل دیگر، برای شبیه‌سازی دیابت انسانی، مورد استقبال پژوهشگران قرار گرفته است. Zebrafish (Danio rerio) یک ماهی از خانواده cyprinidهای آب شیرین است که دارای مزایای خاصی از جمله اندازه کوچک، نوزادهای زیاد، نگهداری آسان در آزمایشگاه و سازگاری برای غربالگری شیمیایی و ژنتیکی می‌باشد (۱۲۹). چندین پروتکل مشخص برای تغییر سطح گلوکز در Zebrafishهای جنین و بالغ وجود دارد. ساده‌ترین روش برای افزایش سطح گلوکز خون و بافتی این حیوانات استفاده از محیط‌هایی با غلظت بالای گلوکز است. در این روش قرار گرفتن حیوانات در یک محیط با سطح گلوکز بالا (گلوکز بیش از ۴ درصد= بالاتر از ۲۰۰ mMol/L)، بعد از مدت دوماه منجر به هیپرگلیسمی می‌شود (۱۳۰).

با این وجود فقط مدل‌هایی که موجب اختلال کامل در تولید انسولین می‌شوند، دیابت نوع ۱ را القاء می‌کنند. از این رو برای رسیدن به خصوصیات متابولیکی بیماران دیابت و مدل‌سازی آنها گاهی ممکن است به روش‌های دیگری برای القای هیپرگلیسمی نیاز باشد. به‌عنوان نمونه بعد از تزریق داخل صفاقی STZ به Zebrafishهای بالغ، سطح گلوکز ناشتا افزایش و میزان انسولین کاهش پیدا می‌کند (۱۳۱). Zebrafishها یکی از مدل‌های القا دیابت هستند که در آینده نزدیک به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این نمونه‌ها چندین مسیر فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی مشترک با انسان و دیگر پستانداران مشخص شده است. در تحقیقات Zebrafish امکان دریافت تصویرهای ویژه و انجام سریع رویکردهای ژنتیکی و دارویی وجود دارد.

تعیین‌کننده اصلی در انتخاب مدل موردنظر این است که آیا الگوی خودایمنی این بیماری موردنیاز است یا خیر. از طرف دیگر در مدل‌های مختلف زمان شروع بیماری کاملاً متفاوت است و باید در هنگام انجام مطالعه مورد توجه واقع گردد.

یک موضوع مهم دیگر در انتخاب مدل مناسب این است که گونه‌ها و نژادهای مختلف دارای آمادگی متفاوتی در القا و درمان دیابت هستند. بنابراین در حالت ایده‌آل باید از بیش از یک گونه یا نژاد استفاده شود. علاوه بر اختلاف نژادی، تفاوت جنسیت نیز در انتخاب مدل مناسب مؤثر است. در برخی از مدل‌های ذکر شده در این مطالعه جنسیت نقش مهمی را در آمادگی برای القا دیابت ایفا می‌کند که البته در انسان این پارامتر تأثیر کم‌رنگ‌تری در ابتلا به این بیماری دارد.

مدل‌ها از نظر رابطه فیزیولوژیکی نیز با یکدیگر متفاوت هستند. برخی از آنها از نظر پیشرفت بیماری نسبت به بقیه شباهت بیشتری به مدل انسانی دارند. در برخی از این مدل‌ها بازسازی پانکراس بسیار شدید است و هنوز مشخص نیست که آیا مکانیسم گسترش سلول‌های بتا در این مدل‌ها می‌تواند مؤثر باشد یا خیر. به هر حال در انتخاب مدل حیوانی دیابت نوع ۱ مطلوب است که از مدل‌های مختلفی استفاده گردد تا در نهایت تنوع دیده شده در نمونه‌های انسانی نمایش داده شود.

برای القاء دیابت نوع ۱ و ۲ می‌توان از STZ و آلوکسان استفاده کرد. البته این مواد بیشتر موجب القای دیابت نوع ۱ می‌شوند زیرا نمی‌توانند به‌طور مستقل و مستقیم باعث مقاومت انسولینی (دیابت نوع ۲) گردند. مدل‌های دیگری مانند مدل STZ-نیکوتین آمید، STZ-رژیم غذایی چرب و STZ-فروکتوز معرفی شده است. علاوه بر این از آلوکسان و STZ برای القاء دیابت حاملگی نیز استفاده می‌شود. در بررسی حاضر مطالعات زیادی در رابطه با مدل‌های خودبخودی و شیمیایی دیابت نوع ۱ ارائه گردید. هرکدام از مدل‌های القاء دیابت، دارای مزایا و معایبی هستند و هنوز تا رسیدن به حالت ایده‌آل فاصله دارند از این رو مطالعات زیادی لازم است تا بتوان با استفاده از آن به مدل‌های مطلوب این بیماری دست پیدا کرد. مدل‌های شیمیایی القایی با استفاده از چند دوز STZ می‌توانند به‌عنوان شبیه‌ترین مدل به دیابت نوع ۱ انسانی عمل نمایند. این مدل از جهت تحریک سیستم ایمنی و نفوذ سلول‌های دفاعی به جزایر پانکراسی بسیار شبیه بیماری در انسان است. علاوه بر این در این مدل مرگ و میر نمونه‌های مورد مطالعه نسبت به روش‌های شیمیایی دیگر به‌طور چشمگیری کاهش پیدا می‌کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه اعلام می‌نمایند.

