

اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی بن سرخ (*Allium jesdianum*) بر بیان ژن GLUT4 و تعدیل درد در مدل دیابت موش صحرایی

مریم رفیعی راد^۱، مشعان نومان سعود^۲، زهرا شیبانی^۳

۱- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، ایذه، ایران. نویسنده مسئول: Maryamrafieirad@iau.ac.ir

۲- کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

۳- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: ژن GLUT4 یکی از مهم‌ترین انتقال‌دهنده‌های گلوکز است که در بافت‌های حساس به انسولین، از جمله کبد، بیان می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره بن سرخ بر میزان قند خون، درد و بیان GLUT4 در موش‌های دیابتی طراحی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۲ موش صحرایی نر ویستار (۲۵۰-۳۰۰ g) در چهار گروه بررسی شدند: کنترل سالم، دیابتی درمان‌نشده، دیابتی درمان‌شده با دوز ۲۵۰ mg/kg عصاره بن سرخ و دیابتی درمان‌شده با دوز ۵۰۰ mg/kg عصاره بن سرخ. دیابت با تزریق داخل صفاقی STZ (60 mg/kg) القا شد. پس از پنج روز، موش‌هایی با قند خون بالای ۲۰۰ mg/dL دیابتی تلقی شدند. گروه‌های درمانی به مدت ۲۸ روز عصاره بن سرخ دریافت کردند. در پایان، قند خون اندازه‌گیری و بیان ژن GLUT4 در بافت کبد با Real-time PCR بررسی شد. داده‌ها با آزمون واریانس دوطرفه و توکی تحلیل شدند. ($P < 0.05$)

نتایج: تزریق STZ موجب افزایش معنی‌دار سطح گلوکز خون در موش‌های دیابتی شد. درمان با عصاره بن سرخ در دوزهای ۲۵۰ mg/kg ($P < 0.01$) و ۵۰۰ mg/kg ($P < 0.001$) موجب کاهش معنی‌دار قند خون شد. موش‌های دیابتی حساسیت بیشتری به درد نشان دادند، اما درمان با دوز ۵۰۰ mg/kg عصاره بن سرخ آستانه درد را افزایش داد. تجویز عصاره بن سرخ بیان ژن GLUT4 را در موش‌های دیابتی کاهش داد.

نتیجه‌گیری: عصاره بن سرخ قادر به کاهش سطح گلوکز خون و کاهش درد نوروپاتی دیابتی در موش‌های دیابتی است. همچنین به نظر می‌رسد با کاهش بیان ژن GLUT4 در بافت کبد، بر مکانیسم تنظیم گلوکز تأثیر بگذارد.

کلمات کلیدی: عصاره بن سرخ، دیابت، درد، GLUT4، موش صحرایی

مقدمه

دیابت یک بیماری متابولیکی است که عمدتاً به دلیل اختلال در گیرنده های انسولین یا کاهش انسولین ایجاد می شود و عوامل ژنتیکی و محیطی مختلفی در بروز این بیماری مؤثر هستند. این بیماری دارای عوارض مختلفی مانند بیماریهای قلبی - عروقی، اختلال بینایی و نوروپاتی دیابتی می باشد. دیابت شیرین شامل مجموعه ای از بیماری های مزمن است که با افزایش قندخون (هیپرگلیسمی) همراه است (۱). هیپرگلیسمی مزمن باعث فعال شدن پروتئین کیناز C، افزایش واکنش غیرآنزیمی قندها با پروتئین ها و لیپیدها و در نتیجه تغییر در فعالیت آنزیم های سلول می شود (۲). از طرفی، اتو اکسیداسیون گلوکز، تولید رادیکال های فعال اکسیژن را افزایش می دهد و باعث القای استرس اکسیداتیو در مبتلایان به دیابت می شود. در بیش از ۶۰٪ افراد مبتلا به دیابت، آسیب نوروپاتی های محیطی ناشی از استرس اکسیداتیو نوروپاتی محیطی قابل تشخیص است (۳). نوروپاتی محیطی در مراحل اولیه با افزایش فعالیت فیبرهای عصبی همراه است و باعث اختلال در حساسیت طبیعی سیستم عصبی به محرک های دردزا و ایجاد درد حرارتی دیابتی می شود. درد نوروپاتی از دردهای شایع بیماران مبتلا به دیابت بوده و یک درد مزمن با منشأ محیطی و مرکزی است که به دلایل مختلف ایجاد می شود (۴). ناقل غشائی گلوکز ایزوفرم ۴ (GLUT-4) از مهم ترین انتقال دهنده های گلوکز در پستانداران است که در بافت های حساس به انسولین از جمله بافت عضلانی، بافت کبد و بافت قلب بیان می شود (۵). گلوکز به طور آزادانه از غشاء پلازما عبور نمی کند بلکه انتقال آن در سلول با پروتئین انتقال دهنده غشاء انجام می شود. در بیماری دیابت بدلیل عدم وجود حساسیت کافی به انسولین، عملکرد GLUT4 در غشای سلول ها کاهش پیدا می نماید و این مسئله منجر به کاهش برداشت گلوکز توسط سلول ها شده و سبب افزایش قندخون می گردد (۶). اغلب ترکیبات

