

Deneysel Diyabet Modelleri

Experimental Models of Diabetes Mellitus

Seda V. İrer

Gülinnaz Alper

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

ÖZET

Çeşitli hastalıkların tanılarının konulması, patogenezlerinin aydınlatılması ve tedavi seçeneklerinin irdelenmesi için yapılan araştırmalarda deneysel hayvan modelleri çok çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Diabetes Mellitus yaşam boyu süren, sürekli izlem ve tedavi gerektiren, akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan, morbiditesi, mortalitesi ve topluma ekonomik yükü yüksek kronik metabolik bir hastalıktır. Bu nedenle patogenezinin aydınlatılması önem taşımaktadır. Bu derlemede, diyabet hastalığının patogenezinin aydınlatılması ve yeni terapötik girişimlerin denenmesi için yapılan araştırmalarda kullanılmakta olan deneysel modeller ve kullanım şekilleri incelenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Deneysel diyabet, Diabetes Mellitus, hayvan, sıçan

ABSTRACT

In research studies performed to enlighten the diagnosis and pathogenesis of various diseases and to investigate possible treatment strategies, experimental animal models provide many advantages to the investigators. Diabetes Mellitus is a chronic metabolic disease which lasts for whole life, requiring continuous follow-up and therapy. With its acute and chronic complications, it decreases patient's lifespan and quality, causes a high morbidity and mortality rate and is a huge economic burden. Therefore clarifying its pathogenesis has a great value. In this review, experimental models and their application procedures used in research studies examining pathogenesis of diabetes and its therapeutic approaches are discussed.

Key Words: Experimental diabetes, Diabetes Mellitus, animal, rat

GİRİŞ

Günümüzde çeşitli hastalıklara tanı konması, patogenezlerinin aydınlatılması, hastalıklardan korunma ve tedavi olanaklarının incelenmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı oldukça yaygındır. Hayvan modelleri kullanımının avantajları şöyle sıralanabilir:

- Araştırmacı, deneysel değişkenleri kolayca kontrol altında tutabilmektedir.
- Araştırılan patolojiye genetik olarak uygun türler, hatta alt türler seçilebilmektedir.

- Anlamlı istatistiksel değerlendirmeye yetecek sayıda örnekle çalışılabilmektedir.
- Uygun hayvan modeli ile çalışma çok daha kısa sürede tamamlanabilmektedir.
- Genetik özellikleri iyi bilinen bir hayvan modeliyle çalışırken risk faktörü olarak belirlenen bir değişkeni diğer tüm faktörleri dışlayarak çalışmak mümkündür.
- Hayvan modellerinde birden fazla risk faktörü veya patolojiyi çalışmak da mümkündür.

- Henüz denenmemiş tanı koydurucu, koruyucu veya terapötik yaklaşımların denenmesine olanak verir.

Günümüze dek tanımlanmış birçok hayvan diyabet modeli bulunmakla beraber, bu modellerden hiçbiri insan diyabetine tam olarak eşdeğer tutulamaz (1).

I. Tip-1 Diyabet Modelleri

1. Kimyasal olarak oluşturulan tip-1 diyabet modelleri: Alloksan, streptozotosin, çinko şelatörleri (dithizone, 8-hidroksikinolin), Rodentisid-Vacor, diet nitrozaminleri vb.
2. Spontan tip-1 diyabet modelleri: BB (Bio-Breeding) sıçan, NOD (non-obese diabetic) fare ve diğerleri (Macaca nigra maymunu, Keeshand köpeği, Çin hamsteri, kobay, Yeni Zelanda beyaz tavşanı, KDP (Komodo Diabetes Prone) sıçan)
3. Virüsle oluşturulan modeller
4. Transgenik tip-1 diyabet modelleri

II. Tip-2 Diyabet Modelleri

1. Spontan modeller: Ağır düzeyde hiperglisemili modeller (db/db fare, Rhesus maymunu, çöl kemirgenleri) ve ılımlı hiperglisemili modeller (ob/ob fare)
2. Eksperimental modeller: Kimyasal modeller (Streptozotosin, alloksan), cerrahi modeller (pankreatektomi, hipotalamik lezyon), diyet (yüksek yağlı ve şekerli diyetle beslenme), hormonlar, anne karnında malnutrisyon, insülin karşıtı hormonların yüksek dozları, hiperinsülinemiye uzun süreli maruziyet ve benzerleri
3. Transgenik modeller

III. Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT) Modelleri

1. Şişman Zucker fa/fa sıçan
2. BHE sıçan

I. TİP-1 DİYABET MODELLERİ

I.1. Kimyasal Yolla Oluşturulan Modeller

ALLOKSAN (2,4,5,6 Tetraokzoheksahidropirimidin)

Ürik asit türevi, antineoplastik bir ajandır. Genellikle monohidrat tuzu şeklinde bulunur.

Solüsyonu 4°C'nin altında saklanmalıdır (2). Toksik etkisi özellikle pankreas hücrelerine özgüdür. Glukozla uyarılan insülin salınımını inhibe eder; yüksek dozları ise hücre nekrozu yapar. Glukoz transport mekanizması ve glukoreseptörler üzerinden etkili olan alloksanın bu etkileri glukoreseptörler için yarışan diyetdeki şekerler tarafından bloke edilebilir (2). hücre fonksiyonu için gerekli olan heksokinaz, protein kinaz ve sülfidril enzimleri ile etkileşir; özellikle glukokinaz alloksan inhibisyonuna diğerlerinden daha duyarlıdır. Glukokinazın sülfidril grupları alloksanın primer intrasellüler hedefi olabilir ve bu yolla hücre toksisitesine yol açabilir (3). Alloksanın bir diğer etki mekanizması da mitokondriyal transport sistemlerini inhibe ederek hücre içi pH'ın yükselmesine ve hücre ölümüne yol açmasıdır. Alloksanın ayrıca serbest radikal hasarı oluşturan etkisi de bulunmaktadır (1,2).