در یک مطالعه STZ سه بار در روزهای متوالی به داخل حفره پریکارد لاروهای Zebrafish تزریق گردید. دو روز بعد از آخرین دوره تزریق سطح گلوکز در بافت‌ها به‌طور چشمگیری افزایش پیدا کرده و سیگنال‌های فلئورسنت در ایمنوهِستوشیمی نشان داد که بیان انسولین در مقایسه با گروه کنترل ضعیف‌تر می‌باشد (۱۳۸). همانطور که قبلاً ذکر شد STZ و آلوکسان دارای مشخصات شیمیایی مشابه با گلوکز هستند و به‌طور معمول برای القای دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرند. به‌دلیل ناپایداری این مواد در محلول‌های آبی، آنها به‌صورت تزریقی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۱۶).

بحث

امروزه مطالعات آزمایشگاهی دیابت در انسان با مشکلات و موانع اخلاقی مواجه است و مدل‌های برون تن موجود دارای محدودیت و فاقد کارایی هستند. از این رو مدل‌های حیوانی متعددی برای شبیه‌سازی شرایط پاتولوژیکی این بیماری و آزمودن روش‌های درمانی جدید مورد توجه قرار گرفته‌اند. از طرف دیگر این دیدگاه وجود دارد که افزایش شیوع این بیماری در جهان باعث شده تا مدل‌های حیوانی موجود نقش مهمی را در کاهش پاتوژن و عوارض این بیماری مثل نوروپاتی و رتیнопاتی داشته باشند. همه مدل‌های حیوانی چونندگان اعم از موش صحرایی و موش، دارای مزایا و محدودیت‌هایی هستند. بنابراین لازم است که طراحی مدل‌های پیشرفته‌تر و مناسب‌تر این بیماری مورد توجه قرار بگیرد تا با استفاده از آن امکان تشخیص مکانیسم اساسی یا مداخلات مؤثر درمانی فراهم گردد. بهترین مدل دیابت باید دارای یک سری ویژگی‌های خاص باشد. از این ویژگی‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

پاتوژن کامل و جزئی دیابت انسانی را نشان دهد.

نسبت به داروهای آنتی‌دیابتی حساس باشد.

برای غربالگری داروهای معمول ضد دیابت مناسب باشد.

آزمایشات مربوط به دیابت، سابقه طولانی و همچنین پیشرفت مداوم و متنوعی داشته است. اگرچه تنوع مدل‌های حیوانی ایجاد شده در پنجاه سال اخیر بسیار بالا بوده، اما مشخص شدن طبقه‌بندی و سودمندی آنها به دنبال فهم پاتوژن دیابت، ضایعات مربوطه و عوارض بعدی ثبت شده در این بیماری است. بنابراین هرکدام از مدل‌های موجود می‌توانند برای مطالعه جنبه‌ای از بیماری یا بررسی تأثیر یک روش درمانی بر آن، مورد استفاده قرار گیرند.

معیارهای انتخاب مدل مناسب برای دیابت در مطالعات مربوط به این بیماری، به اهداف موردنظر محقق از انجام مطالعه بستگی دارد. به‌عنوان مثال در یک مطالعه در رابطه با آزمایش اثرات یک دارو، مکانیسم احتمالی داروی مورد نظر در انتخاب مدل حیوانی مناسب نقش بسیار مهمی را برعهده دارد. در مطالعات مربوط به دیابت نوع ۱