طبیعی و بخصوص گیاهان طبی می توانند منبع یافتن ترکیبات جدید باشند. گیاه بن سرخ (*Allium jesdianum* Boiss. & Buhse) یکی از گیاهان بومی و در معرض خطر ایران محسوب می شود (۷). این گیاه در ارتفاعات بالای رشته کوه زاگرس (۱۸۰۰ تا ۲۶۰۰ متر) رشد می کند و اهالی منطقه از پیاز و بخش های هوایی آن برای درمان سرماخوردگی، درد معده، دردهای روماتیسمی، بیماری های ناشی از رطوبت، و مشکلات کلیوی استفاده می کنند و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی نیز می باشد با وجود کاربردهای درمانی این گیاه، تحقیقات اندکی درباره ترکیبات شیمیایی و فعالیت های زیستی آن منتشر شده است (۸، ۹) گونه بن سرخ حاوی ترکیبات شیمیایی مختلفی مانند فلاونوئیدها، پلی فنول ها و ترکیبات گوگردی است. همچنین، خواص آنتی اکسیدانی، ضدسرطانی، ضد درد، ضدافسردگی، ضدقارچی، ضدباکتریایی، محافظت کننده کلیه و کبد، تقویت کننده سیستم ایمنی، پرتودهی محافظتی و خون ساز این گیاه اثبات شده است. علاوه بر این، بن سرخ می تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی برای بهبود پایداری اکسیداتیو مواد غذایی غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع، کنترل رشد میکروارگانیسم ها و افزایش ایمنی مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد (۷). ترکیبات سولفیدی و ترپنوئیدی، بخش اصلی اسانس گیاه را تشکیل می دهند (۱۰). با توجه به عوارض جانبی کم-تر گیاهان دارویی نسبت به داورهای صنعتی و شیمیایی در این مطالعه تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه بن سرخ بر میزان قندخون، درد و بیان ژن ترانسپورتر ۴ در رت های نر و یستار دیابتی شده با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

گروه بندی حیوانات و القاء دیابت

در این تحقیق تجربی از موش های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط دمایی

شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه به عنوان (*Allium jesdianum* Boiss) استفاده شد. سپس برگهای آن جدا شده در هوای آزاد و در سایه به مدت یک هفته خشک شد. پس از خشک شدن برگ ها مقدار مورد نظر توزین و توسط آسیاب برقی (شرکت پارس خزر ساخت ایران) به پودر بسیار ریز تبدیل شدند. پودر سپس به مدت ۱۱ ساعت در اتانول ۱۰ درجه و در دمای اتاق خیسانده شد. مخلوط پودر گیاه و الکل هر روز به اندازه کافی و در چندین نوبت به هم زده شد. در پایان ۱۱ ساعت مخلوط الکل و پودر از صافی های ریزی عبور داده شده تا عصاره آن بدست آید. عصاره بدست آمده در خلأ تحت تقطیر قرار گرفت تا الکل آن به طور کامل تبخیر شد. در پایان پس از تبخیر الکل، عصاره به صورت پودر قهوه‌ای بدست آمد. درجه خلوص عصاره ۳۱٪ محاسبه گردید (۱۳).

