

## Review

# Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik

## Animal Models Of Diabetes Mellitus : Pathology And Mechanism Of Some Diabetogenics

AGUNG ENDRO NUGROHO\*

Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

Diterima: 07 Juli 2006. Disetujui: 26 September 2006.

### ABSTRACT

Animal models of diabetes mellitus were made and used in laboratory according to the pathology of diabetic patient and its complications. Animal models of diabetes mellitus were designed by two methods: induced method such as pancreatectomy, chemicals (diabetogenic), viruses, and spontaneous method such as BB (*bio breeding*) rats and NOD (*non-obese diabetic*) mice.

The techniques of animal models of diabetes mellitus frequently used in the research were usage of diabetogenic such as alloxan and streptozotocin. Alloxan and its reduction metabolite (dialuric acid) establish a redox cycle and form superoxide radicals, and they undergo dismutation to hydrogen peroxide. By Fenton reaction, the formation of reactive hydroxyl radicals was stimulated. These radicals with high concentration of cytosolic calcium cause rapid destruction of  $\beta$  cells. Besides, streptozotocin enters the  $\beta$  cell through a glucose transporter (GLUT2), and stimulates superoxide radicals, hydrogen peroxide and hydroxyl radicals which in turn causes rapid destruction of  $\beta$  cells. Streptozotocin also releases toxic amounts of nitric oxide that inhibits aconitase activity and contributes in DNA damage.

© 2006 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

**Key words:** animal models, diabetes mellitus, alloxan, streptozotocin.

### PENDAHULUAN

Percobaan mengenai diabetes mellitus dengan menggunakan hewan percobaan didasarkan pada patogenesis penyakit tersebut pada manusia. Penelitian menggunakan hewan percobaan yang dibuat secara patologis menderita diabetes mellitus, telah banyak penemuan mengenai bermacam-macam diagnosa, terapi maupun obat-obat yang digunakan dalam penanganan penyakit diabetes mellitus. Meskipun demikian, kondisi patologis hewan percobaan tersebut tidak sepenuhnya menggambarkan kondisi patologis secara riil pada manusia. Hal ini disebabkan karena beberapa hal antara lain : perbedaan kondisi fisiologi, perbedaan patologis dari beberapa model diabetes mellitus, ragamnya penyakit diabetes mellitus, serta adanya komplikasi yang menyertai dari penyakit tersebut. Menurut Cheta (1998), berdasarkan cara pembuatannya, hewan percobaan diabetes mellitus dibedakan menjadi dua yaitu : (1) terinduksi (*induced*), misalnya melalui pankreatomi, senyawa kimia (diabetogenik) dan virus; (2) spontan (*spontaneous*),

misalnya menggunakan tikus BB (*bio breeding*) atau mencit NOD (*non-obese diabetic*). *Spontaneous animal models* mempunyai karakteristik yang relatif sama dengan kondisi diabetes mellitus pada manusia meliputi gejala-gejala penyakit, imunologi, genetik maupun karakteristik klinik lainnya. Pada tulisan ini akan disajikan macam-macam hewan percobaan diabetes mellitus, dan selanjutnya akan ditekankan pada mekanisme molekular dua diabetogenik yang sering digunakan yaitu streptozotocin dan aloksan.

### DIABETES MELLITUS

#### Definisi

Diabetes diturunkan dari bahasa Yunani yaitu *diabētēs* yang berarti pipa air melengkung (*syphon*). Diabetes dinyatakan sebagai keadaan di mana terjadi produksi urin yang melimpah pada penderita (Lawrence, 1994). Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit yang melibatkan hormon endokrin pankreas, antara lain insulin dan glukagon. Manifestasi utamanya mencakup gangguan metabolisme lipid, karbohidrat, dan protein yang pada gilirannya merangsang kondisi hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia tersebut akan berkembang menjadi diabetes

\* Alamat Korespondensi:

Dept. Farmasi UGM, Jl. Sekip Utara, Yogyakarta 55281

Email: agungendronugroho@yahoo.com

Tel./Fax.: 0274 902660/ 0274 - 543120.

mellitus dengan berbagai macam bentuk manifestasi komplikasi (Unger dan Foster, 1992). Terdapat beberapa definisi yang dapat merepresentasikan penyebab, perantara dan wujud komplikasi tersebut. Diabetes mellitus menurut Beenen (1996) adalah suatu sindrom yang mempunyai ciri kondisi hiperglikemik kronis, gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, terkait dengan defisiensi sekresi dan/atau aksi insulin secara absolut atau relatif, sedangkan Kahn (1995) memberikan definisi diabetes mellitus sebagai sindrom kompleks yang terkait dengan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein dengan ciri-ciri hiperglikemik dan gangguan metabolisme glukosa, serta terkait secara patologis dengan komplikasi mikrovaskuler yang spesifik, penyakit mikrovaskuler sekunder pada perkembangan aterosklerosis, dan beberapa komplikasi yang lain meliputi neuropati, komplikasi dengan kehamilan, dan memperparah kondisi infeksi.

#### Patofisiologi

Diabetes mellitus dibagi menjadi 2 kategori utama berdasarkan sekresi insulin endogen untuk mencegah munculnya ketoasidosis, yaitu (1) Diabetes mellitus tergantung insulin (IDDM = *insulin dependent diabetes mellitus*) atau tipe I, dan (2) Diabetes mellitus tidak tergantung insulin (NIDDM = *non-insulin dependent diabetes mellitus*) atau tipe II (Rowland dan Bellush, 1989; Kahn, 1995).

Diabetes mellitus (DM) tipe I diperantarai oleh degenerasi sel  $\beta$  Langerhans pankreas akibat infeksi virus, pemberian senyawa toksin, diabetogenik (streptozotisin, aloksan), atau secara genetik (*wolfram syndrome*) yang mengakibatkan produksi insulin sangat rendah atau berhenti sama sekali. Hal tersebut mengakibatkan penurunan pemasukan glukosa dalam otot dan jaringan adiposa. Secara patofisiologi, penyakit ini terjadi lambat dan membutuhkan waktu yang bertahun-tahun, biasanya terjadi sejak anak-anak atau awal remaja. Penurunan berat badan merupakan ciri khas dari penderita DM I yang tidak terkontrol. Gejala yang sering mengiringi DM I yaitu poliuria, polidipsia, dan polifagia. Peningkatan volume urin terjadi disebabkan oleh diuresis osmotik (akibat peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemik) dan benda-benda keton dalam urin. Lebih lanjut, diuresis osmotik tersebut akan mengakibatkan kondisi dehidrasi, kelaparan dan shock. Gejala haus dan lapar merupakan akibat dari kehilangan cairan dan ketidakmampuan tubuh menggunakan nutrisi (Lawrence, 1994; Karam *et al.*, 1996).

Pada DM I, kadar glukosa darah sangat tinggi, tetapi tubuh tidak dapat memanfaatkannya secara optimal untuk membentuk energi. Oleh karena itu, energi diperoleh melalui peningkatan katabolisme protein dan lemak. Seiring dengan kondisi tersebut, terjadi perangsangan lipolisis serta peningkatan kadar asam lemak bebas dan gliserol darah. Dalam hal ini terjadi peningkatan produksi asetil-KoA oleh hati, yang pada gilirannya diubah menjadi asam asetoasetat dan pada akhirnya direduksi menjadi asam  $\beta$ -hidroksibutirat atau mengalami dekarboksilasi menjadi aseton. Pada kondisi normal, konsentrasi benda-benda keton relatif rendah karena insulin dapat menstimulasi sintesis asam lemak dan menghambat lipolisis. Hanya dibutuhkan kadar insulin yang kecil untuk menghambat lipolisis (Unger dan Foster, 1992; Lawrence, 1994).