References

1. Consultation W. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part; 1999.
2. Wondafrash DZ, Desalegn TZ, Yimer EM, Tsige AG, Adamu BA, Zewdie KA. Potential effect of hydroxychloroquine in diabetes mellitus: a systematic review on preclinical and clinical trial studies. *Journal of Diabetes Research* 2020;2020. doi: 10.1155/2020/5214751
3. Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In vivo*. 2009;23:245-58.
4. Cefalu WT. Animal models of type 2 diabetes: clinical presentation and pathophysiological relevance to the human condition. *ILAR Journal* 2006;47:186-98. doi: 10.1093/ilar.47.3.186
5. Hyttinen V, Kaprio J, Kinnunen L, Koskenvuo M, Tuomilehto J. Genetic liability of type 1 diabetes and the onset age among 22,650 young Finnish twin pairs: a nationwide follow-up study. *Diabetes* 2003;52:1052-5. doi: 10.2337/diabetes.52.4.1052
6. King AJ. The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology* 2012;166:877-94. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x
7. Care D. Economic costs of diabetes in the US in 2012. 2013.
8. Khazaei M, Ansarian A, Ghanbari E. New findings on biological actions and clinical applications of royal jelly: a review. *Journal of Dietary Supplements* 2018;15:757-75. doi: 10.1080/19390211.2017.1363843
9. Kaplan JR, Wagner JD. Type 2 diabetes—an introduction to the development and use of animal models. *ILAR Journal* 2006;47:181-5. doi: 10.1093/ilar.47.3.181
10. Rees D, Alcolado J. Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 2005;22:359-70. doi: 10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x
11. Lukačinová A, Hubková B, Rác O, Ništiar F. Animal models for study of diabetes mellitus. *Diabetes Mellitus-Insights and Perspectives* 2013;229-54.
12. Acharjee S, Ghosh B, Al-Dhubiab BE, Nair AB. Understanding type 1 diabetes: etiology and models. *Canadian Journal of Diabetes* 2013;37:269-76. doi: 10.1016/j.cjcd.2013.05.001
13. Al-Awar A, Kupai K, Veszelka M, Szücs G, Attieh Z, Murlasits Z, et al. Experimental diabetes mellitus in different animal models. *Journal of Diabetes Research* 2016;2016. doi: 10.1155/2016/9051426
14. Yoon JW, Jun HS. Cellular and molecular pathogenic mechanisms of insulin-dependent diabetes mellitus. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2001;928:200-11. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb05650.x
15. Mathews CE. Utility of murine models for the study of spontaneous autoimmune type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes* 2005;6:165-77. doi: 10.1111/j.1399-543X.2005.00123.x
16. Atkinson MA, Leiter EH. The NOD mouse model of type 1 diabetes: as good as it gets? *Nature Medicine* 1999;5:601-4. doi: 10.1038/9442
17. Baxter AG, Duckworth RC. Models of type 1 (autoimmune) diabetes. *Drug Discovery Today: Disease Models* 2004;1:451-5. doi: 10.1016/j.ddmod.2004.11.012
18. Pearson JA, Wong FS, Wen L. The importance of the Non Obese Diabetic (NOD) mouse model in autoimmune diabetes. *Journal of Autoimmunity* 2016;66:76-88. doi: 10.1016/j.jaut.2015.08.019
19. Yang Y, Santamaria P. Lessons on autoimmune diabetes from animal models. *Clinical Science* 2006;110:627-39. doi: 10.1042/CS20050330
20. Singal D, Blajchman M. Histocompatibility (HL-A) antigens, lymphocytotoxic antibodies and tissue antibodies in patients with diabetes mellitus. *Diabetes* 1973;22:429-32. doi: 10.2337/diab.22.6.429
21. Nerup J, Platz P, Andersen OO, Christy M, Lyngsøe J, Poulsen J, et al. HL-A antigens and diabetes mellitus. *The Lancet* 1974;304:864-6. doi:10.1016/S0140-6736(74)91201-X
22. Noble JA, Erlich HA. Genetics of type 1 diabetes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2012;2:a007732. doi: 10.1101/cshperspect.a007732
23. von Herrath M, Filippi C, Coppieters K. How viral infections enhance or prevent type 1 diabetes—from mouse to man. *Journal of Medical Virology* 2011;83:1672-. doi: 10.1002/jmv.22063
24. Roep BO, Atkinson M, von Herrath M. Satisfaction (not) guaranteed: re-evaluating the use of animal models of type 1 diabetes. *Nature Reviews Immunology* 2004;4:989-97. doi: 10.1038/nri1502
25. Wicker LS, Chamberlain G, Hunter K, Rainbow D, Howlett S, Tiffen P, et al. Fine mapping, gene content, comparative sequencing, and expression analyses support *Cla4* and *Nramp1* as candidates for *Idd5.1* and *Idd5.2* in the nonobese diabetic mouse. *The Journal of Immunology* 2004;173:164-73. doi: 10.4049/jimmunol.173.1.164
26. Yang Y, Santamaria P. Dissecting autoimmune diabetes through genetic manipulation of non-obese diabetic mice. *Diabetologia* 2003;46:1447-64. doi: 10.1007/s00125-003-1218-1
27. King M, Pearson T, Rossini AA, Shultz LD, Greiner DL. Humanized mice for the study of type 1 diabetes and beta cell function. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2008;1150:46. doi: 10.1196/annals.1447.009
28. Kayo T, Koizumi A. Mapping of murine diabetogenic gene *mody* on chromosome 7 at D7Mit258 and its involvement in pancreatic islet and beta cell development during the perinatal period. *The Journal of Clinical Investigation* 1998;101:2112-8. doi: 10.1172/JCI1842.
29. Mathews CE, Langley SH, Leiter EH. New mouse model to study islet transplantation in insulin-dependent diabetes mellitus. *Transplantation* 2002;73:1333-6. doi:10.1097/00007890-200204270-00024
30. Yoshioka M, Kayo T, Ikeda T, Koizumi A. A novel locus, *Mody4*, distal to D7Mit189 on chromosome 7 determines early-onset NIDDM in nonobese C57BL/6 (Akita) mutant mice. *Diabetes* 1997;46:887-94. doi: 10.2337/diab.46.5.887
31. Hong E-G, Jung DY, Ko HJ, Zhang Z, Ma Z, Jun JY, et al. Nonobese, insulin-deficient *Ins2Akita* mice develop type 2 diabetes phenotypes including insulin resistance and cardiac remodeling. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2007;293:E1687-E96. doi: 10.1152/ajpendo.00256.2007
32. Hemmeryckx B, Gaekens M, Gallacher DJ, Lu HR, Lijnen HR. Effect of rosiglitazone on liver structure and function in genetically diabetic Akita mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2013;113:353-60. doi: 10.1111/bcpt.12104
33. Wang J, Takeuchi T, Tanaka S, Kubo S-K, Kayo T, Lu D, et al. A mutation in the insulin 2 gene induces diabetes with severe pancreatic β -cell dysfunction in the *Mody* mouse. *The Journal of Clinical Investigation* 1999;103:27-37. doi: 10.1172/JCI4431
34. Undi R, Lim H-Y, Wang W. Rapid and reliable identification of insulin 2 gene mutation in Akita diabetic mice by a tetra-primer-ARMS-PCR method. *Heliyon* 2019;5:e01112. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01112
35. Barber AJ, Antonetti DA, Kern TS, Reiter CE, Soans RS, Krady JK, et al. The *Ins2Akita* mouse as a model of early retinal complications in diabetes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2005;46:2210-8. doi: 10.1167/iov.04-1340
36. Gastinger MJ, Kunselman AR, Conboy EE, Bronson SK, Barber AJ. Dendrite remodeling and other abnormalities in the retinal ganglion cells of *Ins2Akita* diabetic mice. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2008;49:2635-42. doi: 10.1167/iov.07-0683