ارزیابی آستانه درد

در این روش ابتدا حیوان درون یک محدود کننده قرار گرفت، سپس حیوان روی جایگاه در دستگاه تیل فلیک (شرکت برج صنعت، ایران) قرار داده شد. با تاباندن گرمای ۵۰ درجه سانتی گراد روی نقطه ای در فاصله ۸ سانتی متری از نوک دم موش های صحرایی، مدت زمان تأخیر پس کشیدن رفلکسی و یا دور کردن دم از کانون گرمایی ثبت گردید. زمان قطع گرما (Cut Off Time) به منظور پیشگیری از صدمه بافتی در دم، روی ۱۰ ثانیه تنظیم و کنترل شد. مدت زمان تأخیر در کشیدن دم در سه مرتبه و به فاصله ۱۸۰ دقیقه، پس از مرحله سنجش خون بعد از پایان تجویز عصاره بن سرخ، اندازه گیری شد و میانگین آنها به عنوان زمان تأخیر هر موش اعلام گردید. این عمل برای تمامی گرو های مورد آزمایش انجام گرفت (۱۳).

انجام تکنیک Real Time RT-PCR

استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری کشور QIAGEN شرکت RNeasy mini kit لهستان انجام گرفت. تعیین mRNA توسط RT-PCR به

مناسب (22 ± 2) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت خاموشی با دسترسی آزاد به آب و غذای یکسان در لانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی ایذه نگهداری شدند. برای آسان شدن کار و سازش با شرایط محیط و آزمایش کننده، حیوانات روزانه چند دقیقه دست آموز می-شدند. روش کار این تحقیق با کد IR.IAU.SHK.REC.1403.179 مورد تصویب کمیته‌ی اخلاق در پژوهش واحد شهرکرد قرار گرفت. حیوانات جهت انجام آزمایش به گروه‌های ۸ تایی بصورت زیر تقسیم‌بندی شدند. گروه سالم بدون دریافت عصاره (سالمین)، گروه دیابتی درمان نشده (بدون دریافت عصاره)، گروه‌های دیابتی درمان شده با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره بمدت ۲۸ روز، روزانه به روش تجویز داخل معده یا گاوژ دریافت نمودند (۱۱). در این مطالعه برای دیابتی کردن موش‌ها از طریق تزریق درون صفاقی ۶۰ mg/kg داروی استرپتوزوتوسین (STZ) ساخت کشور آمریکا) استفاده شد. ابتدا در روز سوم و سپس روز پنجم، ضمن خونگیری از ناحیه- دم موش‌ها، با استفاده از نوار گلوکویاب و دستگاه اندازه-گیری قند خون (گلوکومتر مدل Rightest Bionime GM110، شرکت خسرو مدیسا طب ایران) قند خون موش‌ها اندازه-گیری و میزان قند خون بیش از ۲۰۰ میلی-گرم بر دسی-لیتر، دیابتی در نظر گرفته شد. کلیه-ی تجویزهای عصاره بصورت گاوژ و در ساعت ۱۰ تا ۱۲ صبح انجام گردید (۱۲). ۲۴ ساعت پس از آخرین تجویز مجدداً میزان قندخون ناشتای حیوانات اندازه-گیری گردید و در پایان، حیوانات با کتامین/ایلازین بصورت عمیق بیهوش شده و جهت ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی خون، از قلب آنها خونگیری بعمل آمد و بافت کبد جداسازی شده، به آزمایشگاه منتقل شدند.

تهیه عصاره گیاه بن سرخ

گیاه بن سرخ در اواسط فصل بهار از حوالی شهرستان ایذه جمع آوری شده و پس از شناسایی توسط کارشناسان گیاه

مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰° به مدت ۴۰ ثانیه بود. پس از مرحله PCR، جهت مطالعه ویژگی پرایمرها، از دماهای ۵۰ تا ۹۹ درجه سانتی گراد برای تهیه منحنی ذوب استفاده گردید. از RNA Polymrase II به عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان GLUT4 استفاده گردید. الگوی توالی پرایمرها در جدول شماره ۱ بیان شده اند. CT های مربوط به واکنش ها توسط نرم افزار دستگاه Real time-PCR استخراج و ثبت گردید.

