การชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลอง

Diabetic Induction in Experimental Mouse Model

นิพนธ์ปริทัศน์ | Review Article

กนกวรรณ จารุกำจร[1]* ทินกร เหล่าออง[2] และ วรัญญา จตุพรประเสริฐ[3]

[1] สำนักงานวิชาการ สาขาวิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[2] นักศึกษาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[3] นักศึกษาเภสัชศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิจัยและพัฒนาเภสัชภัณฑ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* **ติดต่อผู้นิพนธ์:** kanok_ja@kku.ac.th

วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2554;6(3):229-239

Kanokwan Jarukamjorn[1]*, Thinnakorn Lao-ong[2], and Waranya Chatuphonprasert[3]

[1] Academic Office for Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand
[2] Graduate student (Master Degree), Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand
[3] Graduate student (Doctoral Degree), Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand

* **Corresponding author:** kanok_ja@kku.ac.th

Thai Pharmaceutical and Health Science Journal 2011;6(3):229-239

บทคัดย่อ

โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus) เป็นโรคที่ส่งผลกระทบด้านลบต่อคุณภาพชีวิต เศรษฐกิจและสังคม ปัจจุบันจำนวนผู้ป่วยทั่วโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงมีการมุ่งพัฒนายาใหม่เพื่อรักษาเบาหวานอย่างต่อเนื่อง ขั้นตอนที่สำคัญในการพัฒนายาคือ การศึกษากลไกการออกฤทธิ์และความเป็นพิษของยาในสัตว์ทดลอง เพื่อการประเมินความปลอดภัยก่อนการทดสอบต่อไปในมนุษย์ ดังนั้นการชักนำหนูทดลองให้เกิดภาวะเบาหวานที่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการพัฒนายา จึงเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญ การศึกษาที่ผ่านมานิยมใช้สารเคมี อาทิ streptozotocin, alloxan หรืออาจพบสารเคมีอื่นบ้าง เช่น bromocriptine เป็นต้น ในขนาดและจำนวนครั้งที่แตกต่างกันตั้งแต่ 10-200 mg/kg ขึ้นกับวิธีการบริหารยาและสายพันธุ์หนูทดลอง เพื่อชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ในขณะที่การชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 อาจใช้เฉพาะการให้อาหารที่มีส่วนประกอบของไขมันในปริมาณสูง เพื่อชักนำให้หนูทดลองเกิดภาวะอ้วน และภาวะดื้ออินซูลิน หรือในบางกรณีอาจใช้อาหารไขมันสูงร่วมกับการให้สารเคมีดังกล่าวด้วย นอกจากวิธีการที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังมีการพัฒนาวิธีต่างๆ เพื่อชักนำภาวะเบาหวานให้ใกล้เคียงกับที่เกิดขึ้นในมนุษย์ ได้แก่ การพัฒนาพันธุกรรมหนูทดลองเป็นสายพันธุ์ที่มีภาวะเบาหวาน การชักนำด้วยไวรัสเพื่อกระตุ้นให้เกิดภาวะต้านภูมิตัวเอง เป็นต้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่า การชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองที่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการพัฒนายาหรือสมุนไพรที่ศึกษาย่อมนำมาซึ่งผลการทดลองที่เชื่อถือได้ และองค์ความรู้ต่อการพัฒนายารักษาโรคเบาหวานต่อไป

คำสำคัญ: โรคเบาหวาน, การชักนำภาวะเบาหวาน, streptozotocin

Abstract

Diabetes Mellitus (DM) is a chronic disease negatively influencing quality of life and economic status of a patient and society According to rapid increase in numbers of DM patients worldwide; there is an extensive effort to develop a new anti-diabetic drug. One important step in a new drug development is to study pharmacological and toxicological activities in the experimental animal prior subsequently performing risk-benefit assessment in human volunteers. Hence, a diabetic mouse model which possessed a corresponded DM condition to the objective of drug development is the first important necessity. Several pevious studies normally employed chemical agents such as streptozotocin, alloxan, or bromocriptine with different dose ranged from 10-200 mg/kg depending on route of administration and experimental animal species to induce DM type I. Likewise, induction of DM type II related to high fat-diet feeding and/or co-administration of the chemical agent to predispose obesity and insulin tolerance condition in animals. Besides DM induction using the chemical agent or high fat-diet feeding, a genetic modifying and viral infected techniques have been introduced to produce a specific DM animal species. Therefore, a DM experimental animal model optimally supporting a drug development objective leads to reliability and valuable knowledge of its outcome.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic induction, streptozotocin

บทนำ

การเปลี่ยนแปลงทางสังคม สิ่งแวดล้อมและพฤติกรรมการบริโภคของมนุษย์ในปัจจุบัน เป็นสาเหตุให้จำนวนผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวานทุกประเทศทั่วโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โรคเบาหวานแม้จะไม่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตอย่างฉับพลันแต่ก็บั่นทอนคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยและครอบครัว ทั้งยังส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น ผู้ป่วยต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาและเสียเวลาในการประกอบอาชีพ ประเทศชาติต้องเสียงบประมาณทางด้านสาธารณสุขเพื่อการดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวานมากขึ้น การพัฒนาองค์ความรู้ที่เกี่ยวกับโรคเบาหวานจึงเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นมากขึ้นควบคู่กับสถานการณ์ของโรคที่เพิ่มความรุนแรงขึ้น แนวทางหนึ่งที่สำคัญคือการพัฒนายาเพื่อรักษาโรคเบาหวาน ซึ่งปัจจุบันมีทั้งการพัฒนายาที่สังเคราะห์จากสารเคมีภายในห้องปฏิบัติการหรือสารสกัดจากธรรมชาติ การที่จะนำสารดังกล่าวไปใช้ในการรักษาโรคเพื่อให้เกิดประโยชน์ได้จริงจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนการทดสอบในสัตว์ทดลองหรือในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองเพื่อใช้เป็นโมเดลในการศึกษาโรคเบาหวาน จึงเป็นแนวทางที่นักวิจัยพยายามคิดค้นและพัฒนา เพื่อให้ได้หนูทดลองที่

มีภาวะเบาหวานที่มีลักษณะสอดคล้องกับการศึกษาวิจัย ปัจจุบันการคิดค้นและพัฒนาการชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองเพื่อใช้เป็นโมเดลในการศึกษามีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากสามารถใช้เป็นโมเดลแทนการศึกษาในมนุษย์โดยตรง จากการศึกษาในมนุษย์โดยตรงที่มีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น ความปลอดภัยของอาสาสมัคร จรรยาบรรณการวิจัยในมนุษย์และศีลธรรม เป็นต้น การทดลองในหนูทดลองยังสามารถลดข้อจำกัดซึ่งไม่สามารถกระทำได้ในมนุษย์ เช่น สามารถศึกษาตัวอย่างอวัยวะจากหนูทดลองได้ ในกรณีที่ต้องการศึกษาผลของยาหรือสารต่ออวัยวะต่างๆ เช่น สมอง ตับ หรือไต เป็นต้น ดังนั้นจะเห็นว่า การศึกษาเกี่ยวกับการชักนำภาวะเบาหวานในสัตว์ทดลอง เป็นการศึกษาในลำดับต้นๆ และมีความสำคัญอย่างยิ่ง ก่อนที่จะนำไปสู่การพัฒนายาเพื่อการรักษาโรคเบาหวานต่อไป

ลักษณะและชนิดโรคเบาหวาน

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของกระบวนการเมทาบอลิซึมในร่างกาย ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) ซึ่งมีสาเหตุมาจากเซลล์สร้างอินซูลินในตับอ่อนซึ่งสร้างอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดถูกทำลาย ทำให้ร่างกายหยุดการหลั่งอินซูลินหรือมีการหลั่งอินซูลินน้อยลง หรืออาจเกิดจากอินซูลินที่หลั่งออกมาไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ เนื่องจากมีภาวะดื้อต่ออินซูลิน ผลกระทบของโรคเบาหวานต่อร่างกายในระยะยาวส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ อาทิเช่น ภาวะของการมองเห็นที่แย่ลง ภาวะไตวาย โรคทางระบบประสาทและโรคหลอดเลือดหัวใจ[1]เป็นต้น

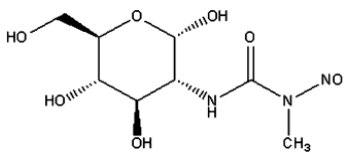
โรคเบาหวานสามารถจำแนกเป็น 2 ชนิด[2]ได้แก่

โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 diabetes, insulin-dependent diabetes mellitus หรือ IDDM) เป็นชนิดที่พบได้น้อย สาเหตุเกิดจากภูมิต้านทานของร่างกายมีการทำลายเบตาเซลล์ (ß-cell) ซึ่งเป็นเซลล์สร้างอินซูลินในตับอ่อน หรืออาจเรียกว่า โรคต้านภูมิตัวเอง (autoimmune) ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับการรักษาโดยการฉีดอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด เนื่องจากอาจเกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเกินไปหรืออาจเกิดภาวะเลือดเป็นกรดจากสารคีโตน (ketoacidosis) ทำให้หมดสติและเสียชีวิต โรคเบาหวานชนิดที่ 1 มักพบในผู้ที่มีอายุน้อยและมีรูปร่างผอม

โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes, non-insulin-dependent diabetes mellitus หรือ NIDDM) เป็นชนิดที่พบมาก สาเหตุที่แท้จริงยังไม่ทราบแน่ชัดแต่เชื่อว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับพันธุกรรม ผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวานชนิดนี้ร่างกายยังคงมีการสร้างและหลั่งอินซูลิน แต่อินซูลินที่หลั่งออกมาไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ หรือเกิดภาวะดื้ออินซูลิน (insulin resistance)[3] โรคเบาหวานชนิดนี้สามารถรักษาโดยการควบคุมอาหารหรือรับประทานยาร่วมด้วย ในรายที่ป่วยเป็นระยะเวลานานอาจมีการสร้างอินซูลินลดลง จำเป็นต้องได้รับการฉีดอินซูลินทดแทนเพิ่มเติมด้วย โรคเบาหวานชนิดที่ 2 นี้มักพบในผู้สูงอายุ ผู้ที่มีภาวะน้ำหนักตัวมาก หรือขาดการออกกำลังกาย โดยเฉพาะผู้ที่มีประวัติบุคคลในครอบครัวป่วยด้วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ร่วมด้วย

แนวทางการพัฒนาสัตว์ทดลองเป็นโมเดลศึกษายารักษาโรคเบาหวาน

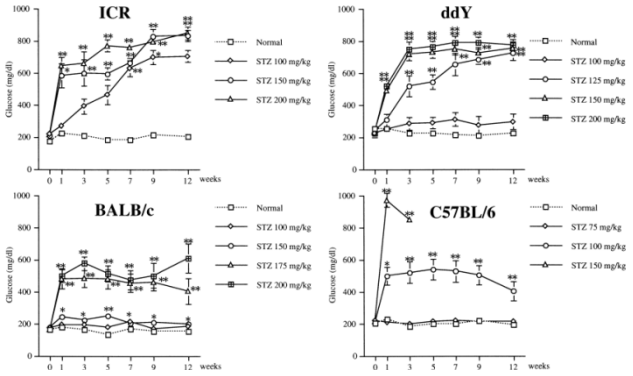
การพัฒนายาในขั้นตอนของการทดสอบก่อนนำไปใช้ในมนุษย์จำเป็นต้องศึกษาให้ได้ผลการทดลองที่ชัดเจนในสัตว์ทดลองก่อน โดยทั่วไปนิยมศึกษาในสัตว์ฟันแทะและเลี้ยงลูกด้วยน้ำนมอย่างน้อย 2 สปีชีส์[4] เช่น หนูเมาส์หรือหนูแรท และกระต่าย เพื่อเป็นการทดสอบฤทธิ์ของยาที่มีผลต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย คุณสมบัติและการเปลี่ยนแปลงของยาเมื่อเข้าสู่ร่างกาย รวมไปถึงความเป็นพิษทั่วไปที่แสดงออกในร่างกายของสัตว์ทดลอง ผลที่ได้จากการทดสอบในขั้นตอนนี้จะใช้ประเมินว่ายามีความปลอดภัยเพียงพอที่จะเริ่มการทดสอบทางคลินิกในมนุษย์ต่อไปหรือไม่ ดังนั้นนักวิจัยจึงมีความพยายามที่จะคัดเลือกชนิด และสายพันธุ์สัตว์ทดลองให้มีความเหมาะสมกับการศึกษามากที่สุด รวมถึงความพยายามที่จะชักนำให้สัตว์ทดลองเกิดภาวะของโรคที่มีลักษณะสอดคล้องกับงานที่ศึกษาทดลอง เพื่อให้ได้ข้อมูลและงานวิจัยที่น่าเชื่อถือและสามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้จริง สำหรับการรายงานผลการศึกษาภาวะของโรคเบาหวานในสัตว์ทดลองที่มีการศึกษาและรายงานไว้ นิยมใช้หนูเป็นโมเดลในการทดลอง ซึ่งมีการรายงานไว้หลายชนิดและหลายสายพันธุ์แตกต่างกันตามลักษณะของงานวิจัย และการชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานในหนูทดลองก็มีวิธีการแตกต่างกันตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา เช่น การใช้สารเคมีในการชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานก็จะมีความแตกต่างกันตามชนิดและขนาดของสารเคมี ทั้งยังขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของหนูทดลองด้วย สำหรับสารเคมีที่นิยมใช้ในการชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานในหนูทดลองและมีการรายงานไว้มากที่สุดคือ streptozotocin (STZ) (รูปที่ 1)[5] ซึ่งเป็นสารประกอบ glucosamine-nitrosourea จากธรรมชาติ เมื่อเข้าสู่ร่างกายของหนูทดลองจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอ เช่น การแตกหักของสายดีเอ็นเอและพบบริเวณที่ไวต่อการเสียสภาพด้วยด่าง (alkali-labile sites) ของสายดีเอ็นเอในหนูทดลองที่ได้รับ STZ[6]



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ streptozotocin[5]

กลไกที่ STZ ชักนำให้เกิดโรคเบาหวานเชื่อว่าเกี่ยวข้องกับการเกิดอนุมูลอิสระเช่น superoxide, hydrogen peroxide และ nitric oxide เป็นต้น สาร STZ มีกลไกการเข้าสู่เซลล์เช่นเดียวกับ

การนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ โดยมีโปรตีนตัวรับชื่อ Glucose transporter 2 (GLUT2) เป็นตัวนำพาเข้าสู่เซลล์[5] และเมื่อ STZ เข้าสู่เซลล์ของตับอ่อนจะชักนำให้เกิดปฏิกิริยา alkylation ส่งผลให้เกิดการทำลายเบตาเซลล์ ดังนั้น STZ จึงสามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ในหนูทดลองได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าปริมาณของสาร STZ ที่ใช้ในการชักนำให้เกิดเบาหวานในหนูมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับสายพันธุ์ของหนูทดลอง เช่น ในหนูแรทสามารถใช้ STZ ขนาด 25-100 mg/kg ในการชักนำให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นถึงระดับที่แตกต่างจากหนูปกติ ในขณะที่หนูเมาส์ต้องใช้ขนาดที่สูงกว่าคือ 150 mg/kg[7] เพื่อให้ได้ผลในลักษณะเดียวกัน การศึกษาของ Hayashi และคณะ[8] ในปี 2006 รายงานว่าสายพันธุ์ของหนูทดลองเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการกำหนดขนาดของ STZ ที่ใช้ในการชักนำให้เกิดภาวะเบาหวาน โดยขนาดของ STZ ที่น้อยที่สุดที่ให้โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องเพียงครั้งเดียวที่สามารถชักนำภาวะเบาหวานในหนูเมาส์มีความแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ ICR และ C57BL/6 สามารถถูกชักนำภาวะเบาหวานได้ด้วย STZ ขนาด 100 mg/kg ในขณะที่สายพันธุ์ ddY และ BALB/c ต้องใช้ในขนาดที่สูงกว่าคือ 125 และ 150 mg/kg ตามลำดับ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูทดลองสายพันธุ์ต่างๆ ที่ได้รับ STZ ปริมาณที่แตกต่างกัน เพียงครั้งเดียว โดยการฉีดเข้าทางช่องท้อง[8]

นอกจากนี้ พบว่าการให้ STZ ในขนาดแตกต่างกันในหนูสายพันธุ์เดียวกัน ก็สามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานต่างชนิดกันได้ โดยหนูเมาส์สายพันธุ์ ICR และ ddY ถูกชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ด้วย STZ ขนาด 100 และ 125 mg/kg โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องเพียงครั้งเดียว ตามลำดับ โดยเฉพาะสายพันธุ์ ICR สามารถพบภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้นานถึง 12 สัปดาห์ก่อนที่จะพัฒนาเป็นหนูที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ในขณะที่หนูทั้งสองสายพันธุ์นี้ เมื่อได้รับ STZ ขนาดสูงถึง 200 mg/kg โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องเพียงครั้งเดียวจะถูกชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1[8] หรืออาจกล่าวได้ว่า การให้ STZ ในปริมาณสูงจะทำให้หนูทดลองมีการแสดงออกของการหลั่งอินซูลินในร่างกายลดลงคล้ายกับลักษณะของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ในขณะที่การให้สารดังกล่าวในปริมาณต่ำแก่หนูทดลอง จะพบการแสดงออกของการหลั่งอินซูลินในร่างกายคล้ายกับลักษณะของเบาหวานชนิดที่ 2[9] และหลังจากนั้นภาวะโรคจะพัฒนาไปมีการแสดงออกคล้ายกับระยะท้ายๆ ของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือเริ่มมีภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 เกิดขึ้น ซึ่งเป็นภาวการณ์คล้ายกับที่พบในมนุษย์

จากการศึกษาของ Arora และคณะ ในปี 2009[10] โดยการฉีด STZ เข้าบริเวณช่องท้องของหนูเมาส์ (Swiss albino mice) ครั้งเดียวหรือวันละ 1 ครั้งเป็นระยะเวลาต่อเนื่องกัน 5 วัน เมื่อวัดระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดแต่ละสัปดาห์หลังการเหนี่ยวนำด้วย STZ (ตารางที่ 1) พบว่าสามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานทั้งสองชนิดในหนูได้ โดยกลุ่มที่ได้รับ STZ ขนาด 180 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว มีระดับน้ำตาลกลูโคสในกระเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจนถึงสัปดาห์ที่ 3 และค่อนข้างคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 5 ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับ STZ ขนาด 40 mg/kg/d เข้าทางช่องท้องติดต่อกัน 5 วัน มีระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 2 และค่อนข้างคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 5 แต่สำหรับกลุ่มที่ได้รับ STZ ขนาด 100 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียวไม่พบความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ จากข้อมูลดังกล่าว Arora และคณะจึงสรุปว่าหนูที่ได้รับ STZ ขนาด 180 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว สามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 และหนูที่ได้รับในขนาด 40 mg/kg/d เข้าทางช่องท้องติดต่อกัน 5 วัน สามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 แต่จากการศึกษาพบว่าการชักนำภาวะเบาหวานด้วย STZ ขนาด 180 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว ทำให้หนูทดลองตาย 2 ใน 8 ตัว ดังนั้น การชักนำให้หนูเกิดภาวะเบาหวานเพื่อศึกษาโรคแทรกซ้อนจากเบาหวานในระยะยาวอาจใช้ STZ ในปริมาณต่ำในการชักนำให้เกิดเบาหวาน

