

## Peran *Cholecalciferol* Terhadap Perbaikan Resistensi Insulin Pada Mencit Model Diabetes

### *The role of Cholecalciferol in the Improvement of Insulin Resistance in Diabetic Mice Model*

Elly Nurus Sakinah

Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jalan Kalimantan No. 37 Kampus Tegalboto, Jember, Indonesia 68121

e-mail korespondensi: [ellyns.fk@unej.ac.id](mailto:ellyns.fk@unej.ac.id)

#### Abstrak

Resistensi insulin merupakan prediktor penting dalam kejadian diabetes melitus. Defisiensi vitamin D merupakan salah satu faktor risiko terjadinya resistensi insulin, serta terdapat hubungan antara hipovitaminosis vitamin D dengan terjadinya diabetes mellitus. *Cholecalciferol* merupakan salah satu bentuk vitamin D3. Kadar HOMA-IR merupakan salah satu parameter terjadinya resistensi insulin. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian *cholecalciferol* dapat memperbaiki kondisi resistensi insulin pada mencit model diabetes. Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negative (STZ+propilen glikol), kontrol positif (STZ+metformin), P1 (STZ+*cholecalciferol* dosis 25 ng), P2 (STZ+*cholecalciferol* dosis 50 ng), P3 (STZ+*cholecalciferol* dosis 100 ng). Mencit diberikan injeksi STZ dosis 150 mg/KgBB untuk mendapatkan kondisi hiperglikemia. Pemberian *cholecalciferol* selama 14 hari. Hasil perhitungan didapatkan rata-rata kadar HOMA-IR setelah perlakuan adalah kelompok kontrol negative (2,32), kontrol positif (0,825), P1 (0,975), P2 (0,5), P3 (0,3). Rata-rata kadar HOMA-B setelah perlakuan adalah kelompok kontrol negative (2,76), kontrol positif (11,92), P1 (18,4), P2 (10,88), P3 (35,35). Hasil analisis statistik menggunakan uji Kruskal wallis didapatkan  $p < 0,005$ . Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian *cholecalciferol* dapat memperbaiki resistensi insulin dengan parameter HOMA-IR dan HOMA B pada mencit model diabetes.

Kata Kunci : *cholecalciferol*, HOMA-IR, HOMA-B, streptozotocin

#### Abstract

*Insulin resistance is an important predictor of the incidence of diabetes mellitus. Vitamin D deficiency is one of the risk factors for insulin resistance, and there is a relationship between hypovitaminosis vitamin D with the prevalence of diabetes mellitus. Cholecalciferol is one form of vitamin D3. HOMA-IR levels are one of the parameters of insulin resistance. This study aims to prove that administration of cholecalciferol can improve insulin resistance conditions in diabetic mice model. This study used 20 mice divided into 5 groups negative control(STZ+propilen glycol), positive control (STZ+metformin), P1(STZ+cholecalciferol 25ng), P2(STZ+cholecalciferol 50ng), P3(STZ+cholecalciferol 100ng). Mice given STZ dose 150mg / KgBB intraperitoneal to obtain hyperglycemia conditions. Administration of cholecalciferol for 14 days. The result obtained average HOMA-IR level after treatment is negative control(2,32), positive control (0,825), P1(0,975), P2(0,5), P3(0,3). The result obtained average HOMA-B level after treatment is negative control (2,76), positive control (11,92), P1 (18,4), P2(10,88), P3(35,35). The result of statistical analysis using Kruskal wallis test obtained  $p < 0,005$ . The conclusion of this study is that administration of cholecalciferol may improve insulin resistance in diabetic model mice.*