وسیله دستگاه روتور ژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله ای TAKARA One Step SYBR از شرکت تاکارا (ژاپن) مطابق با دستور العمل شرکت استفاده گردید. (Shaibani, Rafieirad, 2024) آنالیز منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار انجام گرفت. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده دستگاه روتورژن در Real time-PCR شامل: ۴۲° به مدت ۲۰ دقیقه، ۹۵° به مدت ۲ دقیقه و ۴۰° سیکل با ۹۴° به

جدول ۱- جدول پرایمرهای مورد استفاده

Gene	Primer pair
GAPDH	Forward: 5'-GGAGAAACCTGCCAAGTATG-3'
	Reverse: 5'-GAGTTGCTGTTGAAGTCACA-3'
Slc2a4/GLU4	Forward: 5'-CTGTTTTCTACTATTCAACCAGCA-3'
	Reverse: 5'-CTACTAAGAGCACCGAGACCA-3'

در دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ بیشتر بود. با توجه به نتایج نمودار ۲ مشخص می شود که تفاوت معناداری بین حداقل یک گروه در متغیرهای مورد بررسی وجود دارد. در ادامه برای بررسی اینکه کدام گروه ها با هم اختلاف معنادار دارند از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نتایج نشان داد بین گروه های کنترل، دیابت و دیابت + عصاره ۲۵۰ mg/kg و دیابت + عصاره ۵۰۰ mg/kg تفاوت معناداری در سطوح GLUT4 وجود دارد.

میزان بیان ژن GLUT4 در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت که از نظر آماری معنادار نبود. تیمار حیوانات دیابتی با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ توانست به طور معنی داری میزان بیان ژن GLUT4 را در گروه های تیمار نسبت به گروه دیابتی کاهش دهد

تجزیه و تحلیل داده ها

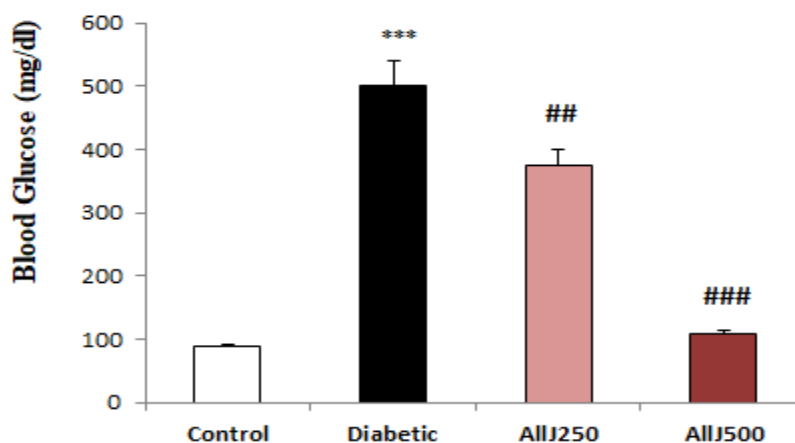
داده های این تحقیق به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ارائه و سپس با روش های مناسب آماری در محیط های نرم افزارهای SPSS و Dunnett.test، استفاده از روش های ANOVA one-way آنالیز شدند و تفاوت نتایج بین گروه های مختلف با حداقل $P < 0.05$ معنی دار تلقی شد.

نتایج

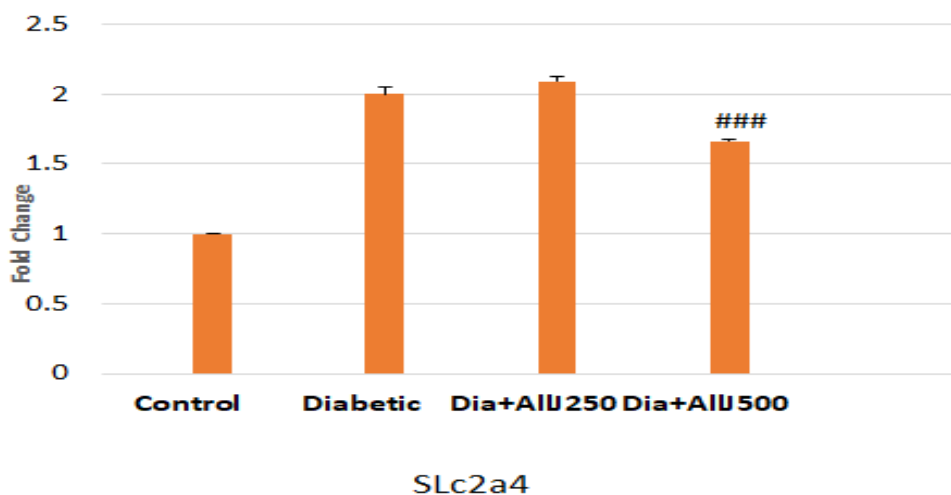
همانگونه که نمودار ۱ نشان می دهد تزریق STZ، موجب شده سطوح گلوکز خون در گروه های دیابتی نسبت به گروه های کنترل غیر دیابتی به طور معنی داری افزایش یابد ($p < 0.001$). از سوی دیگر سطوح گلوکز خون در گروه های دیابتی دریافت کننده دوزهای ۲۵۰ ($p < 0.01$) و ۵۰۰ ($p < 0.001$) میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی داری را نشان داد، این کاهش

در گروه های دیابتی موجب افزایش آستانه درد نسبت به گروه دیابت گردید و دوز ۲۵۰mg/kg عصاره بن سرخ تاثیری نداشت.