Pada kondisi DM II, insulin masih cukup untuk mencegah terjadinya benda-benda keton sehingga jarang dijumpai ketosis. Namun demikian, koma hiperosmolar non-ketotik dapat terjadi. DM II tersebut cenderung terjadi pada

individu usia lanjut dan biasanya didahului oleh keadaan sakit atau stres yang membutuhkan kadar insulin tinggi. Pada DM II, kehadiran insulin tidak cukup untuk mencegah glukosuria. Seiring dengan itu, terjadi kehilangan cairan dan elektrolit tubuh yang diikuti dengan dehidrasi berat. Lebih lanjut, terjadi penurunan ekskresi glukosa dan pada akhirnya menghasilkan peningkatan osmolaritas serum (hiperosmolaritas) dan glukosa darah (hiperglikemik) (Unger dan Foster, 1992; Lawrence, 1994; Kahn, 1995).

Secara patofisiologi, DM tipe II disebabkan karena dua hal yaitu (1) penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin, peristiwa tersebut dinamakan resistensi insulin, dan (2) Penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respon terhadap beban glukosa. Sebagian besar DM tipe II diawali dengan kegemukan karena kelebihan makan. Sebagai kompensasi, sel  $\beta$  pankreas merespon dengan mensekresi insulin lebih banyak sehingga kadar insulin meningkat (hiperinsulinemia). Konsentrasi insulin yang tinggi mengakibatkan reseptor insulin berupaya melakukan pengaturan sendiri (*self regulation*) dengan menurunkan jumlah reseptor atau *down regulation*. Hal ini membawa dampak pada penurunan respon reseptornya dan lebih lanjut mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Di lain pihak, kondisi hiperinsulinemia juga dapat mengakibatkan desensitisasi reseptor insulin pada tahap postreseptor, yaitu penurunan aktivasi kinase reseptor, translokasi *glucose transporter* dan aktivasi *glycogen synthase*. Kejadian ini mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Dua kejadian tersebut terjadi pada permulaan proses terjadinya DM tipe II. Secara patologis, pada permulaan DM tipe II terjadi peningkatan kadar glukosa plasma dibanding normal, namun masih diiringi dengan sekresi insulin yang berlebihan (hiperinsulinemia). Hal tersebut mengindikasikan telah terjadi defek pada reseptor maupun postreseptor insulin. Pada resistensi insulin, terjadi peningkatan produksi glukosa dan penurunan penggunaan glukosa sehingga mengakibatkan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemik). Seiring dengan kejadian tersebut, sel  $\beta$  pankreas mengalami adaptasi diri sehingga responnya untuk mensekresi insulin menjadi kurang sensitif, dan pada akhirnya membawa akibat pada defisiensi insulin. Sedangkan pada DM tipe II akhir telah terjadi penurunan kadar insulin plasma akibat penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresi insulin, dan diiringi dengan peningkatan kadar glukosa plasma dibandingkan normal. Pada penderita DM II, pemberian obat-obat oral antidiabetes sulfonilurea masih dapat merangsang kemampuan sel  $\beta$  Langerhans pankreas untuk mensekresi insulin (Unger dan Foster, 1992; Lawrence, 1994; Kahn, 1995).

#### HEWAN PERCOBAAN HIPERGLIKEMIA

Hewan percobaan diabetes mellitus yang pertama kali digunakan adalah hewan hiperglikemia. Hiperglikemia adalah kondisi kadar gula darah (*glukosa*) yang tinggi. Kondisi hiperglikemia pada hewan pertama kali dilakukan secara sederhana dengan cara pengambilan organ pankreas secara menyeluruh atau sebagian, cara ini kemudian dikenal dengan nama "pankreatektomi" (Marraffino, 1950). Pada penelitian berikutnya, metode tersebut sudah jarang digunakan karena secara menyeluruh kondisi patologi yang dihasilkan tidak secara kuat mencerminkan kondisi patologi pada manusia.