37. Luger D, Silver PB, Tang J, Cua D, Chen Z, Iwakura Y, et al. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: conditions of disease induction affect dominant effector category. *The Journal of Experimental Medicine* 2008;205:799-810. doi: 10.1084/jem.20071258
38. Marliiss EB, Nakhooda AF, Poussier P. Clinical forms and natural history of the diabetic syndrome and insulin and glucagon secretion in the BB rat. *Metabolism* 1983;32:11-7. doi: 10.1016/S0026-0495(83)80005-5
39. Rossini AA, Williams RM, Mordes JP, Appel MC, Like AA. Spontaneous diabetes in the gnotobiotic BB/W rat. *Diabetes* 1979;28:1031-2. doi: 10.2337/diab.28.11.1031
40. Lam-Tse W, Lernmark A, Drexhage H, editors. Animal models of endocrine/organ-specific autoimmune diseases: do they really help us to understand human autoimmunity? Springer Seminars in Immunopathology; 2002: Springer. doi.org/10.1007/s00281-002-0110-2
41. Bone A, Hitchcock P, Gwilliam D, Cunningham J, Barley J. Insulinitis and mechanisms of disease resistance: studies in an animal model of insulin dependent diabetes mellitus. *Journal of Molecular Medicine* 1999;77:57-61. doi: 10.1007/s001090050301
42. Mordes JP, Bortell R, Blankenhorn EP, Rossini AA, Greiner DL. Rat models of type 1 diabetes: genetics, environment, and autoimmunity. *Ilar Journal* 2004;45:278-91. doi: 10.1093/ilar.45.3.278
43. Pociot F, McDermott M. Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Genes & Immunity* 2002;3:235-49. doi: 10.1038/sj.gene.6363875
44. Lenzen S, Tiedge M, Elsner M, Lortz S, Weiss H, Jörns A, et al. The LEW. 1AR1/Ztm-iddm rat: a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 2001;44:1189-96. doi:10.1007/s001250100625
45. Jörns A, Günther A, Hedrich H-J, Wedekind D, Tiedge M, Lenzen S. Immune cell infiltration, cytokine expression, and β -cell apoptosis during the development of type 1 diabetes in the spontaneously diabetic LEW. 1AR1/Ztm-iddm rat. *Diabetes* 2005;54:2041-52. doi: 10.2337/diabetes.54.7.2041
46. Peschke E, Hofmann K, Bähr I, Streck S, Albrecht E, Wedekind D, et al. The insulin-melatonin antagonism: studies in the LEW. 1AR1-iddm rat (an animal model of human type 1 diabetes mellitus). *Diabetologia* 2011;54:1831-40. doi: 10.1007/s00125-011-2138-0
47. Arndt T, Wedekind D, Weiss H, Tiedge M, Lenzen S, Hedrich H-J, et al. Prevention of spontaneous immune-mediated diabetes development in the LEW. 1AR1-iddm rat by selective CD8+ T cell transfer is associated with a cytokine shift in the pancreas-draining lymph nodes. *Diabetologia* 2009;52:1381-90. doi: 10.1007/s00125-009-1348-1
48. Jörns A, Kubat B, Tiedge M, Wedekind D, Hedrich H-J, Klöppel G, et al. Pathology of the pancreas and other organs in the diabetic LEW. 1AR1/Ztm-iddm rat, a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus. *Virchows Archiv* 2004;444:183-9. doi: 10.1007/s00428-003-0956-2
49. Arndt T, Jörns A, Hedrich HJ, Lenzen S, Wedekind D. Variable immune cell frequencies in peripheral blood of LEW. 1 AR 1-iddm rats over time compared to other congenic LEW strains. *Clinical & Experimental Immunology* 2014;177:168-78. doi: 10.1111/cei.12323
50. Weiss H, Bleich A, Hedrich H-J, Kölsch B, Elsner M, Jörns A, et al. Genetic analysis of the LEW. 1AR1-iddm rat: an animal model for spontaneous diabetes mellitus. *Mammalian Genome* 2005;16:432-41. doi: 10.1007/s00335-004-3022-8
51. Arndt T, Jörns A, Weiss H, Tiedge M, Hedrich H-J, Lenzen S, et al. A variable CD3+ T-cell frequency in peripheral blood lymphocytes associated with type 1 diabetes mellitus development in the LEW. 1AR1-iddm rat. *PLoS One* 2013;8:e64305. doi:10.1371/journal.pone.0064305
52. Wedekind D, Weiss H, Jörns A, Lenzen S, Tiedge M, Hedrich H-J. Effects of polyinosinic-polycytidylic acid and adoptive transfer of immune cells in the LEW. 1AR1-iddm rat and in its coisogenic LEW. 1AR1 background strain. *Autoimmunity* 2005;38:265-75. doi: 10.1080/08916930500114321
53. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosuni M, Natori T. New inbred strain of Long-Evans Tokushima lean rats with IDDM without lymphopenia. *Diabetes* 1991;40:1375-81. doi: 10.2337/diab.40.11.1375
54. Komeda K, Noda M, Terao K, Kuzuya N, Kanazawa M, Kanazawa Y. Establishment of two substrains, diabetes-prone and non-diabetic, from Long-Evans Tokushima Lean (LETL) rats. *Endocrine Journal* 1998;45:737-44. doi: 10.1507/endocrj.45.737
55. Kriz J, Girman P, Berkova Z, Marada T. The Transplantation of Insulin Producing Tissue. *Rat Experimental Transplantation Surgery*; Springer;2015.p.163-98.
56. Christopher RJ, Takeuchi K, Lee B. Rodent models of diabetes. Principles of diabetes mellitus: Springer; 2010.p.165-78.
57. Yokoi N, Komeda K, Wang H-Y, Yano H, Kitada K, Saitoh Y, et al. Cblb is a major susceptibility gene for rat type 1 diabetes mellitus. *Nature Genetics* 2002;31:391-4.
58. Yokoi N, Namae M, Fuse M, Wang H-Y, Hirata T, Seino S, et al. Establishment and characterization of the Komeda diabetes-prone rat as a segregating inbred strain. *Experimental Animals* 2003;52:295-301. doi: 10.1538/expanim.52.295
59. Jörns A, Arndt T, Zu Vilsendorf AM, Klempnauer J, Wedekind D, Hedrich H-J, et al. Islet infiltration, cytokine expression and beta cell death in the NOD mouse, BB rat, Komeda rat, LEW. 1AR1-iddm rat and humans with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2014;57:512-21. doi: 10.1007/s00125-013-3125-4
60. King A. Animal models of type 1 and type 2 diabetes mellitus. Animal models for the study of human disease: Elsevier; 2017.p. 245-65. doi: 10.1016/B978-0-12-809468-6.00010-3
61. Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008;51:216-26. doi:10.1007/s00125-007-0886-7
62. Federiuk IF, Casey HM, Quinn MJ, Wood MD, Ward KW. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comparative Medicine* 2004;54:252-7.
63. Dufrane D, van Steenberghe M, Guiot Y, Goebbels R-M, Saliez A, Gianello P. Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and β -cell plasticity. *Transplantation* 2006;81:36-45. doi: 10.1097/01.tp.0000189712.74495.82
64. Tyrberg B, Andersson A, Borg LH. Species differences in susceptibility of transplanted and cultured pancreatic islets to the β -cell toxin alloxan. *General and Comparative Endocrinology* 2001;122:238-51. doi: 10.1006/gen.2001.7638
65. Pandey S, Dvorakova MC. Future Perspective of Diabetic Animal Models. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)* 2020;20:25-38. doi: 10.2174/1871530319666190626143832
66. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research* 2001;50:537-46.
67. Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes. *Acta Physiologica Hungarica* 2014;101:408-20. doi: 10.1556/APhysiol.101.2014.4.2
68. Ventura-Sobrevilla J, Boone-Villa V, Aguilar C, Román-Ramos R, Vega-Avila E, Campos-Sepúlveda E, et al., editors. Effect of varying dose and administration of streptozotocin on blood sugar in male CD1 mice. *Proc West Pharmacol Soc*;2011.