ตารางที่ 1 ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูเมาส์ที่ได้รับ STZ ในขนาดต่าง ๆ (ดัดแปลงจาก 10)

Time period	Blood Glucose (mg/dl)		
	STZ 180 (N=6)	STZ 100 (N=6)	STZ 40 (N=6)
Day 0	131.8±3.7	139.7±4.5	133.9±3.9
Week 1	508.3±46.2	141.4±5.6	199.1±6.9
Week 2	539.1±45.7*	161.4±4.9	291.4±8.4*
Week 3	617.8±97.7	179.8±3.0	334.16±17.5*
Week 4	612.3±84.3	164.0±4.2	325.7±30.8
Week 5	602.2±91.5	141.4±3.8	195.8±23.2

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; * $P < 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

นอกจาก STZ ที่ใช้ในการชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานในหนูทดลองได้แล้วยังมีรายงานการใช้สารอื่น เช่น หนูเมาส์สายพันธุ์ NOD เพศผู้และเพศเมียที่ได้รับสาร bromocriptine ขนาด 10 mg/kg เข้าทางช่องท้องเพียงครั้งเดียว[11] วัดระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดที่นาที 120 และ 240 หลังจากได้รับสารดังกล่าวพบว่าหนูที่ได้รับการฉีด bromocriptine เข้าบริเวณใต้ผิวหนัง มีระดับ

น้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมทั้งสองครั้งของการวัด แต่สำหรับการฉีด bromocriptine เข้าบริเวณช่องท้องครั้งเดียว สามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ได้ โดยพบว่าระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดแตกต่างกันในสองเพศและทั้งสองครั้งของการวัด จากข้อมูลนี้ชี้ให้เห็นว่าวิธีการบริหารยา (route of administration) ก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลในการชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลอง (ตารางที่ 2)

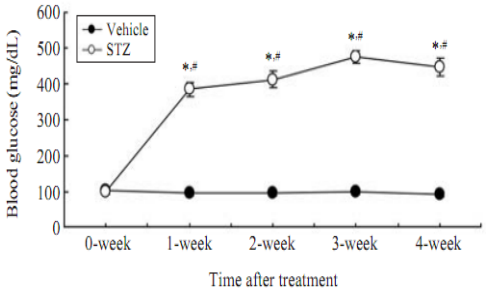
ตารางที่ 2 ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูเมาส์สายพันธุ์ NOD ที่ได้รับสาร bromocriptine โดยวิธีการบริหารยาที่แตกต่างกัน (ดัดแปลงจาก 11)

Bromocriptine	NOD females		NOD males	
(10 mg/kg)	Vehicle	Bromocriptine	Vehicle	Bromocriptine
s.c. injection				
120 min	7.3 ± 0.2	7.4 ± 0.3	8.3 ± 0.2	9.1 ± 0.4
240 min	7.3 ± 0.3	7.2 ± 0.2	7.5 ± 0.2	7.9 ± 0.1
i.p. injection				
120 min	7.7 ± 0.2	13.4 ± 0.7*	7.2 ± 0.2	14.9 ± 0.7*
240 min	7.2 ± 0.1	9.3 ± 0.3**	7.6 ± 0.2	11.2 ± 0.3*

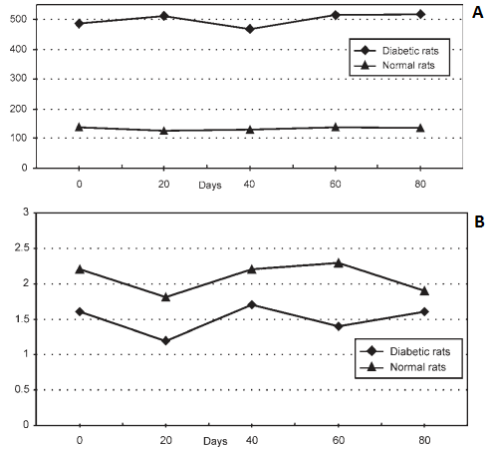
หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณระดับน้ำตาลในกระแสเลือดในหน่วย mmol/l; s.c. injection, การฉีดเข้าบริเวณใต้ผิวหนัง; i.p. injection, การฉีดเข้าบริเวณช่องท้อง; * P = 0.0001, ** P = 0.002

การชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ในหนูทดลอง

การชักนำให้หนูทดลองเกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 เพื่อใช้เป็นโมเดลในการศึกษาสามารถใช้สารเคมีในการชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานได้ โดยเฉพาะการใช้สาร STZ ซึ่งมีการรายงานไว้จำนวนมากและมีการใช้ในขนาดที่แตกต่างกัน เช่น การฉีด STZ ขนาด 75 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว สามารถชักนำให้หนูแรทสายพันธุ์ Wistar เกิดภาวะเบาหวานได้ (รูปที่ 3)[12] ในขณะที่ในปี 2005 Roy และคณะ[13] ใช้ STZ ขนาด 60 mg/kg ฉีดเข้าทางช่องท้องหนูแรทสายพันธุ์ Wistar อายุ 8 สัปดาห์ ครั้งเดียว เป็นโมเดลของหนูเบาหวานชนิดที่ 1 โดยการพิจารณาจากค่าความเข้มข้นของโปรตีนและไอออนในเนื้อเยื่อตาของหนูแรท 8 สัปดาห์หลังได้รับ STZ (ตารางที่ 3) ขนาดของ STZ ที่ใช้ชักนำภาวะเบาหวานในการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Akbarzadeh และคณะในปี 2007[14] ที่ฉีด STZ เข้าเส้นเลือดดำเพียงครั้งเดียวก็สามารถชักนำให้หนูแรทสายพันธุ์ Wistar อายุ 3 เดือนมีการแสดงออกของภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 โดยมีระดับน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นและระดับอินซูลินในกระแสเลือดลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ STZ (รูปที่ 4)



รูปที่ 3 ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูแรท สายพันธุ์ Wistar ที่ได้รับ STZ ขนาด 75 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว[12] * P < 0.05 เปรียบเทียบกับการวัดที่สัปดาห์ที่ 0; # P < 0.05 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 4 (A) ระดับน้ำตาลกลูโคส (mg/dl) (B) ระดับอินซูลิน (mIU/L) ในกระแสเลือดของหนูแรท สายพันธุ์ Wistar ที่ได้รับการฉีด STZ ขนาด 60 mg/kg เข้าทางเส้นเลือดดำครั้งเดียว[14]

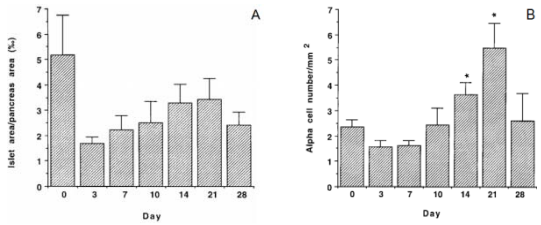
ตารางที่ 3 ระดับน้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลินในกระแสเลือด และน้ำหนักของเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของตาหนูแรทสายพันธุ์ Wistar หลังได้รับ STZ ขนาด 60 mg/kg เข้าทางช่องท้องนาน 8 สัปดาห์[13]

Parameters measured	Age matched control	Diabetic
Weight of rat (g)	391.83 ± 37.91	190.12 ± 5.41*
Blood glucose level (mg/dl)	92.40 ± 2.42	> 500*
Plasma insulin level(mg/dl)	20.1.36 ± 572	4.80 ± 1.38*
Weight of cornea (mg)	8.03 ± 2.56	10.1 ± 0.89
Weight of lens (mg)	33.94 ± 5.26	38.44 ± 6.11
Weight of retina and sclera (mg)	33.11 ± 11.15	25.34 ± 11.74
Weight of lacrimal (mg)	118.07 ± 4.09	93.77 ± 2.4*

หมายเหตุ: ตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; N = 7; * P < 0.05

นอกจากนี้ยังพบการใช้ STZ ในขนาดที่แตกต่างจากที่กล่าวมา อาทิ เมื่อฉีด STZ ขนาด 40 mg/kg/d เข้าทางช่องท้องให้แก่หนูเมาส์เพศผู้ สายพันธุ์ C57BL/Ks ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 5 วัน ก็สามารถชักนำให้หนูเกิดภาวะของเบาหวานชนิดที่ 1 ได้[15] และพบปริมาณ islet of Langerhans ในตับอ่อนลดลงในขณะที่ปริมาณแอลฟาเซลล์ซึ่งทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนกลูคากอน

(glucagon) เพื่อเพิ่มระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดกลับมีการขยายตัวเพิ่มขึ้น (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 การแสดงออกของเซลล์ในตับอ่อนของหนูเมาส์เพศผู้สายพันธุ์ C57BL/Ks หลังได้รับ STZ ขนาด 40 mg/kg/d ติดต่อกัน 5 วัน (A) ปริมาณ islet of Langerhans ต่อพื้นที่ตับอ่อน (B) ปริมาณแอลฟาเซลล์ต่อพื้นที่ตับอ่อน[15]