Alloksanın in vivo dezavantajları; fizyolojik pH'da stabil olmayışı, diyetdeki şekerlerin alloksanın etkisine karşı koruyucu olabilmesi, yaş ve türe göre geniş bir doz varyasyonu bulunması ve yüksek dozlarda pankreas dışı diğer organlarda da toksik etkili oluşudur (2). Alloksanın diyabetojenik dozu I.V. 40-45 mg/kg'dır (2). Kodama ve ark. (4) ise alloksanı neonatal periyotta, I.P. ve yüksek dozda uygulayarak bir Tip-1 diyabet modeli oluşturmuşlardır. Bu neonatal alloksan diyabet modelinin diyabetin kronik komplikasyonlarında kullanılabileceği iddia edilmektedir.

Streptozotosin (STZ)

2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrozoüreido)-D-Glukopiranoz'dur. Streptomyces griseus'un metaboliti olan STZ'in antibiyotik, antitümöral ve karsinojenik etkileri vardır (1,2,5). STZ, pankreas hücrelerine doğrudan toksik etkilidir. Yapısında bir glukoz molekülü içerdiği için plazma membranındaki glukoreseptörlere bağlanan STZ glukozla uyarılan insülin salınımını bloke eder. STZ'in temel etki yerlerinden biri de nükleer DNA'dır. STZ'in hücre içinde dekompozisyonu ile oluşan reaktif

karbonyum iyonları DNA bazlarında alkilasyona neden olur. Bunu DNA tamiri izler ve tamir sırasında görev alan poli (ADPriboz) sentetaz hücre içindeki NAD⁺'ı kullanarak NAD⁺ depolarını boşaltır (1,2). Adacık hücrelerinin ekzojen nikotinamid ile tedavisi STZ'in diyabetojenik etkilerine karşı koruyucudur. STZ de alloksan gibi oksidan özelliğe sahiptir. hücrelerinde glutatyon (GSH) düzeylerini, eritrositlerde ise süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerini düşürür (6). STZ pankreas dokusu dışında böbrek ve karaciğere de hasar verir. Dokulara karşı irritan olduğundan uygulanımı sırasında damar dışına sızdırılmamalıdır. STZ -20°C'de ışıktan korunarak saklanmalıdır. Çözeltisi uygulanımdan hemen önce taze olarak ve pH'sı 4 sitrat tampon içinde çözülerek hazırlanmalı ve 4°C'de ışıktan korunarak hemen kullanılmalıdır. Sıçanlarda 50-100 mg/kg dozunda I.V. veya I.P. uygulanabilir. Rodentlerde yaş ilerledikçe etkinliği azalmaktadır (2). Dozaj, birbirini izleyen 5-6 gün boyunca çok kez (multiple) ve ufak dozlar şeklinde (5 mg/kg/gün) de uygulanabilir, buna subdiyabetojenik doz uygulaması denir. Bu modelde adacık hücrelerinde hücreselel immun yanıtın artışı düşündürülen ağır bir mononükleer hücre infiltrasyonu (insülitis) oluşur (7).

Alloksan ile STZ arasındaki farklar

1. STZ'e kıyasla alloksan ile daha yüksek kan şekeri düzeyleri saptanır.
2. STZ'in trifazik yanıtı alloksana oranla genellikle 1 saat daha geç ortaya çıkar.
3. Alloksan ile ketozis daha sıktır.
4. Diyabetik ajan uygulamasından birkaç ay sonra beta hücrelerinin rejenerasyonu veya adacık hücre adenomu gelişmesi sonucu kan şekeri düşmeye başlayabilir. STZ diyabetinde bu onkojenik etki (adenom riski) alloksana kıyasla daha fazladır (STZ ile adenom riski %5-99 arasında değişir). Bu nedenle uzun süreli diyabet oluşturulması ve kronik komplikasyonların izlenmesi gerektiğinde alloksan diyabeti daha avantajlıdır.

5. STZ diyabetinde nöropati daha şiddetlidir.

Kimyasal diyabette biyokimyasal değişiklikler

Diyabetojenik ajan uygulanımı sonrası kan glukozunda üç fazlı bir yanıt oluşmaktadır:

1. Geçici hiperglisemi fazı: İlk 2 saatte oluşur; karaciğerde glikojenin ani yıkılımına bağlı olarak kan şekeri yükselir. Bu durum uygulamadan önce hayvan 12-18 saat aç bırakılırsa azaltılabilir. Bu dönemde plazma insülin düzeyleri düşüktür (2).
2. Şiddetli hipoglisemi fazı: Uygulamadan yaklaşık 6 saat sonra başlar. Diyabetojenik ilaç uygulamasını izleyen ilk 24 saat içindeki ölümlerden bu hipoglisemi sorumludur, bu nedenle diyabet indüksiyonundan sonraki ilk 24 saatlik dönemde hayvana şekerli sıvı (örneğin %10 glukoz solüsyonu) verilmesi tavsiye edilir. Hipoglisemi, hücrelerinin ölümüyle birlikte aşırı miktarda insülinin kana salınımına bağlıdır ve plazma insülin düzeyleri çok yüksektir. Aç bırakılan hayvanlarda bu etki daha da belirgindir, bu nedenle şiddetli hipoglisemiye bağlı ölümlere engel olabilmek için diyabetojenik ajanın tok karnına uygulanması da önerilmektedir (2).
3. Kalıcı hiperglisemi fazı: Diyabetojenik ajan uygulanımından 10-12 saat sonra başlar. Bu fazda plazma insülin düzeyleri düşer ve aylarca düşük düzeylerde seyreder (2).