69. Deeds M, Anderson J, Armstrong A, Gastineau D, Hiddinga H, Jahangir A, et al. Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory Animals* 2011;45:131-40. doi: 10.1258/la.2010.010090
70. Sakata N, Yoshimatsu G, Tsuchiya H, Egawa S, Unno M. Animal models of diabetes mellitus for islet transplantation. *Experimental diabetes Research* 2012;2012. doi:10.1155/2012/256707
71. Tesch GH, Allen TJ. Rodent models of streptozotocin-induced diabetic nephropathy (Methods in Renal Research). *Nephrology* 2007;12:261-6. doi: 10.1111/j.1440-1797.2007.00796.x
72. Wei M, Ong L, Smith MT, Ross FB, Schmid K, Hoey AJ, et al. The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes. *Heart, Lung and Circulation* 2003;12:44-50. doi: 10.1046/j.1444-2892.2003.00160.x
73. Karunanayake E, Baker J, Christian R, Hearse D, Mellows G. Autoradiographic study of the distribution and cellular uptake of (14 C)-streptozotocin in the rat. *Diabetologia* 1976;12:123-8. doi:10.1007/BF00428976
74. Tjalve H, Wilander E, Johansson E-B. Distribution of labelled streptozotocin in mice: uptake and retention in pancreatic islets. *Journal of Endocrinology* 1976;69:455-NP. doi: 10.1677/joe.0.0690455
75. Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R, Lenzen S. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia* 2000;43:1528-33. doi: 10.1007/s001250051564
76. Weiss RB. Streptozotocin: a review of its pharmacology, efficacy, and toxicity. *Cancer Treat Rep* 1982;66:427-38.
77. Bouwens L, Rooman I. Regulation of pancreatic beta-cell mass. *Physiological Reviews* 2005;85:1255-70. doi: 10.1152/physrev.00025.2004
78. Wang Z, Gleichmann H. GLUT2 in pancreatic islets: crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice. *Diabetes* 1998;47:50-6. doi: 10.2337/diab.47.1.50
79. Bennett RA, Pegg AE. Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin. *Cancer Research* 1981;41:2786-90.
80. Bedoya F, Solano F, Lucas M. N-monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets. *Experientia* 1996;52:344-7. doi: 10.1007/BF01919538
81. Turk J, Corbett JA, Ramanadham S, Bohrer A, McDaniel ML. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1993;197:1458-64. doi: 10.1006/bbrc.1993.2641
82. Sofue M, Yoshimura Y, Nishida M, Kawada J. Uptake of nicotinamide by rat pancreatic β cells with regard to streptozotocin action. *Journal of Endocrinology* 1991;131:135-8. doi: 10.1677/joe.0.1310135
83. von Wilmowsky C, Stockmann P, Harsch I, Amann K, Metzler P, Lutz R, et al. Diabetes mellitus negatively affects peri-implant bone formation in the diabetic domestic pig. *Journal of Clinical Periodontology* 2011;38:771-9. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01746.x
84. Tahara A, Kurosaki E, Yokono M, Yamajuku D, Kihara R, Hayashizaki Y, et al. Antidiabetic effects of SGLT2-selective inhibitor ipragliflozin in streptozotocin-nicotinamide-induced mildly diabetic mice. *Journal of Pharmacological Sciences* 2012;12089FP. doi: 10.1254/jphs.12089FP
85. Veeranjanyulu C, Subrahmanyam G. Rediscovered the induction of diabetogenic agents in the experimental animal model. 2016.
86. Wu KK, Huan Y. Diabetic atherosclerosis mouse models. *Atherosclerosis* 2007;191:241-9. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2006.08.030
87. Gvazava I, Kosykh A, Rogovaya O, Popova O, Sobyanyan K, Khrushchev A, et al. A Simplified Streptozotocin-Induced Diabetes Model in Nude Mice. *Acta Naturae* 2020;12:98. doi: 10.32607/actanaturae.11202
88. Ziegler M, Ziegler B, Hehmke B. Severe hyperglycaemia caused by autoimmunization to β cells in rats. *Diabetologia* 1984;27:163-5. doi: 10.1007/BF00275679
89. Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols in Pharmacology* 2015;70:5.47. 1-5. 20. doi: 10.1002/0471141755.ph0547s70
90. Troullinaki M, Chen LS, Witt A, Pyrina I, Phielier J, Kourtzelis I, et al. Robo4-mediated pancreatic endothelial integrity decreases inflammation and islet destruction in autoimmune diabetes. *The FASEB Journal* 2020;34:3336-46. doi: 10.1096/fj.201900125RR
91. Ammon H. Boswellic extracts and 11-keto- β -boswellic acids prevent type 1 and type 2 diabetes mellitus by suppressing the expression of proinflammatory cytokines. *Phytomedicine* 2019;63:153002. doi: 10.1016/j.phymed.2019.153002
92. Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus. *Science* 1976;193:415-7. doi: 10.1126/science.180605
93. Huang F, Wu W. Antidiabetic effect of a new peptide from *Squalus mitsukurii* liver (S-8300) in streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2005;57:1575-80. doi: 10.1211/jpp.57.12.0007
94. Brøndum E, Nilsson H, Aalkjaer C. Functional abnormalities in isolated arteries from Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated diabetic rat models. *Hormone and Metabolic Research* 2005;37:56-60. doi: 10.1055/s-2005-861370
95. Patterson E, Marques TM, O'Sullivan O, Fitzgerald P, Fitzgerald GF, Cotter PD, et al. Streptozotocin-induced type-1-diabetes disease onset in Sprague-Dawley rats is associated with an altered intestinal microbiota composition and decreased diversity. *Microbiology* 2015;161:182-93. doi: 10.1099/mic.0.082610-0
96. Abeeleh MA, Ismail ZB, Alzaben KR, Abu-Halaweh SA, Al-Essa MK, Abuabeleh J, et al. Induction of diabetes mellitus in rats using intraperitoneal streptozotocin: a comparison between 2 strains of rats. *Eur J Sci Res* 2009;32:398-402.
97. Matsunami T, Sato Y, Hasegawa Y, Ariga S, Kashimura H, Sato T, et al. Enhancement of reactive oxygen species and induction of apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats under hyperbaric oxygen exposure. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 2011;4:255.
98. Lee JY, Lee FY, Huo TI, Wang SS, Huang HC, Lin HC, et al. Diabetes enhances the intrahepatic vascular response to endothelin-1 in cirrhotic rats: association with the ETA receptor and pERK up-regulation. *Liver International* 2015;35:704-12. doi: 10.1111/liv.12527
99. Prabowo S, Nataatmadja M, Hadi JP, Dikman I, Handajani F, Tehupuring SE, et al. Hyperbaric Oxygen Treatment in a diabetic rat model is associated with a decrease in blood glucose, regression of organ damage and improvement in wound healing. *Health* 2014;2014. doi:10.4236/health.2014.615228
100. Aleeva G, Kiyasov A, Minnebaev M, Burykin I, Khafiz'yanova RK. Changes in the Count of Pancreatic b-and a-Cells and Blood Glucose Level in Rats with Alloxan-Induced Diabetes. *Bulletin of experimental Biology and Medicine* 2002;133:127. doi: 10.1023/A:1015578201402
101. Mathews CE, Leiter EH. Constitutive differences in antioxidant defense status distinguish alloxan-resistant and alloxan-susceptible mice. *Free Radical Biology and Medicine* 1999;27:449-55. doi: 10.1016/S0891-5849(99)00084-2
102. Dunn JS, McLetchie N. Experimental alloxan diabetes in the rat. *The Lancet* 1943;242:384-7. doi: 10.1016/S0140-6736(00)87397-3