บางกรณีการได้รับ STZ เพียงครั้งเดียวอาจไม่สามารถชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองได้ เช่น หนูแรทสายพันธุ์ Crl:NIH-Fox1^{RNU} (nude rat) ต้องใช้ STZ ขนาด 125 mg/kg ฉีดเข้าช่องท้อง 2 ครั้ง ระยะเวลาห่างกัน 7 วัน จึงสามารถชักนำภาวะเบาหวานได้[7] ในขณะที่หนูแรทสายพันธุ์ Sprague-Dawley ใช้ STZ ขนาด 125 mg/kg ฉีดเข้าช่องท้องเพียงครั้งเดียว ก็สามารถชักนำภาวะเบาหวานได้ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูแรทสายพันธุ์ Crl:NIH-Fox1^{RNU} (nude rat) และ Sprague-Dawley เมื่อได้รับ STZ ขนาด 125 mg/kg ฉีดเข้าบริเวณช่องท้องจำนวน 1 ครั้งและ 2 ครั้ง[7]

Strain	Weight (g)	First STZ (N= 20)			Second STZ (N=13)		
		Day 1	Day 3	Day 7	Day 1	Day 3	Day 7
Nude rat	133±14 (111-161)	171±8* (110-225)	140±12 (123-256)	156±16 (134-289)	228±71* (96-535)	312±60* (210-448)	376±45* (190-512)
Sprague-Dawley	142 ± 22 (122-154)	324±33* (235-567)	400±24* (267-524)	387±22* (245-487)	NA	NA	NA

หมายเหตุ: *$P \leq 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม; NA, ไม่ได้ดำเนินการทดลอง

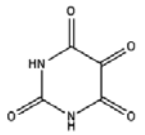
สำหรับหนูแรทเพศผู้ สายพันธุ์ Wistar สามารถถูกชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ได้ หลังได้รับอาหารที่มีไขมันสูง (high fat diet, HFD) ซึ่งประกอบด้วย ไขมัน 48% คาร์โบไฮเดรต 22% โปรตีน 20% และ calorific value 44.3 kJ/kg เป็นเวลา 4 สัปดาห์ร่วมกับการได้รับ STZ ขนาด 45 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว โดยพิจารณาจากการมีระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ระดับอินซูลินในกระแสเลือดลดลง (ตารางที่ 5)

นอกจากการใช้ STZ .ในการชักนำภาวะเบาหวานดังที่กล่าวข้างต้นแล้ว สารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่นำมาใช้ในการชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองคือ alloxan (รูปที่ 6) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไพริดีน (pyrimidine derivative) มีกลไกเข้าสู่เซลล์โดย GLUT2

ตารางที่ 5 ระดับน้ำตาลกลูโคสและอินซูลินในเลือด (ดัดแปลงจาก 9)

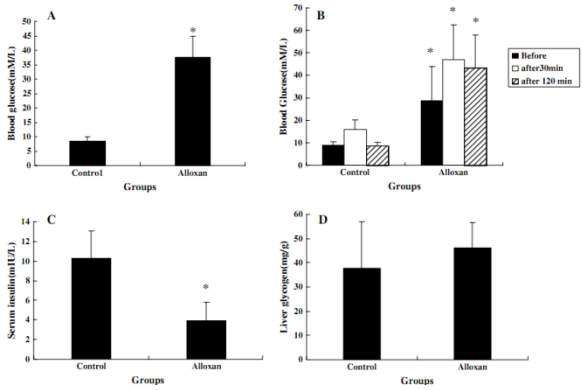
Group	N	FBG (mmol/L)	FINS (mIU/L)
CON	20	5.18 ± 0.55	11.8 ± 2.93
HFD+STZ	20	24.5 ± 3.75**	3.97 ± 0.86*

หมายเหตุ: FBG, fasting blood glucose at 8 weeks after STZ injection; FINS, fasting plasma insulin level; CON, กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ; HFD+STZ, กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับการฉีด STZ ขนาด 45 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว; *$P < 0.05$, **$P < 0.001$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของ alloxan[5]

และมีผลทำลายเบตาเซลล์เช่นเดียวกับ STZ และยังมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Glucokinase[5] ในร่างกายจึงสามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ในหนูทดลองได้ ขนาดของ alloxan ที่ใช้ในการชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลอง มีความแตกต่างกัน โดยมีรายงานการใช้ alloxan ขนาด 100 mg/kg ฉีดเข้าเส้นเลือดดำของหนูเมาส์ Kunming (Kunming mice) ที่อดอาหาร 16 ชั่วโมง โดยฉีดเพียงครั้งเดียว[16] พบว่าสามารถชักนำให้เป็นหนูเบาหวานชนิดที่ 1 จากการมีระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดสูงขึ้น แต่ระดับอินซูลินในกระแสเลือดลดลง (รูปที่ 7) ในขณะที่หนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ albino[17] และหนูแรทเพศผู้ สายพันธุ์ Wistar สามารถใช้ alloxan ขนาด 100 mg/kg ในการชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานโดยการฉีดเข้าเข้าทางช่องท้องครั้งเดียว[18] โดยผลที่ได้มีลักษณะเช่นเดียวกับหนูเมาส์ Kunming (ตารางที่ 6)



รูปที่ 7 เมทาบอลิซึมของกลูโคสในหนูเมาส์ Kunming ที่ได้รับ alloxan ขนาด 100 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว (A) ระดับกลูโคสในกระแสเลือด (B) ระดับกลูโคสในกระแสเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ (C) ระดับอินซูลินในกระแสเลือด (D) ระดับไกลโคลเจนในตับ *$P < 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม[16]

ตารางที่ 6 ระดับน้ำตาลกลูโคสและระดับอินซูลินในกระแสเลือดของหนูแรทสายพันธุ์ albino ที่ช่วงเวลาต่างๆ หลังจากได้รับ alloxan ขนาด 100 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว (ดัดแปลงจาก 17)

	Time after treatment					
	24 hours		48 hours		72 hours	
	Control	Alloxan	Control	Alloxan	Control	Alloxan
Glucose (mg/dl)	99±9.61	180.766±15.88*	104.133±11.19	454.3±68.49*	107.063±7.94	787.6±84.61*
Insulin (µU/ml)	21.123±1.56	55.587±7.693*	19.89±1.418	17.717±0.857	22.358±1.563	9.033±2.99*

หมายเหตุ: ตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; * $P \leq 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 7 ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Wistar ที่ได้รับ alloxan monohydrate ขนาด 120 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว (ดัดแปลงจาก 20)

Groups	Blood Glucose Level (mg/dl)					
Normal	84±4.2	87±4.38	82±3.8 8	84±3.8	86±3.0	80±2.8
Diabetic	82±3.8	240±3.5*	236±3.96*	236±3.96*	226±4.08*	220±3.85*

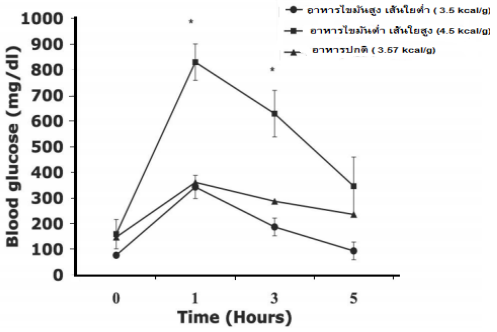
หมายเหตุ: ตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; * $P \leq 0.001$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

อย่างไรก็ตาม การใช้ alloxan monohydrate ชักนำภาวะเบาหวานในหนูแรทผู้สายพันธุ์ albino ที่อดอาหาร 18 ชั่วโมง และหนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Wistar ที่อดอาหาร 24 ชั่วโมง สามารถทำได้โดยใช้ 5% alloxan monohydrate ขนาด 125 mg/kg[19] และ alloxan monohydrate ขนาด 120 mg/kg[20] ฉีดเข้าช่องท้องครั้งเดียว ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lakshma และคณะ (2010)[21] ที่ชักนำภาวะเบาหวานในหนูแรทสายพันธุ์ albino ที่อดอาหาร 24 ชั่วโมง ด้วยการให้ alloxan monohydrate ขนาด 120 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว

นอกจากการใช้สารเคมีและอาหารไขมันสูงในการชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองดังที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ปัจจัยทางพันธุกรรมและการติดเชื้อไวรัสบางชนิดก็มีผลต่อการเกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ในหนูทดลองได้ ปัจจัยทั้งสองนี้จะส่งเสริมกันและก่อให้เกิดการกระตุ้น T cells ที่จำเพาะต่อแอนติเจนของตนเอง (autoreactive T cells) ซึ่งนำไปสู่การทำลายเบตาเซลล์โดย T lymphocytes[22] หรืออาจกล่าวได้ว่า การเกิดภาวะต้านภูมิตัวเองที่จำเพาะต่อตับอ่อนสามารถส่งผลให้หนูทดลองเกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ได้ หนูทดลองที่มีปัจจัยทางพันธุกรรมดังกล่าว ได้แก่ หนูเมาส์สายพันธุ์ NOD[23] เป็นสายพันธุ์ที่สามารถพัฒนาเป็นหนูที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ได้เอง (spontaneous type 1 diabetes) โดยพบว่าหนูเพศผู้สามารถถูกชักนำภาวะเบาหวานได้ง่ายกว่าเพศเมีย[24] สำหรับการติดเชื้อไวรัสที่ส่งผลให้เกิดภาวะเบาหวานได้ ยกตัวอย่าง เช่น หนูแรทสายพันธุ์ BBDR ที่ได้รับเชื้อไวรัส Kilham rat virus (KRV) ปริมาณ $1x10^6$ pfu พบว่าประมาณ ร้อยละ 30 ของหนูแรทสายพันธุ์ BBDR หลังจากได้รับเชื้อไวรัส สามารถพัฒนาเป็นเบาหวานได้ แต่ถ้าหนูแรทสายพันธุ์ BBDR ได้รับ TLR3 ligand poly(I:C) ขนาด 1 µg/kg 3 วัน ก่อนที่จะได้รับ KRV พบว่าจะสามารถชักนำเบาหวานได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์[25] หรือหนูเมาส์สายพันธุ์ BDC2.5 Tg ที่ได้รับไวรัส coxsackievirus group B type 4 Edwards strain 2 (CB4 strain E2) ปริมาณ 100 pfu เมื่อศึกษาจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับ 28 วันภายหลังจากได้รับไวรัส พบว่าเกิดภาวะการขาดอินซูลิน (insulitis) เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 8 เป็น 84[26] ซึ่งเป็นภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ได้

การชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูทดลอง

เป็นที่ทราบกันดีว่าภาวะอ้วนหรือมีน้ำหนักตัวมากเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยกลไกหนึ่งพบว่าภาวะอ้วนจะมีผลทำให้เอนโดพลาสมิค เรติคูลัม (endoplasmic reticulum) เกิดความเครียดมากขึ้น ซึ่งจะชักนำให้เกิดภาวะดื้ออินซูลิน[27] และทำให้เกิดภาวะเบาหวานในเวลาต่อมา ดังนั้นการชักนำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูทดลองจึงนิยมชักนำโดยการให้อาหารที่มีปริมาณไขมันสูงเพียงอย่างเดียว เพื่อชักนำให้หนูทดลองเกิดภาวะอ้วนหรือมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น หรือการให้อาหารที่มีปริมาณไขมันสูงร่วมกับสารเคมี หรืออาจใช้สารเคมีสองชนิดร่วมกัน เพื่อลดระยะเวลาในการเหนี่ยวนำภาวะเบาหวานชนิดนี้ในหนูทดลอง เช่น การศึกษาของ Chaabo และคณะ ในปี 2010[28] โดยการให้อาหารที่มีไขมันต่ำ เส้นใยอาหารสูง และอาหารที่มีไขมันสูง เส้นใยอาหารต่ำ เปรียบเทียบกับอาหารปกติ แก่หนูไนล์ (*Arvicanthis niloticus*) เพศผู้เป็นระยะเวลา 5 เดือน พบว่าอาหารที่มีไขมันสูง เส้นใยอาหารต่ำ (High-fat/low-fiber) สามารถชักนำให้หนูไนล์เพศผู้ มีการแสดงออกของภาวะโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยมีระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ (รูปที่ 8)



รูปที่ 8 ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดของหนูไนล์เพศผู้ ที่ได้รับอาหารที่แตกต่างกันทดสอบด้วย Intraperitoneal Glucose Tolerance Test (IVIGTT) (ดัดแปลงจาก 28)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในหนูเมาส์สายพันธุ์ C57BL/6J และสายพันธุ์ A/J พบว่าเมื่อให้อาหารที่มีไขมันและคาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยวในปริมาณสูงและเส้นใยอาหารต่ำเป็นระยะเวลา 6 เดือน จะทำให้หนูทั้งสองสายพันธุ์เกิดภาวะโรคอ้วน โดยในหนูสายพันธุ์ A/J พบภาวะการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดบกพร่องควบคู่กับภาวะดื้ออินซูลิน และในหนูสายพันธุ์ C57BL/6J มีการแสดงออกของภาวะเบาหวานอย่างชัดเจน โดยมีระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดมากกว่า 240 mg/dl และระดับอินซูลินในกระแสเลือดมากกว่า 150 microU/ml[29] การชักนำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ยังพบรายงานการศึกษาในหนูเมาส์สายพันธุ์ BDF1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ผสมระหว่าง C57BL/6 และ DBA/2 โดยการให้อาหารที่มีปริมาณของไขมันสูง (high fat diet, HFD) ซึ่งประกอบด้วย ไขมัน 35.3% คาร์โบไฮเดรต 52.1% โปรตีน 12.6% และมีปริมาณแคลอรีรวม 4.9 kcal/g เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารปกติ (regular chow, CON) ซึ่งประกอบด้วย ไขมัน 12.0% คาร์โบไฮเดรต 64.8% โปรตีน 23.2% และมีปริมาณแคลอรีรวม 3.6 kcal/g พบว่าหนูมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและพัฒนาเป็นหนูที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ภายใน 14 สัปดาห์ (ตารางที่ 8) โดยมีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและปริมาณน้ำตาลที่ขับออกมาในปัสสาวะสูงกว่ากลุ่มควบคุม และมีการเพิ่มขึ้นของ Hemoglobin A_{1C} นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของระดับอินซูลินในกระแสเลือด และการลดลงของการตอบสนองของอินซูลินต่อระดับกลูโคสในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้น[30]

ตารางที่ 8 น้ำหนักตัวและค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของหนู BDF1 ที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง (HFD) เปรียบเทียบกับที่ได้รับอาหารปกติ (CON) หลังจากได้รับอาหารนาน 14 สัปดาห์ (ดัดแปลงจาก 30)

	Control diet (n = 16)		HFD (n = 16)	
	0 wk	14 wk	0 wk	14 wk
Body weight (g)	24.4 ± 0.2	39.8 ± 0.8	24.6 ± 0.2	51.8 ± 0.7†
Plasma glucose (mg/dL)	188 ± 4	179 ± 4	188 ± 5	335 ± 24†
Urinary glucose (mg/dL)	ND	13 ± 1	ND	1596 ± 891†
Plasma total cholesterol (mg/dL)	125 ± 4	130 ± 3	124 ± 3	229 ± 2†
Plasma free fatty acid (mEq/L)	1.00 ± 0.04	1.02 ± 0.06	0.86 ± 0.05*	0.87 ± 0.04
Plasma triglyceride (mg/dL)	181 ± 8	172 ± 11	158 ± 14	91 ± 5†
Plasma insulin (ng/mL)	1.22 ± 0.10	5.00 ± 1.04	1.06 ± 0.17	30.7 ± 4.4†
Plasma leptin (ng/mL)	3.8 ± 0.5	25.4 ± 2.5	2.2 ± 0.37*	70.9 ± 2.5†
Plasma adiponectin (μg/mL)	11.7 ± 0.5	12.8 ± 0.4	10.7 ± 0.3	11.2 ± 0.5*

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; ND หมายถึง วัดค่าไม่ได้; *P < 0.05, † P < 0.01 เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้อาหารปกติ

นอกจากการชักนำให้หนูทดลองเกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 โดยให้อาหารที่มีไขมันสูงเพียงอย่างเดียวดังที่ได้กล่าวมาแล้วยังสามารถใช้สารอื่นร่วมด้วย เพื่อให้ได้หนูทดลองที่มีภาวะเบาหวานในระยะเวลารวดเร็วขึ้น เช่น การให้อาหารที่มีไขมันสูง 58 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับอาหารที่มีไขมันปกติ (12 เปอร์เซนต์) แก่หนูแรทสายพันธุ์ Sprague–Dawley เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนฉีด STZ ขนาด 35 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว หลังจากนั้น 7 วันทดสอบค่าต่างๆ พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับ STZ มีระดับน้ำตาลกลูโคส ไตรกลีเซอร์ไรด์ คอเลสเตอรอลและอินซูลินในกระแสเลือดแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ และมีการแสดงออกของภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 (ตารางที่ 9)[31]

ตารางที่ 9 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของหนูที่ได้รับเฉพาะอาหารปกติ (NPD) หนูที่ได้รับอาหารปกติร่วมกับการฉีด STZ ขนาด 35 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว (NPD+STZ) หนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง (HFD) และหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับการฉีด STZ ขนาด 35 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว (HFD+STZ) (ดัดแปลงจาก 31)

Parameters	NPD	NPD+ STZ	HFD	HFD+ STZ
Body weight (g)	235.43 ± 4.94	241.00 ± 3.58	268.35 ± 3.50*	253.58 ± 2.72*
PGL (mg/dl)	101.06 ± 3.94	137.11 ± 5.47*	129.33 ± 2.49*	418.42 ± 8.45*#
PTG (mg/dl)	30.36 ± 3.42	35.02 ± 2.07	70.70 ± 2.66*	173.34 ± 8.21*#
PTC (mg/dl)	47.00 ± 3.42	43.00 ± 1.91	116.18 ± 7.14*	178.57 ± 7.75*#
PI (pmol/l)	262.00 ± 23.52	265.50 ± 22.60	467.50 ± 32.43*	217.68 ± 26.67#
K-value	26.00 ± 2.00	ND	16.19 ± 2.48*	15.53 ± 2.08*

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; ND, ไม่ได้คำนวณ; PGL, plasma glucose; PTG, plasma triglyceride; PTC, plasma total cholesterol; PI, plasma insulin; * P < 0.05 เทียบกับกลุ่มได้รับอาหารปกติที่ไม่ได้รับการฉีด STZ (NPD group); # P < 0.05 เปรียบเทียบกับกลุ่มได้รับอาหารที่มีไขมันสูงที่ไม่ได้รับการฉีด STZ (HFD group); N = 10–12 ยกเว้น K-value N = 5-6