Kimyasal diyabette genel olarak glukagon fazlalığı söz konusudur ve ilk 24 saatte plazma glukoz ve insülin düzeylerine paralel değişiklikler oluşur. Glukagonla ilgili değişikliklerin doğrudan -hücre hasarıyla mı yoksa insülin eksikliği nedeniyle mi geliştiği tam bilinmemektedir. Somatostatin salgılayan delta hücreleri ise diyabetojenik ajandan etkilenmez ancak uygulamadan 2 hafta kadar sonra insülinin düşüşü ve glukagonun yükselişine yanıt olarak somatostatin düzeylerinde artış olur (2).

Kimyasal diyabette böbrekte oluşan değişiklikler insandaki nefropatinin çok benzeridir.

Glomerül bazal membranında kalınlaşma, glomerül mezenkimal matriksinde artış, mezenkimde Ig ve kompleman birikimi, glomerüller anevrizmalar, glomerüller adezyonlar ve tubuler epitelde glikojen depolanması olur ve ışık mikroskopisi bulguları 4. ayda yerleşik hale gelir (8).

İnsandaki diyabetik retinopati için en iyi model alloksanla oluşturulan diyabetik köpek modelidir ve retinopati bu modelde yaklaşık dört yılda gelişir. Patolojik bulgular; klasik sakküler mikroanevrizmalar, hipersellüler veya asellüler kapillerler, perisit kaybı, hemorajiler, eksuda birikimi ve retinal kapiller bazal membran kalınlaşması şeklindedir. Ancak insandan farklı olarak retinal neovaskülarizasyon gözlenmez (9).

1.2. Spontan Sendromlar

Tip 1 diyabetin etiyojisinin araştırılmasında kullanılan önemli deneysel modellerden biri de spontan diyabetli kemirgenlerdir. Özellikle fare spontan sendromları, üzerinde en çok çalışılanlardır. Fare genomu diğer tüm türlerinkinden daha iyi bilinmektedir, bu nedenle henüz hastalık semptomları gelişmeden prelinik çalışmalar yapılabilir. Buna karşın, fare çalışmalarının bazı dezavantajları da bulunur. Bunlardan biri, farelerin kütlelerinin küçük olması nedeniyle kan ve doku örneği almanın zorluğudur. Bu sorun spesifik soylarda birden çok fare örneğinin havuzlanması suretiyle çözülür. Diğer bir dezavantaj da bazı soyların (özellikle ob ve db sendromlarında) infertil olmasıdır. Bu sorun da dölleme için heterozigotların kullanılması ile aşılanır. Bir diğer dezavantaj ise farelerde bazı tipik insan diyabet komplikasyonlarının görülmemesidir. Bunun da nedeni hayvanların bu komplikasyonlara dirençli olması olabilir (10).

BB Sıçan

Spontan otoimmün diyabet modeli olan BB sıçan ilk kez 1974'te Kanada-Ottawa'da Bio-breeding Laboratuvarları'nda tanımlanmıştır ve ismini buradan alır (2). Diabetes Mellitus'a

genetik yatkınlığı olan bu hayvanlarda hem hümmoral hem de hüresel immunitte bozuklukları bulunur. Bu sıçanlar zayıftır; hiper-glisemi, hipoinsülinemi, belirgin poliüri ve glukozüri bulunur. BB sıçanlarda diyabet yaklaşık 3 aylıkken başlar. Ketoasidoz riski %60-80'dir. Stabil olmayan, kilo kaybı, dehidratasyon ve ketoasidoz gelişen sıçanlarda insülin tedavisi gerekebilir (1). BB sıçanların diğer özellikleri ise genetik predispozisyonun varlığı ile diyabet sıklığı açısından cinsiyet farkı olmamasıdır (2).

BB sıçanlarda diyabet gelişimini engellemek için; a) Neonatal timektomi, b) Total lenfoid irradyasyonu, c) Antilenfosit serum tedavisi veya siklosporin A tedavisi, d) Diyabete dirençli BB sıçanlardan alınmış tam kan veya lenfosit transfüzyonu, e) T hücreleri veya sınıf 2 MHC antijenlere karşı monoklonal antikolar, f) Silika (immunitte baskılayıcı ajan uygulaması), g) Nonspesifik immün sistem inhibitörleri kullanılabilir (1,11).

Bu modelde insan Tip 1 diyabetine benzer şekilde, hücreci enzimi olan glutamik asid dekarboksilaza (GAD) karşı antikolar bulunur. GAD otoimmün hücre yıkımının major antijeni olabilir ve diyabet gelişimiyle ilgilidir. İnsan Tip-1 diyabetinde bulunan adacık hücreci sitoplazmik antikoları (ICA) bu modelde saptanamazken, adacık hücreci yüzey antikoru (ICSA) yüksek miktarlarda saptanabilmektedir (12). Ayrıca, BB sıçanlarda mevcut olan T lenfosit disfonksiyonu insan diyabetinde bulunmaz (1). Bu hayvanlardaki hastalık kalıtım şeklinin insanlara benzer şekilde MHC ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (1). BB sıçanların kullanım alanlarından biri de diyabetik nöropati çalışmalarıdır (2).