103. Gorus FK, Malaisse WJ, Pipeleers DG. Selective uptake of alloxan by pancreatic B-cells. *Biochemical Journal* 1982;208:513. doi: 10.1042/bj2080513
104. Elsner M, Tiedge M, Guldbakke B, Munday R, Lenzen S. Importance of the GLUT2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan. *Diabetologia* 2002;45:1542-9. doi: 10.1007/s00125-002-0955-x
105. Malaisse WJ, Doherty M, Ladriere L, Malaisse-Lagae F. Pancreatic uptake of [2-14C] alloxan. *International Journal of Molecular Medicine* 2001;7:311-5. doi:10.3892/ijmm.7.3.311
106. Bloch KO, Zemel R, Bloch OV, Grief H, Vardi P. Streptozotocin and alloxan-based selection improves toxin resistance of insulin-producing RINm cells. *International Journal of Experimental Diabetes Research* 2000;1:211-9. doi: 10.1155/EDR.2000.211
107. Macdonald Ighodaro O, Mohammed Adeosun A, Adebayo Akinloye O. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina* 2017;53:365-74. doi: 10.1016/j.medici.2018.02.001
108. Lenzen S, Mirzaie-Petri M. Inhibition of aconitase by alloxan and the differential modes of protection of glucose, 3-O-methylglucose, and mannoheptulose. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 1992;346:532-6. doi: 10.1007/BF00169009
109. Weaver DC, Barry DC, McDaniel ML, Marshall GR, Lacy PE. Molecular requirements for recognition at a glucoreceptor for insulin release. *Molecular Pharmacology* 1979;16:361-8.
110. Garland P, Randle P, Newsholme E. Citrate as an intermediary in the inhibition of phosphofructokinase in rat heart muscle by fatty acids, ketone bodies, pyruvate, diabetes and starvation. *Nature* 1963;200:169-70. doi: 10.1038/200169a0
111. Colca J, Brooks CL, Landt M, McDaniel ML. Correlation of Ca²⁺-and calmodulin-dependent protein kinase activity with secretion of insulin from islets of Langerhans. *Biochemical Journal* 1983;212:819-27. doi: 10.1042/bj2120819
112. Tiedge M, Elsner M, McClenaghan NH, Hedrich H-J, Grube D, Klemptner J, et al. Engineering of a glucose-responsive surrogate cell for insulin replacement therapy of experimental insulin-dependent diabetes. *Human Gene Therapy* 2000;11:403-14. doi: 10.1089/10430340050015879
113. Borg LH, Eide SJ, Andersson A, Hellerström C. Effects in vitro of alloxan on the glucose metabolism of mouse pancreatic B-cells. *Biochemical Journal* 1979;182:797-802. doi: 10.1042/bj1820797
114. Lenzen S, Panten U. Signal recognition by pancreatic B-cells. *Biochemical Pharmacology* 1988;37:371-8. doi: 10.1016/0006-2952(88)90201-8
115. Niki A, Niki H, Miwa I, Lin BJ. Interaction of alloxan and anomers of D-glucose on glucose-induced insulin secretion and biosynthesis in vitro. *Diabetes* 1976;25:574-9. doi: 10.2337/diab.25.7.574
116. Lenzen S, Munday R. Thiol-group reactivity, hydrophilicity and stability of alloxan, its reduction products and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. *Biochemical Pharmacology* 1991;42:1385-91. doi: 10.1016/0006-2952(91)90449-F
117. Martens H, Goxe B, Geenen V. The thymic repertoire of neuroendocrine self-antigens: physiological implications in T-cell life and death. *Immunology Today* 1996;17:312-7. doi: 10.1016/0167-5699(96)10023-2
118. Vafiadis P, Bennett ST, Todd JA, Nadeau J, Grabs R, Goodyer CG, et al. Insulin expression in human thymus is modulated by INS VNTR alleles at the IDDM2 locus. *Nature Genetics* 1997;15:289-92. doi: 10.1038/ng0397-289
119. Pugliese A, Zeller M, Fernandez A, Zalberg LJ, Bartlett RJ, Ricordi C, et al. The insulin gene is transcribed in the human thymus and transcription levels correlate with allelic variation at the INS VNTR-IDDM2 susceptibility locus for type 1 diabetes. *Nature Genetics* 1997;15:293-7. doi.org/10.1038/ng0397-293
120. Throsby M, Homo-Delarche Fo, Chevenne D, Goya R, Dardenne M, Pleau J-M. Pancreatic hormone expression in the murine thymus: localization in dendritic cells and macrophages. *Endocrinology* 1998;139:2399-406. doi: 10.1210/endo.139.5.5989
121. Novoselova E, Khrenov M, Glushkova O, Lunin S, Parfenyuk S, Novoselova T, et al. Anti-inflammatory effects of IKK inhibitor XII, thymulin, and fat-soluble antioxidants in LPS-treated mice. *Mediators of Inflammation* 2014;2014. doi: 10.1155/2014/724838
122. Geenen V. Thymus and type 1 diabetes: an update. *Diabetes research and clinical practice*. 2012;98:26-32. doi: 10.1016/j.diabres.2012.05.023
123. Novoselova EG, Glushkova OV, Lunin SM, Khrenov MO, Novoselova TV, Parfenyuk SB, et al. Signaling, stress response and apoptosis in pre-diabetes and diabetes: restoring immune balance in mice with alloxan-induced type 1 diabetes mellitus. *International Immunopharmacology* 2016;31:24-31. doi: 10.1016/j.intimp.2015.11.007
124. Widiastuti E, Ardiansyah B, Nurcahyani N, Silvina A, editors. Antidiabetic Potency of Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Ethanol Extract and Taurine on Histopathological Response of Mice Kidney (*Mus musculus* L.) Induced by Alloxan. *Journal of Physics: Conference Series*; 2021: IOP Publishing. doi: 10.1088/1742-6596/1751/1/012052
125. Bouzghaya S, Amri M, Homblé F. Improvement of diabetes symptoms and complications by an aqueous extract of *Linum usitatissimum* (L.) seeds in alloxan-induced diabetic mice. *Journal of Medicinal Food* 2020;23:1077-82. doi: 10.1089/jmf.2019.0205
126. Shi Y, Wang X, Deng X, Tian R, Zhang Y, Shang Q, et al. Release profile of insulin from pH-sensitive hydrogel and its hypoglycemic effect by oral administration. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 2016;27:86-96. doi: 10.1080/09205063.2015.1111718
127. Mir SH, Darzi MM. Histopathological abnormalities of prolonged alloxan-induced diabetes mellitus in rabbits. *International Journal of Experimental Pathology* 2009;90:66-73. doi: 10.1111/j.1365-2613.2008.00615.x
128. Devi MS, Das U. Effect of prostaglandins against alloxan-induced diabetes mellitus. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2006;74:39-60. doi: 10.1016/j.plefa.2005.09.003
129. Gimeno E, Quera V, Beltran FS, Dolado R. Differences in shoaling behavior in two species of freshwater fish (*Danio rerio* and *Hyphessobrycon herbertaxelrodi*). *Journal of Comparative Psychology* 2016;130:358. doi: 10.1037/com0000041
130. Connaughton VP, Baker C, Fonde L, Gerardi E, Slack C. Alternate immersion in an external glucose solution differentially affects blood sugar values in older versus younger zebrafish adults. *Zebrafish* 2016;13:87-94. doi: 10.1089/zeb.2015.1155
131. Olsen AS, Sarras Jr MP, Intine RV. Limb regeneration is impaired in an adult zebrafish model of diabetes mellitus. *Wound Repair and Regeneration* 2010;18:532-42. doi: 10.1111/j.1524-475X.2010.00613.x
132. Seth A, Stemple DL, Barroso I. The emerging use of zebrafish to model metabolic disease. *Disease Models & Mechanisms* 2013;6:1080-8. doi: 10.1242/dmm.011346
133. Jörgens K, Stoll SJ, Pohl J, Fleming TH, Sticht C, Nawroth PP, et al. High tissue glucose alters intersomitic blood vessels in zebrafish via methylglyoxal targeting the VEGF receptor signaling cascade. *Diabetes* 2015;64:213-25. doi: 10.2337/db14-0352