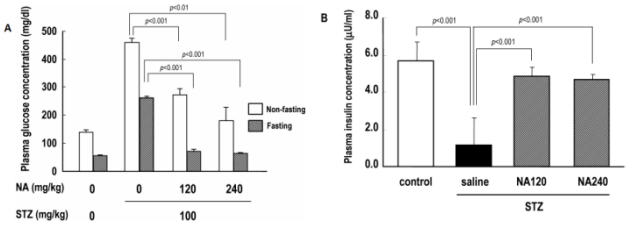
หนูแรทเพศผู้ สายพันธุ์ Wistar มีการชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 โดยให้อาหารที่มีไขมันสูง (high fat diet, HFD) ซึ่งประกอบด้วยไขมัน 48% คาร์โบไฮเดรต 22% โปรตีน 20% และ calorific value 44.3 kJ/kg เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารปกติ (regular chow, CON) ซึ่งประกอบด้วย ไขมัน 5% คาร์โบไฮเดรต 53% โปรตีน 23% และ calorific value 25 kJ/kg เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วฉีดสาร STZ แก่หนูในปริมาณที่แตกต่างกันตั้งแต่ 25-45 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียวเปรียบเทียบกับการให้ STZ 2 ครั้ง (twice)[9] หลังจาก 8 สัปดาห์พบว่า กลุ่ม HFD ที่ได้รับ STZ ขนาด 30 mg/kg เข้าทางช่องท้องสองครั้ง สามารถถูกชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้เนื่องจากมีระดับน้ำตาลกลูโคสกระแสเลือดเพิ่มขึ้น แต่ระดับอินซูลินในกระแสเลือดคงที่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CON (ตารางที่ 10) สำหรับการชักนำภาวะเบาหวานในหนูเมาส์เพศผู้สายพันธุ์ Swiss-Webster สามารถชักนำได้โดยการให้อาหารที่มีไขมันสูง ซึ่งประกอบด้วยไขมัน 20 % คาร์โบไฮเดรต 46% และโปรตีน 20% เป็นระยะเวลา 60 วัน จากนั้นฉีด STZ ขนาด 120 mg/kg เข้าช่องท้องเพียงครั้งเดียว พบว่าสามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวาน ชนิดที่ 2 ได้เช่นกัน[32]

ตารางที่ 10 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของกลุ่มหนูที่ได้รับเฉพาะอาหารปกติ (CON) ได้รับอาหารปกติรับร่วมกับ STZ ขนาด 30 mg/kg เข้าทางช่องท้องสองครั้ง (CON+STZ) ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง (HFD) และได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับการได้และไม่ได้รับ STZ ขนาด 30 mg/kg เข้าทางช่องท้องสองครั้ง (HFD+STZ) (ดัดแปลงจาก 9)

Group	CON	CON+STZ	HFD	HFD+STZ
Body weight (g)	415.6 ± 11.8	397.9 ± 14.2	477.3 ± 23.1*#	382.1 ± 17.3
FBG (mmol/L)	4.49 ± 0.41	5.25 ± 0.44	5.56 ± 0.52	14.79 ± 0.32**
FINS (mU/L)	11.03 ± 1.68	12.04 ± 0.26	19.64 ± 6.83*	9.17 ± 1.34
TG (mmol/L)	0.66 ± 0.09	0.63 ± 0.08	1.91 ± 0.33**	1.70 ± 0.21**
TC (mmol/L)	1.72 ± 0.11	1.78 ± 0.19	3.35 ± 0.26**	2.99 ± 0.53**

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N=20); FBG, fasting blood glucose; FINS, fasting blood insulin; TG, triglyceride; TC, total cholesterol; ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ เปรียบเทียบกับ CON; # $P < 0.05$ เปรียบเทียบกับ HFD+STZ

สำหรับการชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูทดลองโดยใช้เฉพาะสารเคมี มักนิยมใช้สาร STZ ร่วมกับ nicotimamide หรือเอไมด์ของวิตามินบี 3 (amide of nicotinic acid) ซึ่ง nicotinamide มีส่วนช่วยในการป้องกันการอักเสบของเบตาเซลล์ และช่วยในการเจริญและแบ่งเซลล์ของเบตาเซลล์[33] ดังนั้นการที่หนูทดลองได้รับ nicotimamide ก่อน STZ จึงสามารถยับยั้งการอักเสบและการทำลายเบตาเซลล์อันเนื่องมาจาก STZ ได้ จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้มีการนำ nicotinamide มาใช้ร่วมกับ STZ เพื่อชักนำภาวะเบาหวาน ชนิดที่ 2 ในหนูทดลอง เช่น การให้ STZ ขนาด 60 mg/kg เข้าบริเวณช่องท้องครั้งเดียว แก่หนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Wistar albino ที่ถูกทำให้อดอาหาร 1 คืน หลังจากให้ nicotinamide ขนาด 120 mg/kg เป็นเวลา 15 นาที เข้าบริเวณช่องท้องครั้งเดียว[34] พบว่า โปรแกรมดังกล่าวสามารถชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูแรทได้ ภายใน 1 สัปดาห์ ซึ่งขนาดของ nicotinamide และ STZ ที่ใช้ในการชักนำภาวะเบาหวานดังกล่าวข้างต้น มีขนาดใกล้เคียงกับการศึกษาในหนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Wistar albino ของ Pari และ Saravanan ในปี 2006[35] ซึ่งใช้ nicotnamide ขนาด 110 mg/kg และใช้ STZ ขนาด 45 mg/kg โดยการฉีดเข้าบริเวณช่องท้องครั้งเดียว และระยะเวลาในการฉีด nicotinamide และ STZ มีระยะเวลาห่างกัน 15 นาที เช่นกัน ก็สามารถชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานการชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูเมาส์เพศผู้สายพันธุ์ C57BL/6J ในลักษณะที่คล้ายคลึงกับในหนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Wistar albino โดยการให้ nicotinamide ขนาด 210 mg/kg เข้าบริเวณช่องท้องครั้งเดียว เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาทีตามด้วยการให้ STZ ขนาด 180 mg/kg เข้าบริเวณช่องท้องหนึ่งครั้ง[36] พบว่า หนูดังกล่าวมีลักษณะการแสดงออกของภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ภายในสัปดาห์ที่ 3 หลังจากได้รับสารทั้งสองชนิด นอกจากการชักนำภาวะเบาหวานด้วยวิธีการที่กล่าวข้างต้นแล้ว พบว่าสามารถชักนำภาวะเบาหวานโดยการฉีด STZ ขนาด 100 mg/kg เข้าบริเวณช่องท้องหนูเมาส์เพศผู้สายพันธุ์ C57BL/6J ที่อดอาหารเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จำนวนสองครั้ง ครั้งที่ 1 ฉีด STZ หลังจาก 15 นาทีที่หนูได้รับการฉีด nicotinamide ขนาดต่างๆ เข้าทางช่องท้องครั้งแรก และครั้งที่ 2 ฉีดหลังจากที่หนูได้รับ nicotinamide แล้วสองวัน[37] วัดระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือด 12 ชั่วโมงก่อนอดอาหาร และหลังอดอาหาร 16 ชั่วโมง ในวันที่ 34 ของการทดลอง และระดับอินซูลินในกระแสเลือด ในวันที่ 35 ถึง 38 ของการทดลอง (รูปที่ 9) พบว่า หนูที่ได้รับ nicotinamide ขนาด 120 และ 240 mg/kg และสามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ นอกจากการบริหาร nicotinamide โดยการฉีดแล้ว ยังสามารถบริหารสารนี้โดยการป้อนทางปาก โดยหนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Spraque Dawley เมื่อป้อน nicotinamide ขนาด 1000 mg/kg ติดต่อกัน 3 วัน แล้วตามด้วยการฉีด STZ ขนาด 55 mg/kg เข้าบริเวณช่องท้องครั้งเดียว หลังจากนั้นให้ nicotinamide โดยการป้อนทางปากต่อไปจนครบ 14 วัน (ตารางที่ 11) พบว่าหนูแรทมีการแสดงออกของภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้[38]



รูปที่ 9 (A) ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือด ก่อนอดอาหาร 12 ชั่วโมง และหลังอดอาหาร 16 ชั่วโมง ในวันที่ 34 ของการทดลองและ (B) ระดับอินซูลินในกระแสเลือดในวันที่ 35-38 ของการทดลอง ของหนูเมาส์เพศผู้สายพันธุ์ C57BL/6J ที่ได้รับ STZ ร่วมกับ nicotinamide (NA) ขนาดต่างๆ[37]

ตารางที่ 11 น้ำหนักตัว ระดับกลูโคสและอินซูลินในกระแสเลือด ของหนูแรทเพศผู้สายพันธุ์ Spraque Dawley (ดัดแปลงจาก 38)

Parameter	Control group	STZ group	Nicotinamide +STZ group
Body weight (g)	229.4+4	172.3+5.1*	227.3+4*
Blood glucose (mg/dL)	72.3+4	177.9+15.4*	81+3.4**
Serum insulin (uIU/mL)	25.3+1	4.5+0.6*	25+1.5**

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; * $P < 0.001$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม; ** $P < 0.001$ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเฉพาะ STZ (STZ group); Control group, กลุ่มที่ไม่ได้รับสาร STZ และ nicotinamide; STZ group, กลุ่มที่ได้รับ STZ; Nicotinamide+STZ, กลุ่มที่ได้รับสารทั้งสองอย่าง

นอกจากนี้มีรายงานการชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูเมาส์สายพันธุ์ ICR โดยการให้หนูทดลองอดอาหารเป็นเวลา 1 คืน ตามด้วยการฉีดสารละลาย nicotinamide ขนาด 1000 mg/kg เข้าบริเวณช่องท้องหนึ่งครั้ง หลังจากหนูทดลองได้รับ nicotinamide

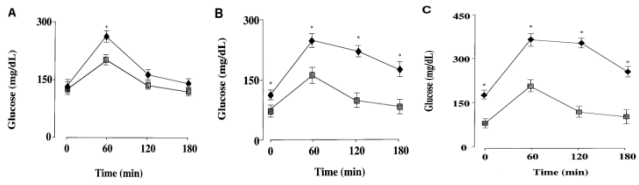
เป็นเวลา 90 นาที ฉีด STZ ขนาด 150 mg/kg เข้าบริเวณช่องท้องอีกครั้งหนึ่ง[39] จะสามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานในหนูทดลองได้ภายใน 1 สัปดาห์ วิธีการและขนาดของสารในการชักนำภาวะเบาหวานดังที่กล่าวมาข้างต้นนี้ เป็นวิธีเดียวกับที่ Matsuyama-Yokono และคณะ[40] ใช้ในการชักนำภาวะเบาหวานในหนูเมาส์สายพันธุ์ ICR ในปี 2009 ด้วย

นอกจากการชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าการชะลอการเจริญเติบโตของหนูที่อยู่ในครรภ์สามารถชักนำให้หนูทดลองเกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ เช่น หนูแรทสายพันธุ์ Spraque-Dawley ที่ตั้งท้องเป็นเวลา 19 วัน เมื่อถูกนำมาทำให้สลบด้วย xylazine (8 mg/kg) และ ketamine (40 mg/kg) จากนั้นผ่าตัดและผูกเส้นเลือดแดงที่นำอาหารแก่ลูกหนูที่อยู่ในครรภ์ทั้งสองข้าง เปรียบเทียบกับหนูแรท Spraque-Dawley ที่ทดลองเช่นเดียวกัน ยกเว้นการผูกเส้นเลือดแดงที่นำอาหารแก่ลูกหนูที่อยู่ในครรภ์ จากนั้นเย็บแผลและนำไปเลี้ยงตามปกติ วัดระดับน้ำตาลกลูโคส และระดับอินซูลินในกระแสเลือดในลูกหนูที่สัปดาห์ที่ 1, 7, 15 และ 26 (ตารางที่ 12) พบว่าระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือด (รูปที่ 10) และระดับอินซูลินในกระแสเลือดเริ่มแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเมื่ออายุตั้งแต่สัปดาห์ที่ 7[41]

ตารางที่ 12 ระดับกลูโคสและระดับอินซูลินในกระแสเลือดของหนูแรทสายพันธุ์ Spraque-Dawley ที่ชะลอการเจริญเติบโต (กลุ่มทดลอง) ขณะอยู่ในครรภ์และหนูกลุ่มควบคุม (ดัดแปลงจาก 41)

อายุ (สัปดาห์)	N	Glucose (mg/dl)		IRI (ng/ml)	
		กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
1	58	89.3±8.4	87.2±9.8	48.2±6.1	47.6±5.2
7	48	91.8±15.1	135±18.2*	40.9±4.8	79.2±7.1*
15	48	92±13.2	159±20.3*	35.3±5.1	59.3±8.9*
26	47	130±18.9	280±19.4*	42.6±4.8	49.6±5.8

หมายเหตุ: IRI, Immunoreactive insulin; * $P < 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง.



รูปที่ 10 ระดับกลูโคสในกระแสเลือดในช่วงเวลาต่างๆ ทดสอบด้วยวิธี intraperitoneal glucose tolerance test ของหนูแรท สายพันธุ์ Spraque-Dawley ที่ถูกชะลอการเจริญเติบโตขณะอยู่ในครรภ์ และหนูกลุ่มควบคุม A, อายุ 1 สัปดาห์; B, อายุ 7 สัปดาห์; C, อายุ 15 สัปดาห์[41]

เห็นได้ว่าสามารถชักนำภาวะเบาหวานทั้งสองชนิดในหนูทดลองทั้งโดยให้สารเคมี การให้อาหารที่มีส่วนประกอบของไขมันในปริมาณสูงเพียงอย่างเดียว หรือการให้ร่วมกับสารเคมี โดยมีชนิดและสายพันธุ์ของหนูทดลองเป็นปัจจัยกำหนดร่วมด้วย ซึ่งสามารถรวบรวมวิธีการทั้งหมดที่ได้ทบทวนดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ชนิด-ขนาดของสารเคมีและวิธีการในการชักนำภาวะเบาหวานทั้งสองชนิด ในหนูทดลองสายพันธุ์ต่าง ๆ

ชนิดหนู	สายพันธุ์	วิธีการ/อาหารและ/หรือสารเคมี	ขนาดของสารเคมี (mg/kg)	จำนวนครั้งต่อวัน	วิธีบริหารอาหาร/สารเคมี	เอกสารอ้างอิง
เบาหวานชนิดที่ 1						
Mice	C57BL/Ks	STZ in saline	40	1/ติดต่อกัน 5 วัน	i.p.	15
	BDC2.5 Tg	CB4 strain E2	100 pfu	1	i.p.	26
	NOD	Spontaneous	-	-	-	23
	NOD	Bromocriptine in 0.9% NaCl	10	1	i.p.	11
	ICR	STZ in 0.05M citrate buffer, pH4.5.	200	1	i.p.	8
	Kunming mice	Alloxan in saline	100	1	i.p.	16
	Swiss albino	STZ in cold 0.01M citrate buffer, pH4.5	180	1	i.p.	10
Rat	Wistar	Alloxan in acetate buffer	100	1	i.p	18
	Wistar	STZ in citrate buffer pH4.0	60	1	i.p.	13
	Wistar	STZ in distilled water presence of citric acid pH3.5-4.5	60	1	i.v.	14
	Wistar	ไขมันสูง	48%	1/ติดต่อกัน 1 เดือน	p.o	9
		+ STZ[a] in citrate buffer (pH4.4)	45	1	i.p.	
	Wistar	STZ in a sodium citrate buffer pH4.5	75	1	i.p.	12
	Wistar	Alloxan monohydrate in normal saline	120	1	i.p.	20, 21
	Albino	Alloxan in 0.9 % saline	100	1	i.p	17
	Albino	Alloxan monohydrate in normal saline	125	1	i.p.	19
	Sprague Dawley	STZ in 0.05 M citrate buffer pH4.5	125	1	i.p	7
	Crl:NIH-Fox1^{RNU} (nude rat)	STZ in 0.05 M citrate buffer pH4.5	125	2[b]	i.p.	7
	BBDR	ได้รับเชื้อไวรัส KRV	1x10^6 pfu	1	i.p.	25
เบาหวานชนิดที่ 2						
Mice	ICR	STZ in 0.05M citrate buffer, pH4.5.	100	1	i.p.	8
	ICR	Nicotinamide	1000	1	i.p	39, 40
		+STZ[c]	150	1	i.p	
	C57BL/6J	คาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยว เส้นไยต่ำ		1/ติดต่อกัน 6 เดือน	p.o.	29
	C57BL/6J	Nicotinamide in saline	120 หรือ 240	1	i.p	37
		+STZ[d] in 50 mM citric acid buffer	100	1	i.p	
	C57BL/6J	Nicotinamide in saline	210	1	i.p.	36
		+STZ[d] in buffer citrate pH4.5	180	1	i.p.	
	A/J	คาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยวเส้นไยต่ำ		1/ติดต่อกัน 6 เดือน	p.o.	29
	ddY	STZ in 0.05M citrate buffer, pH4.5.	125	1	i.p.	8
	Swiss-Webster	ไขมันสูง	20%	1/ติดต่อกัน 2 เดือน	p.o.	32
		+STZ[a] in 0.01 M citrate buffer, pH 4.3	120	1	i.p.	
Rat	Wistar	ไขมันสูง	48%	1/ติดต่อกัน 1 เดือน	p.o.	9
		+STZ[a] in citrate buffer (pH4.4)	30	2	i.p.	
	Wistar albino	Nicotinamide	120	1	i.p.	34
		+STZ[d]	60	1	i.p	
	Wistar albino	Nicotinamide in normal saline	110	1	i.p.	35
		+STZ[d] in citrate buffer pH4.5	45	1	i.p.	
	Sprague Dawley	ชะลอการเจริญเติบโตขณะอยู่ในครรภ์				41
	Sprague Dawley	ไขมันสูง	58%	1/ติดต่อกัน 2 สัปดาห์	p.o.	31
		+STZ[a] in citrate buffer (pH4.4)	35	1	i.p.	
	Spraque Dawley	Nicotinamide in citrate buffer pH4.5	1000	1/ติดต่อกัน 18 วัน	p.o.	38
		+STZ[e] in distilled water	55	1	i.p.	
	Arvicanthis niloticus	ไขมันสูง	43%	1/ติดต่อกัน 6 เดือน	p.o.	28

หมายเหตุ: วิธีบริหารอาหาร/สารเคมี, i.p., ฉีดเข้าช่องท้อง, i.v., ฉีดเข้าเส้นเลือดดำ, p.o., ป้อนทางปาก; [a] ฉีดหลังได้รับอาหารครบตามเวลา; [b] แต่ละครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์; [c] ฉีดหลังจากหนูได้รับ nicotinamide 90 นาที; [d] ฉีดหลังจากหนูได้รับ nicotinamide 15 นาที; [e] ฉีดหลังได้รับ nicotinamide ในวันที่ 4;