BB sıçanların dezavantajları ise günlük insülin enjeksiyonu gerektirmeleri ve ketoasidoza girebilmeleri nedeniyle bakımlarının zor olması yanısıra mikoplazma ve diğer solunum yolu enfeksiyonlarına açık olmalarıdır (2). BB sıçanlarda Tip-1 diyabet gelişiminde barsak fonksiyonlarındaki bozulmanın etkili olabileceğini ortaya koyan pek çok çalışma yer almaktadır. Diyabet ile barsak fonksiyon

ları arasındaki ilişkinin araştırılmasında da BB sıçanlar kullanılmaktadır (13).

NOD Fare

14 haftada diyabet oluşmaktadır. Hipoinsülinemi, hiperglisemi, glikozüri ve insülin bağımlılığı ile BB sıçan diyabetine benzeyen bir diyabet modelidir. NOD farede diyabet gelişimini çeşitlendiren en az 20 adet de lokus bulunmaktadır (14). BB sıçandaki gibi, NOD fare diyabeti patogenezinde de sellüler ve hümmoral immunité; lenfosit sayısının düşüklüğü, NK aktivitesindeki azalma, anti-kor bağımlı hücre aracılı sitotoksité ve GAD otoantijenleri önemlidir. NOD farelerin BB sıçanlardan farkları insülinitis oranının daha az olması ve belirgin dişi seçiciliğidir (1,15). Bu farelerin MHC'leri atipiktir, MHC sınıf II'nin Tip-1 diyabete yakınlık açısından önemi bilindiğinden NOD fareleri MHC transgen çalışmaları için de kullanılmaktadırlar (1).

Diğer Hayvan Modelleri

Macaca nigra maymunu (Celebes siyah maymunu): Uzun dönem diyabet komplikasyonlarının, özellikle de aterosklerozun çalışılmasında yararlıdırlar (1). İnsan diyabetinde gözlenen tip 4 hiperlipoproteinemidekine benzer şekilde trigliserid ve lipoprotein düzeyleri anlamlı yüksektir. Vücut kütlelerinin büyüklüğü, kan ve biyopsi örneği toplamada, cerrahi girişimlerde ve kateter uygulamada kolaylık sağlar. Ayrıca hamilelik, damar ve böbrek patolojileri ve hormon salınımları ile diyabetin ilişkisinin araştırılmasında da kullanılırlar. Dezavantajları, bakımlarının zorluğu ile sekonder komplikasyonların oluşması için uzun süre beklenmesidir (16).

- Obez olmayan Keeshond köpekleri: Katarakt çalışmaları için yararlanılır (1,17)
- Çin hamsteri (18)
- Kobay (Guinea Pig)
- Yeni Zelanda beyaz tavşanı (1,15)
- KDP (Komedo diabetes prone) sıçan (19)

Spontan diyabet ve çevresel faktörler

Çevresel faktörler olarak en çok virüsler, psikolojik stres ve diyet içeriği araştırılmıştır.

Örneğin, esansi yel yağ asidi olan araşidonatın diyetle azaltılması BB sıçanları diyabet gelişiminden korumakta; soya fasulyesi proteinleri gibi birçok diyetel proteinler de BB sıçanlarda ve NOD farelerde hastalığı hızlandırmaktadır. Genç BB sıçanlarda da inek sütü proteinleri diyabetojenik etkilidir (1,2).

1.3. Virüsler

Bugüne kadar insanlarda ve hayvanlarda diyabet gelişimi ile ilişkili birçok farklı virus bildirilmiştir. Virüslerden en çok üzerinde çalışılmış olanı EMC (ensefalomyokardit) virüsünün M varyantıdır. Bu virus picornavirus ailesindedir ve Coxsachie B grubu virüslere benzer. Farelere bu virusun enjeksiyonu sonrası yaklaşık %40'ında pankreatik insülinitis gelişir ve ardından hastalık, inatçı hiperglisemi, glukoz tolerans bozukluğu veya ketoasidoz ve ölüm ile sonuçlanabilir. Diğer çok çalışılmış bir virüs de sıçanlarda diyabet oluşturan "Kilham Rat Virus (KRV)"dür. Bu virüs DR-BB sıçanlarda otoimmün diyabet oluşturur. Hayvanlarda diyabete neden olduğu düşünülen diğer virüsler; Coxsachie B, Rubella, Reovirus, Sitomegalovirüs (CMV) ve "Venezuelan Equine Ensefalit" virüsleridir (1,20).

1.4. Transgenik Hayvan Modelleri

Transgenik fare, fertilize fare yumurtasının pronükleusuna yabancı bir DNA'nın aşılması ile oluşturulur (1). Ekzojen genin ekspresyonunun regülasyonu için, bu genler seçilmiş bir endojen genin "promoter"ine bağlanır. Örneğin bir transgenin ekspresyonu onun insülin "promoter"ine bağlanması ile sınırlandırılabilir, böylece o gen sadece o hücre tipinde iş görür. Transgenik modeller, transgenik genlerin hücrelerinde eksprese edilmesi yoluyla bu moleküllere ait diyabetojenik özellikleri belirlemede kullanılmaktadır. Bu şekilde eksprese edilen transgenler MHC antijenleri (I-E , I-A antijenleri gibi), sitokinler (interferon- , IL-2 ve IL-10 gibi) ve viral proteinler (LCMV antijeni, influenza virüs hemaglütinini ve başka viral glikoproteinler v.b.) olarak sınıflandırılabilir (1,21).