Meskipun demikian, dengan tujuan penelitian tertentu beberapa peneliti sampai sekarang masih menggunakan metode tersebut (Fernandez *et al.*, 2006; Ani *et al.*, 2006).

Sebagai pengganti dari metode tersebut, para peneliti menggunakan metode tanpa pembedahan (*non-surgical methods*) dalam menghasilkan hewan percobaan hiperglikemia. Metode tanpa pembedahan pertama kali dikenalkan adalah pemberian diabetogenik. Beberapa diabetogenik yang sering digunakan adalah streptozotisin alloxan, vacor, dithizone, 8-hidroksikuinolon (Covington *et al.*, 1993; Rees dan Alcolado, 2005). Obat hipertensi dengan mekanisme vasodilator yaitu diaksosid yang mempunyai efek samping diabetes mellitus, oleh beberapa peneliti juga digunakan sebagai diabetogenik (Ferner, 1992). Perusakan pankreas yang diinduksi senyawa toksin, dapat menghasilkan beberapa kondisi komplikasi seperti pada manusia. Pada tikus betina dapat digunakan untuk menghasilkan kondisi diabetes gestational.

### HEWAN PERCOBAAN DENGAN GLIKOSURIA

Inovasi hewan percobaan diabetes mellitus juga mengarah pada desain hewan percobaan dengan gejala tertentu dari penyakit tersebut, yaitu glikosuria. Phlorizin yang diinjeksi secara subkutan dapat mengikat transporter glukosa/ $\text{Na}^+$  dalam tubulus proksimal ginjal dan menghambat reabsorpsi glukosa. Hal tersebut mengakibatkan glukosa, yang secara normal ketika melintasi ginjal mengalami reabsorpsi sempurna, dapat melintasi ginjal dan dapat diekskresikan bersama urin (glikosuria) (Rees dan Alcolado, 2005).

### HEWAN PERCOBAAN DIABETES TIPE 1

Patogenesis pada DM tipe 1 yaitu kerusakan spesifik pada sel  $\beta$  Langerhans yang mengakibatkan terjadinya penurunan drastis pada sekresi insulin, biasanya kerusakan tersebut diperantarai imunologi. Senyawa toksin seperti streptozotisin, aloksan, asam urat, asam dehidroaskorbat, asam dialurat, asam ksanturenat dapat mengakibatkan kerusakan sel  $\beta$  Langerhans. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan untuk membuat hewan uji DM tipe 1 (Wilson dan LeDoux, 1989; Rowland dan Bellush, 1989).

Streptozotisin merupakan derivat nitrosuria yang diisolasi dari *Streptomyces achromogenes* yang mempunyai aktivitas anti-neoplasma dan antibiotik spektrum luas. Streptozotisin dapat secara langsung merusak masa kritis sel  $\beta$  Langerhans atau menimbulkan proses autoimun terhadap sel  $\beta$  sehingga lebih banyak digunakan dalam pembuatan hewan uji DM. DM tipe 1 juga dapat dirancang pada hewan uji melalui pankreatektomi total ataupun secara genetik sehingga mengakibatkan disfungsi pankreas dalam mensekresi insulin (Rowland dan Bellush, 1989; Rees dan Alcolado, 2005).

*Spontaneous animal models* atau model tikus DM tipe 1 secara genetik antara lain tikus LETL (Long Evans Tokushima Lean), tikus tipe C57 BL/6J, tikus Wistar tipe *bio-breeding* (BB), mencit atau tikus diabetes *non-obese* (NOD), kelinci New Zealand putih, anjing tipe *keeshond* dan hamster Cina (Huijberts, 1994; Rowland dan Bellush, 1989; Rees dan Alcolado, 2005). Pada tikus diabetes *non-obese* (NOD), kondisi sel-sel Langerhans pankreas mengalami kerusakan (nekrosis, vakuolisasi) apabila dibandingkan

tikus kontrol (normal). Kerusakan sel tersebut menunjukkan terjadi kerusakan/degradasi pada sel  $\beta$  Langerhans pankreas. Pada kondisi tersebut, limfosit dapat merembes ke Langerhans pankreas. Hal itu mengindikasikan bahwa telah terjadi proses autoimun pada sel  $\beta$  Langerhans pankreas tersebut. Kejadian terakhir tersebut mirip dengan patofisiologi DM 1 pada manusia.