Keyword : *cholecalciferol*, HOMA-IR, HOMA-B, streptozotocin

## Pendahuluan

Resistensi insulin memegang peran penting dalam patofisiologi terjadinya diabetes mellitus. Resistensi insulin ditandai dengan ketidakmampuan organ target seperti hepar, otot dan sel lemak merespons efek insulin, sehingga organ target gagal mengambil glukosa dalam darah menyebabkan terjadinya hiperglikemia. Penyebab resistensi insulin terjadi karena beberapa faktor diantaranya adalah faktor usia, obesitas, rendahnya aktifitas fisik, perubahan hormonal dan tingginya *intake* karbohidrat (Roosheroe *et al.*, 2012.). Vitamin D juga memegang peranan dalam terjadinya resistensi insulin. Hipovitaminosis vitamin D sering terjadi pada usia tua. Prevalensi pasien tua yang memiliki kadar vitamin D yang rendah sebesar 35,1%, sedangkan prevalensi pasien tua yang mengalami resistensi insulin sebesar 40% (Setiati *et al.*, 2007). Perubahan jaringan lemak *viscera intra abdomen* dan jaringan hepar menjadi penyebab terjadinya resistensi insulin pada orang tua. Konsentrasi vitamin D dalam darah pada pasien diabetes mellitus lebih rendah dibandingkan dengan orang normal. Terdapat hubungan antara hipovitaminosis vitamin D dengan fungsi sel beta, sehingga orang dengan hipovitaminosis vitamin D berisiko terjadi resistensi insulin (Chiu *et al.*, 2004)

*Cholecalciferol* merupakan salah satu bentuk vitamin D3. Vitamin D3 diketahui memiliki fungsi dalam meregulasi homeostasis kalsium dan terbukti dapat meningkatkan sintesis insulin oleh sel beta pankreas (Pittas *et al.*, 2007). Pemberian *cholecalciferol* per oral selama 14 hari terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi streptozotocin (Santos *et al.*, 2005). Pemberian *cholecalciferol* per oral selama 14 hari terbukti dapat meningkatkan translokasi GLUT4 otot rangka pada tikus yang diinduksi streptozotocin (Sakinah, 2013)

Resistensi insulin dapat diukur dengan berbagai macam metode, dapat secara langsung dengan menggunakan tes supresi insulin dan *hyperinsulinemic euglycemic glucose clamping*, maupun pengukuran secara tidak langsung dengan menggunakan tes toleransi glukosa intravena, tes toleransi glukosa oral, tes toleransi makanan, dan *homeostasis model of assessment-IR* (HOMA). Metode HOMA IR merupakan metode yang paling sering dilakukan karena mudah dilakukan serta dapat memperkirakan estimasi sensitivitas insulin dari konsentrasi glukosa puasa dan kadar insulin plasma puasa. Hubungan antara kadar glukosa dan

kadar insulin saat kondisi basal tersebut menggambarkan keseimbangan antara sekresi insulin dan efek penggunaan glukosa di organ target seperti hepar. Model HOMA IR dapat digunakan untuk mengukur resistensi insulin pada manusia maupun tikus dan mencit (Mather, 2009; Esteghamati *et al.*, 2010).

## Metode Penelitian

### Bahan Penelitian

Hewan coba: mencit (*Mus musculus*) strain swiss Webster (Balb/c) yang memenuhi kriteria inklusi dengan pakan pellet serta air suling karena lebih stabil dan untuk mengontrol perubahan pH pada air minum.

Bahan kimia : vitamin D yaitu *cholecalciferol*, STZ dari sigma Aldrich, metformin, rat ELISA insulin kit merk *elabscience*, *propylene glycol*, larutan dapar sitrat.

### Pembuatan larutan *cholecalciferol*

*Cholecalciferol* ditimbang sekitar 1 mg kemudian dilarutkan dalam 100 mL *propylene glycol*. Larutan ini merupakan larutan baku primer yang akan diencerkan sesuai dosis yang akan diberikan kepada mencit seperti pada lampiran.

Volume pemberian *cholecalciferol*, metformin dan *propylene glycol* tidak boleh melebihi batas volume lambung mencit. Volume lambung mencit  $\pm 1$  mL, setelah dikurangi makanan dan minuman maka sebaiknya volume bahan perlakuan yang disonde tidak melebihi 0,5 mL. Pada penelitian ini volume bahan perlakuan yang disonde adalah 0,3 mL. *Cholecalciferol* diberikan sekali sehari selama 14 hari secara per oral. Pengambilan rentang dosis ini berdasar pada indeks terapi vitamin D pada hewan coba mencit. Dosis 50 ng merupakan dosis aman yang tidak menyebabkan hiperkalsemia dan kalsifikasi jaringan pada hewan coba mencit (Vieth, 2006). Setiap hari kondisi mencit dipantau, dilakukan penimbangan berat badan setiap minggu.