Transgenik fare çalışmaları Tip-1 diyabet patogenezinin anlaşılmasında çok yararlı olmak-

tadır. Özellikle immün toleransın yıkılışı ve otoimmüitenin gelişmesi ile ilgili mekanizmalar hakkında doğrudan kanıtlar ortaya koymaktadır ve hastalık sürecindeki anahtar olayların belirlenmesinde güçlü bir yardımcı olmaktadır(1,2).

II. TİP-2 DİYABET MODELLERİ

- Hiçbir sendrom tek başına insan Tip-2 diyabeti ile tam uyuşmaz.
- Çoğu spontan sendrom tek gen mutasyonu ile oluşmuştur ve otozomal resesiftir. Bunlara örnek ob/ob ve db/db fareler ile fa/fa sıçanlar verilebilir. Poligenik defektlere örnek olarak Yeni Zellanda Obez Fare si (NZO) ve Çin Hamsteri gösterilebilir.
- Spontan sendromların fenotipik ekspresyonunu; hayvanın soyu, diyet gibi çevresel faktörler ve yaş etkilemektedir. Örneğin; db/db gen mutasyonu, C57BL/Ks fare soyunda C57BL/6'ya kıyasla daha ciddi bir Tip-2 diyabet oluşturur.
- Çoğu mutasyon leptin proteini ile ilgili mutasyonlardır. Leptin dolaşımında bulunan, sadece beyaz yağ dokusunda eksprese olan, hipotalamusu etkileyerek beslenmeyi inhibe eden, enerji tüketimini arttıran ve vücutta yağ kaybına neden olan bir proteindir. Db genine sahip Db farede kromozom 4'te bir leptin reseptör kusuru bulunur. Bu nedenle anormal yüksek leptin düzeyleri saptanmasına rağmen leptin fonksiyonları yerine getirilemez. Fa farede de bir tür leptin reseptör mutasyonu söz konusudur. Ob farede ise kromozom 6'da kodlanan leptinin bir mutasyonu sonucu anormal bir leptin türünün üretimi söz konusudur; bu durum hiperfaji, azalmış enerji tüketimi ve obezite ile sonuçlanır (1).
- Tüm bu sendromlarda insülin direnci önemli bir etiyolojik faktördür. Tipik olarak insülin direnci ilk olarak iskelet kası ve karaciğerde oluşur. Yağ dokusu insüline daha uzun süre duyarlı kalır.
- Tip-1 diyabetin mikro ve makrovasküler komplikasyonlarını çalışmak için spesifik hayvanlar bulunmaktadır. Örneğin diyabette-

ki hızlanmış ateromlar ve miyokard infarktüsü JCR:LA-cp sıçanda ve albuminüri de Zucker diyabetik yağlı (ZDF) farelerde çalışılabilir (1).

II. 1. Spontan Modeller

Ağır Hiperglisemili Sendromlar

Db/Db Diyabetik Fare

Db/Db farelerde 4. kromozomdaki hipotalamik leptin reseptörü geninde mutasyon vardır ve reseptör leptine cevap veremez. Leptinin inhibitör etkilerinin kaybı hipotalamik nöron peptid Y'nin aktivitesini artırır (10). Bu da hiperfaji, azalmış enerji tüketimi ve obeziteye neden olur. Db farelerde mutasyonun ekspresyonunda soyun genleri önem taşır. Örneğin bu mutasyon C57BL/Ks farelerinde C57BL/6'ya oranla daha ciddi bir tablo yaratır ve bu durumun hücre replikasyon kapasitesindeki genetik farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu modelde insülin direnci, hiperglisemi öncesinde saptanabilir ve direncin ciddiyeti arttıkça hipergliseminin de düzeyi artar. Diyetset olarak, rafine şekerlerden zengin yiyecekler hastalığın başlangıcını hızlandırmakta, adacık lezyonlarının ve hipergliseminin ciddiyetini arttırmaktadır (1). Db/db fare, Tip-2 diyabet modelleri arasında renal hastalık modeline en uygun olan ve çalışmalarda en çok kullanılandır (22).

Çöl Kemirgenleri, Kum Sıçanları ve 'Spiny' Fare

Bu gibi vahşi ve zor şartlarda yaşayan hayvanlar, enerji alımı ve egzersizin diyabetteki rolünü araştırmada kullanılır. Normalde ince ve aktif olan ancak diyabetik olmayan bu hayvanlar enerjiden zengin diyetle laboratuvar şartlarında beslendikleri zaman hiperglisemi geliştirirler (1,23).

Rhesus Maymunu (Macaca Mulatta)

Bu hayvanlar, istedikleri zaman yiyeceğe erişebilecekleri şekilde bakılırlar ve 10 yıl içinde, orta yaşlara geldiklerinde %50'den fazlası obezleşir ve bunların çoğunda da diyabet gelişir (1,14).