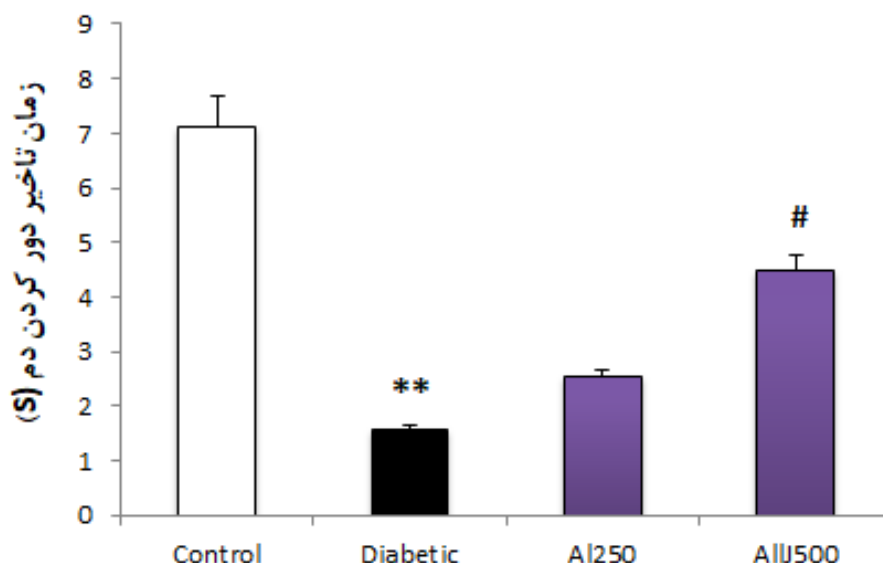
($p < 0.001$). نتایج (نمودار ۳) بررسی حاضر نشان داد زمان تاخیر دم در دور کردن دم از منبع گرما در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معنی داری را نشان داد و تجویز ۲۸ روزه ی دوزهای ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ



نمودار ۱: مقایسه (میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین) میزان گلوکز خون گروه کنترل، دیابتی، دیابتی، گروه های دیابتی دریافت کننده دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ. علامت (*) بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی دار با گروه های دیابتی. آنالیز واریانس یک طرفه و تست پشتیبان توکی)



نمودار ۲: مقایسه (میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین) میزان بیان ژن GLUT4 گروه کنترل، دیابتی، دیابتی، گروه های دیابتی دریافت کننده دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ. علامت (*) بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی دار با گروه های دیابتی. آنالیز واریانس یکطرفه و تست پشتیبان توکی)



نمودار ۳: مقایسه (میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین) ارزیابی آستانه درد با مدت زمان تاخیر دور کردن دم از کانون گرمایی گروه کنترل، دیابتی، گروههای دیابتی دریافت کننده دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ. علامت (*) بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل و علامت # بیانگر اختلاف معنی دار با گروه های دیابتی. آنالیز واریانس یک طرفه و تست پشتیبان توکی)

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، تجویز عصاره هیدروالکلی بن سرخ به مدت چهار هفته می-تواند میزان گلوکز خون در موش-های صحرایی دیابتی شده با STZ را بطور معنی-دار کاهش دهد. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد، دیابت سطح بیان ژن GLUT4 را در رت های نژاد ویستار افزایش می دهد. میزان بیان ژن GLUT4 در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بن سرخ نسبت به گروه دیابتی کاهش یافت. تحقیقات نشان داده اند گونه های *Allium* دارای مجموعه ای غنی از ترکیبات فعال زیستی هستند که به دلیل خواص آنتی اکسیدانی و مکانیسم های متنوع خود در هدف قرار دادن سلول های سرطانی مورد توجه قرار گرفته اند. ترکیباتی مانند آلیسین، فلاونوئیدها و ترکیبات گوگردی آلی (OSCs) دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی قابل توجهی هستند که بر فرآیندهای القای آپوپتوز، توقف چرخه سلولی و مهار تکثیر