134. Sharma KR, Heckler K, Stoll SJ, Hillebrands J-L, Kynast K, Herpel E, et al. ELMO1 protects renal structure and ultrafiltration in kidney development and under diabetic conditions. *Scientific reports*. 2016;6:1-14. doi: [10.1038/srep37172](https://doi.org/10.1038/srep37172)
135. Moulton JD. Using morpholinos to control gene expression. *Curr Protoc Mol Biol* 2008;68:4.30. 1-429. doi: [10.1002/0471142727.mb2608s83](https://doi.org/10.1002/0471142727.mb2608s83)
136. Eames SC, Philipson LH, Prince VE, Kinkel MD. Blood sugar measurement in zebrafish reveals dynamics of glucose homeostasis. *Zebrafish* 2010;7:205-13. doi: [10.1089/zeb.2009.0640](https://doi.org/10.1089/zeb.2009.0640)
137. Kim HJ, Schleiffarth JR, Jessurun J, Sumanas S, Petryk A, Lin S, et al. Wnt5 signaling in vertebrate pancreas development. *BMC Biology* 2005;3:1-21. doi: [10.1186/1741-7007-3-23](https://doi.org/10.1186/1741-7007-3-23)
138. Wang X, Yang X-l, Liu K-c, Sheng W-l, Xia Q, Wang R-c, et al. Effects of streptozotocin on pancreatic islet β -cell apoptosis and glucose metabolism in zebrafish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry* 2020;46:1025-38. doi: [10.1007/s10695-020-00769-w](https://doi.org/10.1007/s10695-020-00769-w)