### HEWAN PERCOBAAN DIABETES TIPE 2

DM tipe 2 merupakan kelompok penyakit dengan karakteristik terjadinya resistensi insulin dan gangguan sel  $\beta$  Langerhans pankreas dalam mensekresi insulin. Hewan uji DM tipe 2 dapat dibuat dengan beberapa cara yaitu : pemberian nutrisi yang dapat menstimulasi resistensi insulin, pankreatektomi parsial, pemberian senyawa diabetogenik, ataupun secara genetik. Dengan perlakuan tersebut mengakibatkan terjadinya (1) penurunan respon jaringan perifer terhadap aksi insulin atau malfungsi dari reseptor insulin, (2) penurunan kemampuan sel  $\beta$  Langerhans pankreas dalam menstimulasi insulin. Kedua hal tersebut mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah seperti pada kondisi DM tipe 2. Contoh hewan uji DM tipe II adalah tikus Ob/Ob (defisiensi leptin), tikus db/db (defisiensi leptin), tikus Zucker (*fa/fa*) *obese*, tikus *Diabetic Torri*, tikus gurun *obese*, mencit tipe C57 BKs db, mencit tipe C57 BL ob, mencit tipe KK & KK<sup>ay</sup>, tikus tipe Goto-Kakizaki (GK), tikus Nagoya-Shibata-Yasuda (NSY) dan *Psammomomys gerbils*. Pemberian makanan kaya akan fruktosa pada tikus selama lebih dari 2 bulan akan menginduksi resistensi insulin. Dengan diabetogenik, pemberian senyawa toksin streptozotisin dosis 90 mg/kg BB secara i.p. pada tikus neonatal akan menginduksi DM tipe 2 pada usia 6 minggu atau lebih. (Shafrir dan Mosthaf, 1999; Harvey dan Ashford, 1998; Huijberts, 1994; Rowland dan Bellush, 1989).

Obesitas maupun resistensi insulin sebagai kompensasinya merupakan tanda-tanda yang dapat mengarah pada kondisi diabetes mellitus tipe 2. Pada kondisi tersebut sekresi insulin adalah normal bahkan cenderung meningkat (hiperinsulinemia). Kondisi tersebut mengakibatkan desensitisasi reseptor insulin pada tahap postreseptor lebih lanjut mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Tikus Ob/Ob dan tikus Zucker (*fa/fa*) *obese* merupakan contoh untuk percobaan dengan kondisi di atas. Sedangkan pada tikus db/db dan tikus *Psammomomys gerbils*, kondisi obesitas berkembang secara cepat kondisi hiperglikemia sehingga mengakibatkan sel  $\beta$  Langerhans pankreas dalam menstimulasi tidak mampu mencukupi kebutuhan terhadap kondisi hiperglikemia tersebut (Shafrir dan Mosthaf, 1999; Harvey dan Ashford, 1998; Rees dan Alcolado, 2005).