### Hewan coba model diabetes

Aklimatisasi hewan coba selama 1 minggu di Laboratorium Farmakologi FK Unair agar terbiasa hidup dalam lingkungan yang baru. Hewan coba

ditempatkan pada lingkungan yang nyaman, tidak gaduh, suhu ruangan 27°C, ditempatkan dalam kandang yang bersih, beralas sekam, satu kandang satu mencit, siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap, diberikan pakan pellet dan minum air suling. Jika terdapat mencit yang sakit atau mati dikeluarkan dari penelitian.

Setelah aklimatisasi, pada hari pertama mencit diinjeksi STZ 150 mg/kgBB yang dilarutkan dalam dapar sitrat dengan konsentrasi 22,5 mg/ mL dan disuntikkan secara intraperitoneal. Mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 4 jam sebelum injeksi STZ untuk mencegah aspirasi dan mengosongkan lambung. Puasa mencit dilakukan dengan cara tidak diberi pakan dan kandang dikosongkan dari sekam. Pada malam pertama setelah injeksi STZ mencit diberi larutan dekstrosa 10% untuk menghindari *sudden hypoglycemic post injection*. Dua hari setelah induksi STZ, mencit dipuasakan selama 6 jam, kemudian diambil darah dari ekor mencit untuk diukur kadar glukosa darah puasanya menggunakan alat *easy touch glucose test*. Mencit dinyatakan mengalami hiperglikemia jika kadar glukosa darah antara 180-500 mg/dL (Etuk, 2010). Setelah mengalami hiperglikemia, mencit dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K(-) merupakan mencit yang diinduksi STZ dan diberikan *propylene glycol*, K(+) merupakan mencit yang diinduksi STZ dan diberikan metformin, P1 merupakan mencit yang diinduksi STZ dan diberikan *cholecalciferol* dosis 1 (25 ng), P2 merupakan mencit yang diinduksi STZ dan diberikan *cholecalciferol* dosis 2 (50ng), dan P3 merupakan mencit yang diinduksi STZ dan diberikan *cholecalciferol* dosis 3 (100ng).

#### Pengukuran kadar insulin puasa

Sebanyak 100 µL standard atau sampel ditambahkan pada tiap sumuran, kemudian diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C. Setelah itu cairan dibuang dan ditambahkan dengan 100µL *biotinylated detection Ab* dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C kemudian dicuci sebanyak tiga kali, selanjutnya ditambahkan 100µL HRP *conjugate* dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian dicuci sebanyak 5 kali. Sebanyak 90µL reagen substrat ditambahkan dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Lalu ditambahkan stop solution 50µL, kemudian dibaca pada panjang gelombang 450nm.

#### Pengukuran kadar HOMA-IR

Kadar HOMA-IR diukur dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Ins} \times \text{GDP}}{405}$$

Ket:

Ins : Kadar Insulin Puasa (uU/mL)

GDP : Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dL)

#### Pengukuran HOMA-B

Kadar HOMA-B diukur dengan menggunakan rumus berikut

$$\text{HOMA-B} = \frac{(360 \times \text{kadar insulin puasa (uU/mL)})}{(\text{kadar GDP(mg/dL)} - 63)}$$

#### Analisis statistik

Pada penelitian ini data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) namun tidak homogen ( $p < 0,05$ ), sehingga analisis statistik menggunakan uji Kruskal-wallis. Dari hasil uji Kruskal-wallis didapatkan  $p < 0,05$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar HOMA-IR pada minimal dua kelompok.

#### Hasil Penelitian

##### Hewan coba model diabetes

Penelitian ini menggunakan metode injeksi STZ dosis 150mg/kgBB untuk mendapatkan model hewan coba hiperglikemia. Rata-rata kadar glukosa darah puasa hewan coba sebelum dan sesudah perlakuan disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Kadar Glukosa darah puasa sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	Kadar GDP awal (mg/dL)	Kadar GDP post STZ (mg/dL)	Kadar GDP akhir (mg/dL)
K(-)	85,25	387,5	387,75
P1	130,5	382,5	145,25
P2	84,75	364,5	123
P3	105,25	321	82,5
K(+)	97,25	345,25	153,25