تومور تأثیر می گذارند (۱۴). مطالعات نشان داده اند فلاونوئیدهای موجود در *Allium* قادر به مهار هضم کربوهیدرات و جذب گلوکز، همراه با تنظیم ترشح انسولین از طریق مسیرهای سیگنالینگ متعدد هستند (۱۵). مطالعات متعدد نشان داده اند فلاونوئیدهای رژیمی با تحریک انتقال GLUT4 به سطح سلول، مهار گلیکوژنز در کبد و کاهش جذب گلوکز در روده کوچک از طریق فعال سازی AMPK، به بهبود متابولیسم گلوکز کمک می کنند. این یافته ها نشان می دهند چندین مکانیسم در تنظیم سطح گلوکز نقش دارند (۱۶، ۱۷). عصاره بن سرخ تأثیر قابل توجهی در بهبود علائم مرتبط با سنگ کلیه دارد. این عصاره با افزایش نرخ دفع سنگ، تقویت عملکرد کلیه، کاهش درد و کنترل سایر علائم همراه، نقش مهمی در تسکین ناراحتی های مرتبط با این بیماری ایفا می کند. همچنین، خواص ضدالتهابی و محافظتی کلیوی این گیاه می تواند به عنوان یک رویکرد مکمل در مدیریت مشکلات کلیوی مورد بررسی قرار گیرد (۷). گونه های

می‌شوند (۲۱). تریگونلین یک آکالوئید پیریدینی قطبی و آب‌دوست است که از گونه‌های گیاهی مختلفی شامل *Allium sepapea*, *Trigonella foenum-graecum* و *Coffea sp* مشتق می‌شود. این ترکیب با تنظیم مسیر سیگنالینگ-PPAR γ /GLUT4-leptin/TNF- α موجب کاهش استرس اکسیداتیو کلیوی، مهار آپوپتوز سلول‌های کلیوی و کاهش فیبروز کلیه می‌شود (۲۲). در مطالعه‌ای نشان داده شده است، عصاره دانه کاسیا نقش مهمی در تنظیم مسیر سیگنالینگ LKB1-AMPK-GLUT4 در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی دارد. این تنظیم موجب بهبود حساسیت انسولینی عضله اسکلتی شده (۲۳).

نتیجه گیری: عصاره بن سرخ می‌تواند به طور قابل توجهی قند خون درد و بیان ژن Glut4 در موش‌های دیابتی را کاهش داد. مکانیسم این اثر ممکن است با ترمیم آسیب مسیر سیگنالینگ GLUT4 کاهش استرس اکسیداتیو در بافت کبد مرتبط باشد و می‌تواند به عنوان یک رویکرد درمانی بالقوه در مدیریت دیابت مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایزه به خاطر همکاری در انجام امور آزمایشگاهی کمال سپاس و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی را برای این مقاله گزارش نمی‌کنند.

فهرست منابع

1. Li X, Huang B, Liu Y, Wang M, Cui JQ. Uric acid in diabetic microvascular

آلیوم مانند سیر و پیاز حاوی ترکیبات زیستی فعال مانند آلیسین هستند که به دلیل اثرات محافظتی بر سیستم عصبی شناخته شده‌اند. آلیسین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است که به کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب کمک می‌کند. این ویژگی‌ها موجب افزایش علاقه به گونه‌های آلیوم، به‌ویژه بن سرخ، به عنوان درمان‌های طبیعی بالقوه برای حمایت از سلامت عصبی و پیشگیری از بیماری‌های نورودژنراتیو شده است (۱۸). تحقیقات نشان می‌دهد درد و حساسیت اغلب ناشی از التهاب ناشی از آسیب‌های بافتی و عفونت‌ها هستند که اعصاب را تحریک کرده و باعث آزادسازی موادی مانند پروستاگلاندین‌ها می‌شوند و درد را افزایش می‌دهند. به دلیل عوارض جانبی داروهای مصنوعی طولانی‌مدت برای تسکین درد، مطالعات بسیاری به بررسی خواص ضد درد و ضدالتهابی عصاره‌های گیاهی به عنوان جایگزین‌های طبیعی پرداخته‌اند تا درد را بدون اثرات منفی داروهای مصنوعی کاهش دهند (۱۹). مطالعه خاکساریان و همکاران (۲۰۱۶) (تأثیر دوزهای ۰.۵ تا ۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره بن سرخ و دوزهای ۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روغن اسانسی آن را بر فعالیت آنزیم‌های سیکلواکسیژناز-۱ (COX-1) و سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) (بررسی کرد. نتایج نشان داد، عصاره بن سرخ فعالیت COX-1 را کاهش داده اما فعالیت COX-2 را افزایش می‌دهد. در مقابل، روغن اسانسی این گیاه فعالیت COX-1 را افزایش داده اما تأثیری بر COX-2 ندارد (۲۰). در مطالعه دیگری عصاره هیدروالکلی برگ‌های بن سرخ را بررسی کرده است، خواص ضد درد قابل‌توجهی را نشان داد. این اثرات از طریق نواحی مختلف مغز و سیستم اوبیوئیدی ایجاد