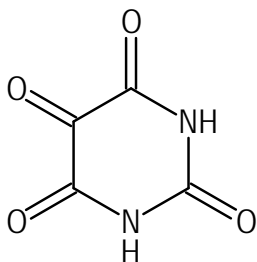
Pada tikus tipe Goto-Kakizaki (GK), pada kondisi dewasa diperoleh kondisi hiperglikemia yang stabil yang disebabkan karena baik gangguan sekresi insulin maupun resistensi insulin. Pada kondisi beberapa setelah lahir, tikus GK mempunyai jumlah sel Langerhans yang kurang. Beberapa komplikasi yang mirip pada manusia juga dijumpai pada tikus GK dewasa antara lain : terjadi lesi pada ginjal, perubahan struktur syaraf perifer, dan abnormalitas retina mata. Mirip dengan tikus GK, tikus Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) juga mengalami kondisi resistensi tapi kondisinya lebih lunak (toleransi glukosa). Kondisi seperti ini cocok untuk percobaan uji aktivitas obat dalam mencegah kondisi

diabetes pada tahap toleransi glukosa (Rees dan Alcolado, 2005).

### MEKANISME AKSI DIABETOGENIK

#### Aloksan

Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6-dioksiasil) merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil (Gambar 1). Waktu paro pada suhu 37°C dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Sebagai diabetogenik, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Szkudelski, 2001; Rees dan Alcolado, 2005).



Gambar 1. Struktur kimia aloksan

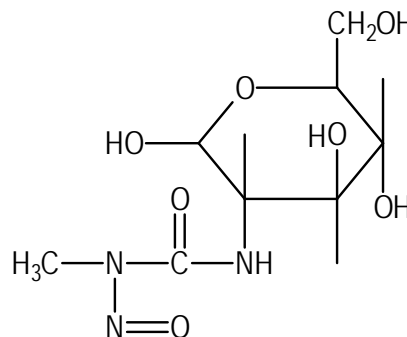
Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel  $\beta$  Langerhans. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Pembentukan oksigen reaktif diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel  $\beta$  Langerhans. Aloksan mempunyai aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus SH, glutathion tereduksi (GSH), sistein dan senyawa sulfhidril terikat protein (misalnya *SH-containing enzyme*). Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Reaksi antara aloksan dengan asam dialurat merupakan proses yang diperantarai oleh radikal aloksan intermediet ( $HA^{\cdot}$ ) dan pembentukan "compound 305". Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin, dan mereduksi menjadi ion ferro. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-ribosylation*, proses yang terlibat pada *DNA repair*. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksi yang sangat reaktif melalui reaksi fenton (Wilson *et al.*, 1984; Szkudelski, 2001; Walde *et al.*, 2002).

Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel  $\beta$  Langerhans pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian : influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasinya yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium akibat aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel  $\beta$  Langerhans, lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah

masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut di atas, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Szkudelski, 2001; Walde *et al.*, 2002).

#### Streptozotosin

Streptozotosin (STZ) atau 2-deoksi-2-[3-(metil-3-nitrosoareido)-*D*-gluko piranose] diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji. Struktur kimia streptozotosin dapat dilihat pada gambar 2. Dosis yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 untuk intravena adalah 40-60 mg/kg, sedangkan dosis intraperitoneal adalah lebih dari 40 mg/kg BB. STZ juga dapat diberikan secara berulang, untuk menginduksi DM tipe 1 yang diperantarai aktivasi sistem imun. Untuk menginduksi DM tipe 2, STZ diberikan intravena atau intraperitoneal dengan dosis 100 mg/kg BB pada tikus yang berumur 2 hari kelahiran, pada 8-10 minggu tikus tersebut mengalami gangguan respon terhadap glukosa dan sensitivitas sel  $\beta$  terhadap glukosa. Di lain pihak, sel  $\alpha$  dan  $\delta$  tidak dipengaruhi secara signifikan oleh pemberian streptozotosin pada neonatal tersebut sehingga tidak membawa dampak pada perubahan glukagon dan somatostatin. Patofisiologi tersebut identik pada DM tipe II (Bonner-Weir *et al.*, 1981; Szkudelski, 2001; Jackerott *et al.*, 2006; Tormo *et al.*, 2006).