บทสรุป

การชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองในช่วงแรกๆ เป็นการใช้สารเคมี ได้แก่ STZ, alloxan หรือ bromocriptine โดยขนาดของสารที่ใช้อาจแตกต่างกันตั้งแต่ 10 ถึง 200 mg/kg ขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของหนูทดลอง และการบริหารยาก็แตกต่างกันออกไป อาทิ การให้เพียงครั้งเดียวหรือหลายครั้ง เข้าบริเวณช่องท้อง ใต้ผิวหนัง หรือเส้นเลือดดำ เป็นต้น แต่ที่นิยมปฏิบัติและให้ผลที่มีประสิทธิภาพมักเป็นการฉีดเข้าบริเวณช่องท้องเพียงครั้งเดียว และหนูทดลองที่ได้จะถูกเหนี่ยวนำให้มีภาวะเบาหวาน ชนิดที่ 1 แต่เนื่องจากการชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลองด้วยสารเคมียังมีข้อด้อย อาทิ การมีภาวะเบาหวานที่ไม่คงที่ หรือระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงมากเกินไป และบางกรณีหนูทดลองกลับมามีสภาวะเป็นปกติได้เนื่องจากกลไกการทำลายเบตาเซลล์ด้วยสารเคมีเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ หรือสารเคมีมีผลทำลายอวัยวะอื่นได้ด้วย ส่วนระยะหลังของการศึกษาเป็นการพัฒนาวิธีการอื่นที่แตกต่างออกไปเพื่อให้ได้หนูทดลองที่มีภาวะเบาหวาน ชนิดที่ 2 ได้แก่ การให้อาหารที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง เพื่อให้หนูทดลองเกิดภาวะอ้วนและเกิดภาวะดื้ออินซูลิน แต่วิธีหลังนี้ต้องการเวลาในการเหนี่ยวนำเป็นเวลานาน จึงอาจใช้วิธีการดังกล่าวนี้ร่วมกับการให้สารเคมี ได้แก่ STZ หรือการใช้สารเคมีสองชนิดร่วมกัน คือ nicotinamide ร่วมกับ STZ เพื่อลดระยะเวลาในการเหนี่ยวนำภาวะเบาหวานที่ต้องการให้สั้นลง นอกจากนี้นักวิจัยส่วนหนึ่งยังให้ความสนใจในการปรับปรุงสายพันธุ์หนูทดลอง หรือการใช้ไวรัสเพื่อให้หนูทดลองเกิดภาวะต้านภูมิตัวเอง เพื่อให้ได้สายพันธุ์หนูทดลองที่มีภาวะเบาหวานคล้ายกับในมนุษย์มากขึ้น เนื่องจากโรคเบาหวานในมนุษย์ส่วนมากมักเกี่ยวข้องกับพันธุกรรมและพฤติกรรมในการดำรงชีวิต อย่างไรก็ดีหนูสายพันธุ์เบาหวานนี้ยังอยู่ในขั้นตอนต้น ๆ ของการพัฒนาจึงยังมีราคาสูงมาก และยังต้องการการพัฒนาอย่างต่อเนื่องต่อไป ดังนั้นการศึกษาเพื่อสร้างหรือพัฒนาโมเดลหนูทดลองที่มีภาวะเบาหวานที่คล้ายคลึงกับภาวะเบาหวานในมนุษย์มากที่สุดจึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย เชื่อถือได้และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง

เอกสารอ้างอิง

1. Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and complication risk in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2007;30(3):707-712.
2. Cavallerano J. Care of the Patient with Diabetes Mellitus. *Diabetes Mellitus.* 2009. (*สืบค้นเมื่อวันที่ 2 พฤษภาคม 2554*, ที่ www.aoa.org/*documents /CPG-3.pdf.*)
3. Weyer C, Tataranni PA, Bogardus C, et al. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction are independent predictors of worsening of glucose tolerance during each stage of type 2 diabetes development. *Diabetes Care*. 2001;24(1):89-94.
4. อิสริยา เตชะธนะวัฒน์. การศึกษาชีวสมมูลและการศึกษาทางคลินิก. *วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนาองค์การเภสัชกรรม.* 2552;16(2):11-13.
5. Lenzen S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2007;51:216-226.
6. Bolzán AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutation Res* 2002;512:121-134.
7. Abeeleh MA, Ismail ZB, Alzaben KR, et al. Induction of diabetes mellitus in rats using intraperitoneal Streptozotocin: A Comparison between 2 Strains of Rats. *Eur J Sci Res* 2009;32(3):398-402.
8. Hayashi K, Kojima R, Ito M. Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice. *Biol Pharm Bull* 2006;29(6):1110-1119.
9. Zhang M, Lv XY, Li J, et al. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res* 2008;2008:1-9.
10. Arora S, Ojha SK, Vohora D. Characterisation of STZ induced diabetes mellitus in Swiss albino mice. *Global J Pharmacol* 2009; 3(2):81-84.
11. Durant S, Coulaud J, Delarche FH. Bromocriptine-induced hyperglycemia in Nonobese diabetic mice: Kinetics and Mechanisms of Action. *Rev Diabetic Studies* 2007;4(3):185-194.
12. Choi JH, Hwang IK, Yi SS, et al. Effects of streptozotocin-induced type 1 diabetes on cell proliferation and neuronal differentiation in the dentate gyrus; correlation with memory impairment. *Korean J Anat* 2009;42(1):41-48.
13. Roy K, Harris F, Dennison SR, et al. Effects of streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus on protein and ion concentrations in ocular tissues of the rat. *Diabetes Metab* 2005;13:154-158.
14. Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR, et al. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem* 2007;22(2): 60-64.
15. Li Z, Karlsson FA, Sandler S. Islet loss and alpha cell expansion in type 1 diabetes induced by multiple low-dose STZ administration in mice. *J Endocrinol* 2000;165:93-99.
16. Zhang X, Liang W, Mao Y, et al. Hepatic glucokinase activity is the primary defect in alloxan-induced diabetes of mice. *Biomed Pharmacother* 2007;63:180-186.
17. Moustafa SA. Toxic effects of alloxan in the rat. mechanism and protection with zinc. *Egyptian J Hosp Med* 2003;10:1-13.
18. El-Missirya MA, El Gindyb AM. Amelioration of alloxan induced diabetes mellitus and oxidative stress in rats by oil of *Eruca sativa* seeds. *Ann Nutri Metab* 2000;44:97-100.
19. Trivedi NA, Mazumdar B, Bhatt JD, et al. Effect of shilajit on blood glucose and lipid profile in alloxan-induced diabetic rats. *Indian J Pharmacol* 2004;36(6):373-376.
20. Geetha G. Gopinathapillai,PK, Sankar V. Antidiabetic effect of achyranthes rubrofusca leaf extracts on alloxan induced diabetic rats. Pakistan *J Pharm Sci* 2011;24(2):193-199.
21. Lakshma SM, Kumar AS, Srikanth S, et al. Anti-diabetic and antihyperlipidemic activity of *Ficus krishnae* L. in alloxan induced diabetic rats. *Preclinic J* 2010;1:14-18.
22. Tantibhedhyangkul W. Regulatory T cells and type 1 diabetes. *Siriraj Med J* 2006;58:1074-1080.
23. Aoki CA, Borchers AT, Ridgway WM, et al. NOD mice and autoimmunity. *Autoimmunity Rev* 2005;4:373-379.

24. Anderson M.S, Bluestone JA. The NOD mouse: A modelof immune dysregulation. *Annl Rev Immunol* 2004;23:447-485.
25. Zipris D, Lien E, Xie JX, et al. TLR activation synergizes with kilham rat virus infection to induce diabetes in BBDR rats. *J Immunol* 2005; 174:131-142.
26. Horwitz MS, Ilic A, Fine C, et al. Coxsackieviral-mediated diabetes: induction requires antigen-presenting cells and is accompanied by phagocytosis of beta cells. *Clin Immunol* 2004;110(2004):134-144.
27. Özcan M, Cao Q, Yilmaz E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 2004;306 (5695):457-461.
28. Chaabo F, Pronczuk A, Maslova E, et al. Nutritional correlates and dynamics of diabetes in the Nile rat (*Arvicanthis niloticus*): a novel model for diet-induced type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nutri Metab* 2010;15:7-29.
29. Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C,et al. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes* 1988;37(9):1163-1167.
30. Karasawa H, Nagata-Goto S, Takaishi K, et al. A novel model of type 2 diabetes mellitus based on obesity induced by high-fat diet in BDF1 mice. *Metab Clin Exp* 2009;58(3):296-303.
31. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res* 2005;52: 313-320.
32. Sawant SP, Dnyanmote AV, Mitra MS, et al. Protective effect of type 2 diabetes on acetaminophen-induced hepatotoxicity in male Swiss-Webster mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;316(2):507-519.
33. Ibrahim SS, Rizk SM. Nicotinamide: A cytoprotectant against streptozotocin-induced diabetic damage in wistar rat brains. *African J Biochem Res* 2008;2(8):174-180.
34. Punitha IS, Rajendran K, Shirwaikar A, et al. Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rats. *Evidence-Based Compl Alt Medicine* 2005;2(3):375–381.
35. Pari L, Saravanan R. The effect of succinic acid monoethyl ester on plasma and tissue glycoproteins in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *J App Biomed* 2006;4:187-196.
36. Novelli M, Bonamassa B, Masini M, et al. Persistent correction of hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice by a non-conventional radical scavenger. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* 2010;382:127-137.
37. Nakamura T, Terajima T, Ogata T, et al. Establishment and pathophysiological characterization of type 2 diabetic mouse model produced by streptozotocin and nicotinamide. *Biol Pharm Bull* 2006; 29(6):1167-1174.
38. Alenzi FQ. Effect of nicotinamide on experimental induced diabetes. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2009;8(1):11-18.
39. Tahara A, Matsuyama-Yokono A, Nakano R, et al. Effects of combination of dipeptidyl peptidase-IV inhibitor ASP8497 and antidiabetic drugs in streptozotocin-nicotinamide-induced mildly diabetic mice. *Eur J Phamacol* 2009;605:170-176.
40. Matsuyama-Yokono A, Tahara A, Nakano R, et al. Antidiabetic effect of dipeptidyle peptidase-IV inhibitors and sulfonylureas in streptozotocin-nicotinamide-induced mildly diabetic mice. *Metab Clin Experimental* 2009;58:379-386.
41. Simmons RA, Templeton LJ, Gertz SJ. Intrauterine growth retard-ation leads to the development of type 2 diabetes in the rat. *Diabetes* 2001;50(2001):2279-2286.

Editorial note
Manuscript received in original form on May 31, 2011;
accepted in final form on August 15, 2011