Induced Animal Models of Type 1 Diabetes in Rodent: A Review Study

Alireza Lotfi (Ph.D. Student)¹, Mozafar Khazaei (Ph.D.)^{2*}

1- Students Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

2- Fertility and Infertility Research Center, Health Technology Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Received: 7 July 2021, Accepted: 15 September 2021

Abstract:

Introduction: Diabetes is a chronic metabolic disease with high prevalence characterized by hyperglycemia due to relative deficiency or lack of insulin. Type 1 diabetes (destruction of Beta cells) and type 2 diabetes (insulin resistance) are the two main types of diabetes. Animal models of diabetes, as an important tool in the study of this disease, help to avoid human challenging immoral and costly studies. Therefore, the present review study aimed to investigate animal models of induced and spontaneous type 1 diabetes in rodents.

Methods: In this systematic review, the keywords of “diabetes”, “induction”, and “animal model” from 1991 to 2021 were searched in PubMed, Scopus, and Google scholar databases. Articles related to the subject of study were selected and reviewed.

Results: From the half of the twentieth century until today, new models have been introduced for prevention and treatment of diabetes in vivo and in vitro. There are various models for inducing type 1 diabetes, each of which has its strengths and weaknesses. These models include spontaneous models, genetically engineered, and chemically induced models. Typically, one way to induce diabetes in animals is to use chemicals, especially streptozotocin (STZ). Animals used include rats, mice, cats, dogs, pigs, and primates.

Conclusion: Based on the results of the study, there is still no standard animal model that can accurately detect the disease, and there is a long way to arrive at a comprehensive model of the pathogenesis and complications of the disease. Therefore, it is necessary to consider the development of these models. Given the importance of diabetes studies, it is necessary to carefully select the appropriate animal model for each study.

Keywords: Diabetes, Streptozotocin, Alloxan, Animal model.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: M. Khazaei, Email: mkhazaei1345@yahoo.com

Citation: Lotfi A, Khazaei M. Induced animal models of type 1 diabetes in rodent: a review study. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2021;16(3):28-48.