Gambar 2. Struktur kimia streptozotosin

STZ menembus sel  $\beta$  Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasilkan perubahan DNA sel  $\beta$  pankreas. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosoareida mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. STZ merupakan donor NO (*nitric oxide*) yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel tersebut melalui peningkatan aktivitas guanil siklase dan pembentukan cGMP. NO dihasilkan sewaktu STZ mengalami metabolisme dalam sel. Selain itu, STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif yang mempunyai peran tinggi dalam kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Pembentukan anion superoksida karena aksi STZ dalam mitokondria dan peningkatan aktivitas xantin oksidase. Dalam hal ini, STZ menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Produksi ATP mitokondria yang terbatas selanjutnya mengakibatkan pengurangan secara drastis nukleotida sel  $\beta$  pankreas (Akpan *et al.*, 1987; Szkudelski, 2001).

Peningkatan defosforilasi ATP akan memacu peningkatan substrat untuk enzim xantin oksidase (sel  $\beta$  pankreas mempunyai aktivitas tinggi terhadap enzim ini), lebih lanjut meningkatkan produksi asam urat. Xantin oksidase mengkatalisis reaksi pembentukan anion superoksida aktif. Dari pembangkitan anion superoksida, terbentuk hidrogen peroksida dan radikal superoksida. NO dan oksigen reaktif tersebut adalah penyebab utama kerusakan sel  $\beta$  pankreas.

Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian mengakibatkan penekanan  $\text{NAD}^+$  seluler, selanjutnya penurunan jumlah ATP, dan akhirnya terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin. Selain itu, kalsium berlebih yang kemungkinan dapat menginduksi nekrosis, tidak mempunyai peran yang signifikan pada nekrosis yang diinduksi STZ (Akpan *et al.*, 1987; Szkudelski, 2001).

### KESIMPULAN

Hewan percobaan diabetes mellitus tipe 1 dan 2 dapat dibuat melalui beberapa cara yaitu pankreatomi; induksi senyawa kimia (diabetogenik) misalnya dengan streptozotocin, aloksan asam dehidroaskorbat, asam dialurat, asam ksanturenat; induksi virus, ataupun secara genetika.

Mekanisme aloksan sebagai diabetogenik diperantarai oleh oksidasi senyawa dengan gugus SH, penghambatan glukokinase, pembangkitan radikal bebas dan gangguan homeostatis ion kalsium intraseluler. Mekanisme streptozotocin diperantarai terutama oleh pembentukan NO dan pembangkitan radikal bebas.