OETF Sıçanları (Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats) ve Çin Hamsteri (Cricetulus Griseus)

Başlangıçta hiperfaji, insülin düzeyinde hafif artış, hücre hiperplazisi, insülin direnci, hücre dejenerasyonu ve ardından hipoinsülinemi ile seyreden sendromlardır. Asıl olarak Tip-1 diyabette görülen adacık hücrelerinde lenfosit infiltrasyonu (lenfositis); bu Tip-2 diyabet modellerinde, özellikle OETF sıçanlarda görülebilmektedir. Ancak, insülitis diğer diyabetik olmayan akrabalarında da görülebildiği için bu patolojik bulgunun önemi belirsizdir (1,23).

Orta Derecede Hiperglisemili Sendromlar

Obez Fare (Ob/Ob)

Ob/ob farelerde 6. kromozomdaki leptin geninde mutasyon bulunmaktadır. Db farelerden farklı olarak retinopati, periferik nöropati ve böbrek lezyonları ob faresinde görülmez (10). Bu sendromda fenotip, hayvan soyunun genomuna ve besinsel faktörlere bağlı olsa da daima hiperglisemi öncesi hiperinsülinemi, obezite, hiperfaji ve insülin direnci görülür. Ob farelerde beyaz yağ dokusundaki leptin üretimindeki yetmezlik nedeniyle açlık/tokluk ve enerji dengesinin periferik kontrol mekanizmalarında fonksiyon bozukluğu bulunmaktadır. Ob/ob sendromda hiperfaji esansiyeldir ve insülin rezistansı ile birlikte hipergliseminin ana sebebidir (1).

Ob farelerde diğer obez Tip-2 diyabet modellerindeki gibi nöroendokrin ve hipotalamik anomaliler de vardır. Isı üretimini sağlayan sempatik yolların aktivitesi azalmıştır (23). Gonadotropin sekresyonu bozulmuştur, fertilité azalmıştır. Hipotalamopituiter-adrenokortikal döngünün aktivitesinde artış, adrenal kortekste hipertrofi ve kortikosteron sekresyonunda artış mevcuttur. Adrenal korteks aktivitesindeki artış bu sendrom için vazgeçilmezdir, çünkü adrenelektomi ile obezite engellenebilmektedir. Nörokimyasal anomalileri açıklamada en çok üzerinde durulan nörotransmitter nöropeptid Y'dir. Yemek yemeyi güçlü bir şekilde uyarın, kahverengi

yağ dokusu aktivitesini inhibe eden, insülin sekresyonunu uyarın, kilo alma ve yağlanmaya neden olan bu nörotransmitteri eksprese eden hipotalamik nöronların aktivitesi artmıştır (1).

Diğer Obez Sendromlar

Bunlara örnek olarak Yellow obese (Ay) fare, KK fare, NZO fare, Wellesley hybrid fare, Paul Bailey Black (PBB/Ld) fare, Wistar Kyoto fatty (WKY) sıçan, ZDF sıçan ve SHR/N-cp sıçanı verilebilir. Bunların içinde ZDF ve WKY sıçanların sendromları sadece erkeklerin diyabet geliştirmesi nedeniyle diğerlerinden ayrılır. Sebebi bilinmemekle birlikte, bu durum erkeklerde hiperfajinin daha fazla olabilmesi ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Spontan hipertansif SHR sıçanı (cd mutasyonu taşıyan) ise orta derecede spontan hipertansiyon, insülin direnci, hiperinsülinemi, belirgin hipertriglisideremi ve orta derecede hiperkolesterolemi gösteren bir modeldir. Bu sıçanlarda proteinüri ve segmental mezenşial glomeruler lezyonlar da görülür ancak renal arteriyel hyalinizasyonu nadirdir (1).

İlmlü Hiperglisemili Sendromlar

Cohen Diyabetik Faresi: Özel bir soydur. Sadece bakırdan eksik sükrözdan zengin diyetle beslenince diyabet gelişir (1).

GK (Goto-kakizaki) Sıçan: Glukoz entoleransı, uzun süre orta derecede hiperinsülinemi ve insülin direnci bulunan bu model stabil olduğu için deneysel avantaj taşır. Bu modelde hücresi glukozu tanıyamaz ve glukozu bir yanıtsızlık gösterir (1,24).

Wistar WBN/Kob (erkek) Sıçanları: Yaygın pankreatik fibrozis ve hipoinsülinemi görülür. İnsülin direnci olmaksızın, özellikle yüksek enerjili diyetle beslenmeyle gelişen diyabet ile karakterize bir sendromdur (1).

II.2. Deneysel Tip-2 Diyabet Modelleri

Streptozotosin ve Aloksan: Bu ajanların yüksek dozları Tip-1 diyabet'e sebep olurken, daha düşük dozları hücre kitlesinin kısmen azalmasına sebep olur ve ketozise

eğilimli olmayan orta derecede bir insülin eksikliği oluşur. hücre toksisitesi daha spesifik olduğu için streptozotosin tercih edilen ajandır ancak bu ajana duyarlılık tür, yaş, soy, cinsiyet, nutrisyonel durum ve aktiviteye bağlı değişiklikler gösterir. Uygun doz ayarlaması güçtür, pankreas insülini normalin %10'unun altına düştüğünde orta derecede bir Tip-2 diyabet gelişir (1,2). Yüksek yağlı diyet ile STZ uygulamasının kombine edildiği Tip-2 diyabet modelleri de bulunmaktadır (25).