complications: Mechanisms and therapy. J Diabetes Complications. 2025;39(2):108929.

2. Robertson R, Zhou H, Zhang T, Harmon JS. Chronic oxidative stress as a

mechanism for glucose toxicity of the beta cell in type 2 diabetes. *Cell Biochem Biophys*. 2007;48(2-3):139-46.

3. Babaei-Balderlou F, Zare S, Heidari R, Farrokhi F. Effects of Melatonin and Vitamin E on Peripheral Neuropathic Pain in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2010;13(2):1-8.

4. Morrow TJ. Animal models of painful diabetic neuropathy: the STZ rat model. *Curr Protoc Neurosci*. 2004;Chapter 9:Unit 9.18.

5. Kotani K, Peroni OD, Minokoshi Y, Boss O, Kahn BB. GLUT4 glucose transporter deficiency increases hepatic lipid production and peripheral lipid utilization. *J Clin Invest*. 2004;114(11):1666-75.

6. Khamaisi M, Potashnik R, Tirosh A, Demshchak E, Rudich A, Tritschler H, et al. Lipoic acid reduces glycemia and increases muscle GLUT4 content in streptozotocin-diabetic rats. *Metabolism*. 1997;46(7):763-8.

7. Nehzomi ZS, Shirani K. A comprehensive review of the pharmacological properties and medicinal uses of *Allium jesdianum* Boiss. & Buhse. *Journal of Medicinal Plants*. 2024 Jun 2;23(90):1-6.

8. Kamranfar F, Jaktaji RP, Shirani K, Jamshidi A, Samiei F, Arjmand A, et al. Protective effect of a standardized *Allium jesdianum* extract in an Alzheimer's disease induced rat model. *Neuroscience Letters*. 2023;815:137491.

9. Amiri H. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Allium jesdianum* Boiss. & Buhse From Iran. *Journal of Medicinal Plants*. 2007;6(21):39-44.

10. Gholami A, Arabestani MR, Ahmadi M. Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of *Allium Jesdianum* plant on a number of pathogenic bacteria resistant to antibiotics. *Pajouhan Scientific Journal*. 2016;14(4):18-26.

11. Kalantari Khalilabad H, Danesh M, Kheradmand P, Goodarzian M, Zeidooni L. Nephroprotective Effect of Hydroalcoholic Extract *Allium jesdianum* Boiss against Carbon Tetrachloride Induced Nephrotoxicity via Stress Oxidative in Mice. *Pharmaceutical Sciences*. 2018;24:89-96.

12. Asadi A, Rafieirad.M, Javid A. Effect of Oleuropein on blood glucose and gene expression of pyruvate kinase in Streptozotocin-induced diabetic male rats. *Journal of Plasma & Biomarkers*. 2024;2(17):27-43.

13. Seifi Zanganeh M, Rafiei Rad M, Sazgar H. The effect of Kardeh (*Biarum Bovei*) Hydro-alcoholic extract on pain threshold in STZ induced diabetic rats. *Journal of Herbal Drugs*. 2015;3(6):137-42.

14. Iwar K, Ochar K, Seo YA, Ha BK, Kim SH. Alliums as Potential Antioxidants and Anticancer Agents. *Int J Mol Sci*. 2024;25.(¹°)

15. Li M, Zhu X, Tian J, Liu M, Wang G. Dietary flavonoids from *Allium mongolicum* Regel promotes growth, improves immune, antioxidant status, immune-related signaling molecules and disease resistance in juvenile northern snakehead fish (*Channa argus*). *Aquaculture*. 2018;501.