Dari Tabel 1 diketahui bahwa rata-rata kadar glukosa darah puasa awal seluruh mencit dalam batas normal yaitu kurang dari 180 mg/dL. Setelah diinjeksi dengan STZ semua mencit mengalami hiperglikemia dengan kadar glukosa darah antara

180-500mg/dL dengan rata-rata kadar glukosa darah puasa setelah induksi STZ adalah  $374,57 \pm 73,90$  mg/dL. Hiperglikemia yang bermakna terjadi dua hari setelah injeksi STZ. Setelah perlakuan pemberian *cholecalciferol* per oral selama 14 hari terjadi penurunan kadar glukosa darah puasa pada kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol negatif kadar glukosa darah puasa masih tetap tinggi di atas 180 mg/dL.

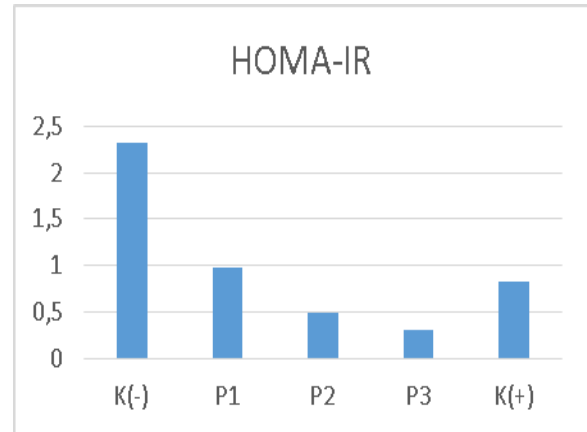
#### Pengukuran kadar insulin puasa dan HOMA-IR

Hasil pengukuran kadar insulin puasa dan hasil perhitungan kadar HOMA-IR disajikan dalam Tabel 2 dan Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Rata-rata kadar GDP akhir, kadar insulin puasa dan HOMA-IR

Kelompok	Kadar GDP akhir (mg/dL)	Kadar insulin puasa (uU/mL)	HOMA-IR
K(-)	387,75	2,45	2,32
P1	145,25	2,64	0,975
P2	123	1,62	0,5
P3	82,5	1,58	0,3
K(+)	153,25	2,28	0,825

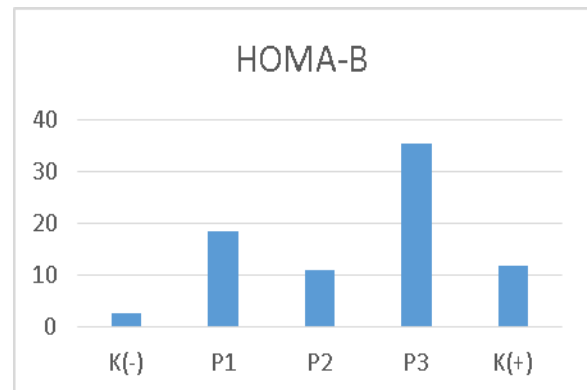
Dari Tabel 2 diketahui bahwa pada kelompok K(-) memiliki nilai insulin tinggi namun kadar glukosa darah puasanya juga tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa insulin yang disekresikan oleh sel beta pankreas belum mampu menurunkan kadar glukosa darah puasa, yang berarti bahwa terjadi kondisi resistensi insulin. Kondisi resistensi insulin ditentukan dengan parameter kadar HOMA-IR. Semakin tinggi kadar HOMA-IR menunjukkan tingginya resistensi insulin. Kadar HOMA-IR kelompok kontrol negatif memiliki nilai tertinggi menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif mengalami resistensi insulin. Kadar HOMA-IR kelompok perlakuan lebih rendah dibanding dengan K(-). Hasil analisis statistik Kruskal wallis didapatkan nilai  $p=0,003$  ( $p<0,05$ ). Hal ini menunjukkan terdapat pengaruh *cholecalciferol* terhadap penurunan kadar HOMA-IR jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Grafik rata-rata kadar HOMA-IR tiap kelompok disajikan dalam Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Grafik rata-rata kadar HOMA-IR kelompok perlakuan

#### Pengukuran kadar HOMA-B

Kadar HOMA-B merupakan parameter kekuatan sel beta pankreas dalam mensekresi insulin, semakin tinggi nilai kadar HOMA-B menunjukkan bahwa kekuatan sel beta semakin baik. Pada penelitian ini didapatkan kadar HOMA-B kelompok K(-) memiliki nilai terendah, hal ini menunjukkan bahwa kekuatan sel beta pankreas dalam mensekresi insulin rendah. Nilai HOMA-B tertinggi terdapat pada kelompok P3. Kadar HOMA-B disajikan dalam Gambar 2 sebagai berikut.