Bu ajanların diğer bir uygulanış şekli neonatal uygulamadır. Yaşamın ilk haftalarında uygulandığında ileriki haftalarda Tip-2 diyabet gelişir. Uygulama genelde doğumdan sonraki ilk gün, 100 mg/kg dozunda streptozotosin verilmesi şeklindedir. Uygulama zamanı ne kadar erken olursa hastalığın başlangıcı o derece geç ve hiperglisemi o derece az olur çünkü ilaç ile hasarlanan hücrelerinin çoğu ilerleyen günlerde rejene olabilmektedir (1).

Erişkin sıçanlarda Tip-2 diyabet oluşturmak için yapılmış bir diğer uygulama STZ enjeksiyonu ile parsiyel olarak koruyucu dozda nikotinamidin birlikte uygulanmasıdır. Böylece hücre kitlesinde %40 azalma ile karakterize, orta derecede ve stabil hiperglisemili bir model oluşur (26).

Parsiyel Pankreatektomi: Orta derecede, stabil bir glisemi artışı için pankreasın %90'nın çıkarılması gerekir. Teknik olarak zordur, çünkü hayvanın öldürücü insülinopeniden de korunması gerekir (1).

Hipotalamik Lezyonlar: Hipotalamus ventromedialinin elektrolitik olarak lezyonlandırılması; hiperfaji, hiperinsülinemi ve obeziteye sebep olur. Aynı hasarlanma altintiyoglukoz enjeksiyonu ile de yapılabilir. Hipotalamusun paraventriküler çekirdeğinin lezyonlandırılması da hiperfaji, obezite ve glukoz tolerans bozukluğuna yol açabilir (1).

Diyet ve Erken Malnütrisyon: Doymuş yağlar ve basit şekerlerden (sükroz gibi) zengin diyet insülin konsantrasyonlarını yükseltebilir;

yağ dokusunda depolanmayı arttırıp, insülin duyarlılığını azaltıp glukoz toleransını bozabilir. Tüm bu etkiler total enerji alınımı arttırmış olsa da görülebilir, ancak enerji alınımı da artarsa etki kuvvetlenir. Ayrıca yüksek yağlı diyet, neonatal STZ uygulaması ve hipotalamik lezyon oluşturulmuş sıçanlarda da diyabetin etkisini kuvvetlendirmektedir (1).

Sıçanlarda fetal ve neonatal periyotlarda protein malnütrisyonu hücre kitlesini azaltıp, gelecekte glukoz toleransını bozabilir. Sükrozdan zengin diyet de bu etkiyi artırır (1).

Hormonal Olarak İndüklenmiş Hiperglisemi: Glukagon ve glukokortikoidler gibi karşıt düzenleyici hormonların kullanımı endokrinopatilere benzer hiperglisemik durumlar oluşturur. Deksametazon gibi birçok glukokortikoidlerin kullanımı insülin direncini özel olarak etkileyebilir (1).

II.3. Transgenik Tip-2 Diyabet Modelleri

İnsan insülin geninin çoğul kopyalarını taşıyan transgenik farelerde kronik bazal hiperinsülinemi, glukoz bozulmuş insülin yanıtı, insülin direnci ve glukoz tolerans bozukluğu geliştiği görülmüştür. Bu hiperinsülinemi, insülin direnci ve glukoz intoleransı arasındaki ilişkiyi ortaya koyar (1).

Hras insan onkoproteini ekspres eden erkek farelerde insülin sekresyonu bozulmuş ve öldürücü diyabet gelişmiştir (27). hücrelerinde artmış kalmodulin ekspres eden farelerde de diyabet gelişmiştir.

İnsanlardaki patojenik süreçlere model olabilmesi için insan insülin reseptörü, insan GLUT-4 glukoz taşıyıcısı ve insan adacık hücre amiloid polipeptidi (IAPP) gibi transgenleri içeren fareler üzerinde çalışılmaktadır (1).

III. BOZULMUŞ GLUKOZ TOLERANSI SENDROMLARI

III.1. Şişman Zucker Fa/fa Fare

Bu kategorideki esas modeldir. Bu fare insülin direnci, hiperfaji ve hiperinsülinemi modeli olarak geniş çapta araştırılmıştır. Açlık glukoz düzeyleri minimal yükselmiştir ancak

diyabetik düzeylerde değildir. Plazma insülin düzeyleri normalden 10-20 kat yüksektir. Kahverengi yağ dokusu termogenezi azalmıştır, erken dönemde hiperfaji ve hiperinsülinemi görülür. Ob/ob fareye benzer hipotalamik ve nöroendokrin anomaliler de bulunur. Kortikosteron salgısı artmış ve fertilitite azalmıştır (1).

III.2. BHE (Bureau of Home Economics)

Sıçanlar

Özellikle yüksek yağlı diyetle beslendiklerinde bozuk glukoz toleransı ve insülin direnci gösteren diğer bir modeldir. Obez olmayan bir model olarak glukoz toleransının bozuk olması bu modeli patogenezi obezite ile diyabet arasındaki farkların incelenmesinde değerli kılar (28).

Bir diğer model de NON (non obese non insülin dependent) farelerdir. Kliniği açığa çıkmış diyabet gelişmez ancak glukoz toleransı bozuktur.

Sonuç olarak, hayvan sendromları ve hayvan modelleri insandaki diyabetes mellitus hastalığının tıpa tıp aynısı olamamaktadır. Ancak diyabetin patojenik mekanizmalarının incelenmesinde ve terapötik yaklaşımların araştırılmasında yararları tartışılmazdır.