16. Bondonno NP, Dalgaard F, Murray K, Davey RJ, Bondonno CP, Cassidy A, et al. Higher Habitual Flavonoid Intakes Are Associated with a Lower Incidence of

Diabetes. The Journal of Nutrition. 2021;151(11):3533-42.

17. Hatanaka R, Taguchi A, Nagao Y, Yorimoto K, Takesato A, Masuda K, et al. The flavonoid Sudachitin regulates glucose metabolism via PDE inhibition. Heliyon. 2024;10(16):e35978.

18. Yousefsani BS, Ghobadi A, Shirani K. Uncovering the neuroprotective powers of *Allium sativum*: exploring its potential to alleviate malathion- associated Parkinson's-like behavioral symptoms in a rat model. Journal of Medicinal Plants. 2024;23(89):68-82.

19. Hassani FV, Rezaee R, Sazegara H, Hashemzaei M, Shirani K, Karimi G. Effects of silymarin on neuropathic pain and formalin-induced nociception in mice. Iran J Basic Med Sci. 2015;18(7):715-20.

20. Khaksarian M, Gholami E, Alipour M, Sabooteh T, Asadi-Samani M. Investigation of the effects of the essence and extract of

Allium jesdianum on the activity of COX-1 and COX-2 enzymes. 2017;8:10.۱۰۱-۹۵

21. Khaksarian M, Alsadat MHM, Farazifard R, Safarpour F. A Study of Chemistry and Antinociceptive Properties of Medicinal Plant *Allium Jesdianum* Leaves and the Probable Role of Opioidergic System. Yafteh. 2008;9:21-6.

22. Li Y, Li Q, Wang C, Lou Z, Li Q. Trigonelline reduced diabetic nephropathy and insulin resistance in type 2 diabetic rats through peroxisome proliferator-activated receptor- γ . Exp Ther Med. 2019;18(2):1331-7.

23. Wang QY, Tong AH, Pan YY, Zhang XD, Ding WY, Xiong W. The effect of cassia seed extract on the regulation of the LKB1-AMPK-GLUT4 signaling pathway in the skeletal muscle of diabetic rats to improve the insulin sensitivity of the skeletal muscle. Diabetol Metab Syndr. 2019;11:108.



Protective effects of hydroalcoholic extract of *Allium jesdianum* on GLUT4 gene expression and pain modulation in a rat model of diabetes.

Maryam Rafieirad¹, Mashaan Noman Souod², Zahra Shaibani³

1- Associate Professor, Department of Biology, Iz.C., Islamic Azad University, Izeh, Iran. Corresponding Author: Maryamrafieirad@iau.ac.ir

2- Master's Degree, Department of Biology, Shi.C., Islamic Azad University, Shiraz, Iran

3- Assistant Professor, Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran

Received:2025.06.15

Accepted: 2025.09.06

Abstract

Background & Aim: The GLUT4 gene is one of the most important glucose transporters expressed in insulin-sensitive tissues, including the liver. This study aimed to investigate the effect of *Allium jesdianum* extract on glucose levels, pain, and GLUT4 expression in diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 32 male Wistar rats (250–300 g) were divided into four groups: healthy control, untreated diabetic, diabetic treated with 250 mg/kg red root extract, and diabetic treated with 500 mg/kg red root extract. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of STZ (60 mg/kg). Five days after injection, rats with glucose levels above 200 mg/dL were considered diabetic. The treatment groups received red root extract via gavage for 28 days. At the end of the experiment, glucose levels were measured, and GLUT4 gene expression in liver tissue was analyzed using Real-time PCR. Data were analyzed using two-way ANOVA and Tukey's post hoc test ($P < 0.05$).

Results: STZ significantly increased glucose levels in diabetic rats. Treatment with red root extract at 250 mg/kg ($P < 0.01$) and 500 mg/kg ($P < 0.001$) significantly reduced glucose levels. Diabetic rats showed greater sensitivity to pain, but treatment with 500 mg/kg red root extract increased pain threshold. Administration of red root extract decreased GLUT4 gene expression in diabetic rats.

Conclusion: *Allium jesdianum* extract effectively lowers glucose levels and alleviates diabetic neuropathic pain in diabetic rats. Additionally, it appears to reduce GLUT4 gene expression in liver tissue, influencing glucose regulation mechanisms.

Keywords: *Allium jesdianum*, Diabetes, pain, GLUT4, Rat.