### DAFTAR PUSTAKA

- Akpan, J.O., Wright, P.H., Dulin, W.E., 1987, A comparison of the effects of streptozotocin, N-methylnitrosourea and alloxan on isolated islets of Langerhans, *Diabetes & Metabolism*, **13**(2):122-128.
- Ani, D. V., Savitha, B., Paulose, C.S., 2006, Decreased alpha1-adrenergic receptor binding in the cerebral cortex and brain stem during pancreatic regeneration in rats, *Neurochemical Research*, **31**(6):727-34.
- Beenen, H.M., 1996, Diabetes Mellitus and Hypertension, General Introduction, *Dissertation*, Universiteit Van Amsterdam, Netherlands.
- Bonner-Weir, S., Trent, D.F., Honey, R.N., and Weir, G.C., 1981, Responses of Neonatal Rat Islets to Streptozotocin : Limited  $\beta$ -Cell Regeneration and Hyperglycemia, *Diabetes*, **30**: 64-69.
- Cheta, D., 1998, Animal models of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus, *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, **11**(1):11-19.
- Covington, D.S., Xue, H., Pizzini, R., Lally, K.P., Andrassy, R.J., 1993, Streptozotocin and alloxan are comparable agents in the diabetic model of impaired wound healing, *Diabetes Research*, **23**(2):47-53.
- Fernandez, E., Martin, M.A., Fajardo, S., Bailbe, D., Gangnerau, M.N., Portha, B., Escriva, F., Serradas, P., Alvarez, C., 2006, Undernutrition does not alter the activation of beta-cell neogenesis and replication in adult rats after partial pancreatectomy, *American Journal Of Physiology-Endocrinology & Metabolism*, **291**(5):E913-21.
- Ferner, R.E., 1992, Drug-induced diabetes, *Baillieres Clinical Endocrinology & Metabolism*, **6**(4):849-866.
- Harvey, J. and Ashford, M.L., 1998, Insulin Occludes Leptin Activation of ATP-Sensitive  $\text{K}^+$  Channels in Rat CRI-G1 Insulin Secretion Cells, *Journal of Physiology*, **511**(Pt 3) : 695-705.
- Huijberts, M.S.P., 1994, Vascular Dysfunction In Experimental Diabetes, *Dissertation*, Universitaire Pers Maastricht, Netherlands.
- Jackerott, M., Moldrup, A., Thams, P., Galsgaard, E.D., Knudsen, J., Lee, Y.C., Nielsen, J.H., 2006, STAT5 activity in pancreatic beta-cells influences the severity of diabetes in animal models of type 1 and 2 diabetes, *Diabetes*, **55**(10):2705-2712.
- Kahn, C.R. 1995, Disorder of Fuel Metabolism, In Becker, K.L. (Ed.), *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 2<sup>nd</sup> Ed., 1148-54.
- Karam, J.H., Patricia, P.R., Salber, and Forsham, P.H., 1996, Pancreatic Hormones and Diabetes Mellitus, In Greenspan, F.S., *Basic and Clinical Endocrinology*, 3<sup>rd</sup> Ed, 593-649, Prentice-Hall International Inc., London.
- Lawrence, J.C., 1994, Insulin and Oral Hypoglycemic Agents, In Brody, T.M., Larner, J., Minneman, K.P., and Neu, H.C. (Ed.), *Human Pharmacology*, 2<sup>nd</sup> Ed., 523-539, Mosby, London.
- Marruffino, B., 1950, Total pancreatectomy for adenocarcinoma of the pancreas, *New York State Journal of Medicine*, **50**(9):1124-7.
- Rees, D. A and Alcolado, J. C., 2005, Animal models of diabetes mellitus, *Diabetic Medicine*, **22** : 359-370.
- Rowland, N.E. and Bellush, L.L., 1989, Diabetes Mellitus : Stress. Neurochemistry and Behavior, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **13** (4) : 199-206.
- Shafir, E., Ziv, E. and Mosthaf, L., 1999, Nutritionally Induced Insulin Resistance and Receptor Defect Leading to  $\beta$ -Cell Failure in Animal Models, *Annals of The New York Academy of Sciences*, **892** : 223-46.
- Szkudelski, T., 2001, The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In  $\beta$  Cells Of The Rat Pancreas, *Physiology Research*, **50**: 536-54.
- Tormo, M.A., Gil-Exojo, I., Romero de Tejada A., Campillo, J.E., 2006, White bean amylase inhibitor administered orally reduces glycaemia in type 2 diabetic rats, *British Journal of Nutrition*, **96**(3):539-544.
- Unger, R.H. and Foster, D.W., 1992, Diabetes Mellitus, In Wilson, J.D. and Foster, D.W., *Endocrinology*, 1255-1317, W.B. Saunders Company, A Division of Harcourt Brace and Company, London.
- Walde, S.S., Dohle, C., Schott-Ohly, P., Gleichmann, H., 2002, Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice, *Life Sciences*, **71**, 1681-1694.
- Wilson, G.L. and LeDoux, S.P., 1989, The Role of Chemical in The Etiology of Diabetes Mellitus, *Toxicologic Pathology*, **17** : 357 -3 62.
- Wilson, G.L., Patton, N.J., McCord, J.M., Mullins, D.W., Mossman, B.T., 1984, Mechanisms of streptozotocin- and alloxan-induced damage in rat  $\beta$  cells, *Diabetologia*, **27**(6):587-591.