KAYNAKLAR

- Pickup JC, Williams G. Textbook of Diabetes 2nd ed. Volume 1. Blackwell Science, Inc; 2002.
- Bell RH, Hye RJ. Animal Models of Diabetes Mellitus: Physiology and Pathology. Journal of surgical Research 1983; 35: 433-460.
- Watkins D, Cooperstein SJ, Fiel S. Studies on the selectivity of alloxan for the b-cells of the islets of Langerhans: effect of pH on the in vitro action of alloxan. J Pharmacol Exp Ther 1979; 208: 184.
- Kodama T, Iwase M, Nunoi K, Maki Y, Yoshinari M, Fujishima M. A new diabetes model induced by neonatal alloxan treatment in rats. Diabetes Research and Clinical Practice 1993; 20: 183-189.
- Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res 2001; 50: 536-546.
- Crouch R, Kimsey G, Priest DG, Sarda A, Buse MG. Effect of streptozotocin on erythrocyte and retinal superoxide dismutase. Diabetologia 1978; 15: 53.
- Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insülitis: A new model of diabetes mellitus. Science 1976; 193: 415-17.
- Brown DM, Andres GA, Hostetter TH, Mauer SM, Price R, Venkatachalam MA. Kidney complications Diabetes 1982; Vol 31, Suppl 1.
- Engerman R, Finkelstein D, Aguirre G, Diddie K, Fox R, Frank RN, et al. Ocular complications Diabetes 1982; Vol 31, Suppl 1.
- Coleman DL. Diabetes-Obesity Syndromes in Mice. Diabetes 1982; 31 Suppl. 1, 1-6,
- Like AA, Butler L, Williams RM, Appel MC, Weringer EJ, Rossini AA. Spontaneous Autoimmune Diabetes Mellitus in the BB Rat. Diabetes 1982; Vol 31, Suppl 1.
- Like AA, Appel MC, Rossini AA. Autoantibodies in the BB/W rat. Diabetes 1982; 31: 816-20.
- Malaisse WJ, Courtois P, Scott FW. Insulin-dependent diabetes and gut dysfunction: the BB rat model. Horm Metab Res 2004; 36(9): 585-94.
- Koarada S, Wu Y, Fertig N, Sass DA, Nalesnik M, Todd JA, et al. Genetic control of autoimmunity: protection from diabetes, but spontaneous autoimmune biliary disease in a nonobese diabetic congenic strain. J Immunol 2004; 173(4): 2315-23.
- Coleman DL. Other Potentially Useful Rodents as Models for the Study of Diabetes Mellitus. Diabetes 1982; 31: Suppl 1: 24-25.
- Howard CF. Nonhuman Primates as Models for the Study of Human Diabetes Mellitus. Diabetes 1982; 31: Suppl 1: 37-42
- Engerman RL, Kramer JW. Dogs with Induced or Spontaneous diabetes as Models for the Study of Human Diabetes Mellitus. Diabetes 1982; Vol 31, Suppl 1.
- Gerritsen GC. The Chinese Hamster as a Model for the Study of Diabetes Mellitus. Diabetes 1982; 31: Suppl 1: 14-21.
- Yokoi N, Namae M, Fuse M, Wang HY, Hirata T, Seino S et al. Establishment and characterization of the Komeda diabetes-prone rat as a segregating inbred strain. Exp Anim 2003; 52(4): 295-301.
- Jun HS, Yoon JW. The role of viruses in type 1 diabetes: two distinct cellular and molecular pathogenic mechanisms of virus induced diabetes in animals. Diabetologia 2001; 44(3): 271-85.
- Pujol-Borrel R, Bottazzo GF. Puzzling Diabetic transgenic mice: a lesson for human type 1 diabetes? Immunology Today 1988; Vol 9, No 10.
- Allen TJ, Cooper ME, Lan HY. Use of genetic mouse models in the study of diabetic nephropathy. Curr Diab Rep 2004; 4(6): 435-40.
- Grodsky GM, Anderson CE, Coleman DL, Craighead JE, Gerritsen GC, Hansen CT, et al. Metabolic and

- Underlying Causes of Diabetes Mellitus Diabetes 1982; 31 (Suppl 1): 44-53,
24. Desrois M, Sidell RJ, Gauguier D, King LM, Radda GK, Clarke K. Initial steps of insulin signaling and glucose transport are defective in the type 2 diabetic rat heart. Cardiovasc Res 2004; 61(2): 288-96.
25. Zhang F, Ye C, Li G, Ding W, Zhou W, Zhu H, et al. The rat model of Type 2 Diabetic Mellitus and its Glycometabolism Characters Exp. Anim 2003; 52 (5): 401-407
26. Novelli M, Pocai A, Lajoix AD, Beffy P, Bezzi D, Marchetti P ve ark Alteration of -cell constitutive NO syntase activity is involved in the abnormal insulin response to arginine in a new rat model of type 2 diabetes molecular and cellular. Endocrinology 2004; 219: 77-82.
27. Efrat S, Fleischer N, Hanahan D. Diabetes induced in male transgenic mice by expression of human hras oncoprotein in pancreatic B-cells. Mol Cel Biol 1990; 10: 1779-9-83.
28. Berdannier CD. The BHE rat: an animal model for the study of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Faseb J 1991; 5: 2139-2144.

Yazışma adresi:

Dr. Seda V. İrer
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir
Tel.: 0 232 390 40 33
E-posta: seda-vatersere@hotmail.com