Gambar 2. Grafik rata-rata kadar HOMA-B kelompok perlakuan

#### Pembahasan

Pada penelitian ini, hewan coba yang diberikan injeksi STZ 150mg/kgBB intraperitoneal dosis

tunggal, pada semua kelompok telah mengalami hiperglikemia yaitu kadar glukosa darah telah antara 180-500mg/dl lebih tinggi secara bermakna dari kadar glukosa darah awal. Hal ini sesuai dengan penelitian Sobrevilla *et al.*, 2011, yang menunjukkan bahwa dosis tunggal 150mg/kgBB dan menunjukkan hasil hiperglikemia pada hari kedua dan ketujuh serta bertahan hingga 8 minggu, sehingga waktu sampai dengan 8 minggu ini dapat digunakan untuk uji suatu bahan yang diduga memiliki efek hipoglikemik. Pemilihan STZ ini tidak berdasar kemampuan STZ untuk menginduksi jenis diabetes tertentu, tetapi lebih digunakan untuk mempelajari patogenesis diabetes melitus, sebagai alat untuk menguji respons suatu obat (Chatzigeorgiou, 2009). Kondisi mencit pada fase ini adalah fase *Non Insulin Requirement* (NIR) dengan alasan kelompok kontrol hiperglikemia dapat tetap hidup sampai hari ke-14 dan kelompok yang diterapi dengan obat metformin dapat berespon dengan baik, walaupun tanpa diberikan insulin (Yamazaki *et al.*, 2009). STZ merupakan donor NO dalam dosis besar, NO dapat menyebabkan destruksi sel beta pankreas, menyebabkan fragmentasi DNA melalui alkilasi DNA sehingga terjadi perubahan DNA sel beta pankreas. STZ memberikan penghambatan pada siklus krebs sehingga menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Efek ini secara kuat membatasi produksi ATP mitokondria dan menyebabkan pengurangan ATP dalam sel beta pankreas dan menyebabkan kondisi hiperglikemia (Szkudelski, 2001; Lenzen, 2008).

Pemberian *cholecalciferol* selama 14 hari dapat menurunkan kadar HOMA-IR dan dapat menaikkan kadar HOMA-B dibandingkan dengan kelompok K(-). Hal ini menunjukkan bahwa *cholecalciferol* dapat memperbaiki resistensi insulin. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hurst *et al.*, 2013, bahwa suplementasi vitamin D dapat memperbaiki resistensi insulin. *Cholecalciferol* memiliki efek positif terhadap *signaling* insulin disebabkan oleh regulasi kalsium intraseluler. Homeostasis  $Ca^{2+}$  terganggu pada pasien diabetes (Alvarez *et al.*, 2010). Keseimbangan kalsium sitosol diperlukan untuk menstimulasi translokasi GLUT4 yang diperlukan untuk meng-*uptake* glukosa menuju organ target. *Cholecalciferol* akan berikatan dengan reseptornya dan menghasilkan efek genomik dan efek non genomik. Efek genomik *cholecalciferol* (D3) pada otot rangka karena adanya ikatan antara *cholecalciferol* (D3) dengan VDR pada otot rangka di nukleus. Ikatan ini akan mengaktifkan transkripsi gen mRNA dan sintesis protein *de novo* yang akan

meningkatkan kalmodulin yang merupakan protein pengikat  $Ca^{2+}$  (Ceglia *et al.*, 2012).

Efek non genomik *cholecalciferol* didapat dari ikatan *cholecalciferol* dengan reseptor vitamin D di membran. Ikatan ini akan memberikan efek lebih cepat dibanding efek genomik. *Cholecalciferol* akan meningkatkan  $Ca^{2+}$  sitosol melalui keluarnya  $Ca^{2+}$  dari retikulum sarkoplasma. *Cholecalciferol* akan mengaktifkan jalur *signal* transduksi phosphoinositol-3-kinase (PI3K). PI3K akan mengaktifkan fosfolipase C (PLC) selanjutnya membentuk diasil gliserol (DAG) dan inositol-trifosfat (IP3). IP3 inilah yang akan mengeluarkan  $Ca^{2+}$  dari retikulum sarkoplasma. Hal ini menyebabkan peningkatan konsentrasi  $Ca^{2+}$  sitosol.  $Ca^{2+}$  sitosol yang tinggi ini dibutuhkan untuk translokasi GLUT4 melalui aktivasi AMPK.  $Ca^{2+}$  akan mengaktifkan AMPK melalui CaMK kinase (CaMKK). Homeostasis  $Ca^{2+}$  terganggu pada pasien diabetes. *Cholecalciferol* memiliki efek positif terhadap *signaling* insulin dikarenakan regulasi kalsium intraseluler tersebut. Jalur ini tidak tergantung insulin, sehingga dapat menjadi jalur alternatif untuk meningkatkan translokasi GLUT4 dan dapat memperbaiki resistensi insulin (Girgis *et al.*, 2013). Hal ini juga sesuai dengan penelitian Sakinah, 2013, bahwa *cholecalciferol* dapat meningkatkan translokasi GLUT4 di otot rangka mencit hiperglikemia.

### Kesimpulan

Pemberian *cholecalciferol* dapat memperbaiki resistensi insulin melalui parameter HOMA IR dan HOMA B pada mencit model diabetes.

### Daftar Pustaka

- Alvarez JA, Ashraf A. 2009. Role of Vitamin D in Insulin Secretion and Insulin Sensitivity for Glucose Homeostasis. *International Journal of Endocrinology*, Article ID 351385
- Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. 2009. The Use of Animal Models in the Study of Diabetes Mellitus. *in vivo*. 23: 245-258.
- Chiu KC, Chu A, Liang V, Go W, *et al.* 2004. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and  $\beta$  cell dysfunction 1–3. *Am J Clin Nutr*. 79: 820–825.
- Etuk EU. 2010. Animals models for studying diabetes

- mellitus. *Agric. Biol. J. N. Am.* 1(2): 130-134.
- Esteghamati A, Ashraf H, Khalilzadeh O, Zandieh A et al., 2010. Optimal cut-off of homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) for the diagnosis of metabolic syndrome: third national surveillance of risk factors of non-communicable diseases in Iran (SuRFNCD-2007). *Nutrition & Metabolism*, 7:26
- Girgis CM. 2013. The Roles of Vitamin D in Skeletal Muscle: Form, Function, and Metabolism. *Endocrine Reviews*. 34: 33–83.
- Hurst P, Stonehouse W, Coad J. 2013. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient - a randomised, placebo-controlled trial. *British Journal of Nutrition*. 103 (04): 549
- Lenzen S. 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 51:216–226.
- Mather K. 2009. Surrogate measures of insulin resistance: of rats, mice, and men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 296: 398–399.
- Roosheroe AG, Setiati S, Istanti R. 2012. Insulin Resistance as One of Indicators for Metabolic Syndrome and Its Associated Factors in Indonesian Elderly. *Acta Med Indones-Indones J Intern Med*. 44 (3).
- Santos RS, Vianna LM. 2005. Effect of cholecalciferol supplementation on blood glucose in an experimental model of type 2 diabetes mellitus in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats. *Clinica Chimica Acta*. 358: 146–150.
- Sakinah EN. 2013. Pharmacodynamics Study of Cholecalciferol to GLUT4 Protein Translocation in muscle fiber of hyperglycemia mice which induced by streptozotocin. *Folia Medica Indonesiana*. 49(3).
- Setiati S, Oemardi M, Sutrisna B. 2007. The role of ultraviolet-B from sun exposure on vitamin D3 and parathyroid hormone level in elderly women in Indonesia. *Asian J Gerontol Geriatr Asian Journal of Gerontology & Geriatrics*. 2(2): 126–132.
- Sobrevilla J, Boone VV, Aguillar C, roman RR et al. 2011. Effect of Varying Dose and Administration of Streptozotocin on Blood sugar in Male CD1 Mice. *Proc. West. Pharmacol. Soc*. 54: 5-9.
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res*. 50: 536-546.