

## اثر اولئوروپین بر میزان گلوکز خون و بیان ژن پیرووات کیناز در موش های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

اکرم اسدی<sup>۱</sup>، مریم رفیعی راد<sup>۲</sup>، آمنه جاوید<sup>۱</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، دانشکده فنی مهندسی و علوم، دانشگاه علم و هنر یزد.

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه، ایذه، ایران. نویسنده مسئول: [rafieirad.m@gmail.com](mailto:rafieirad.m@gmail.com)

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده فنی مهندسی و علوم، دانشگاه علم و هنر یزد

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۹

### چکیده

**زمینه و هدف:** با توجه به خواص آنتی اکسیدانی اولئوروپین و نقش آنتی اکسیدان ها در بهبود دیابت، این مطالعه با هدف بررسی اثر اولئوروپین بر میزان گلوکز خون و بیان ژن پیرووات کیناز در موش های صحرایی نر دیابتی انجام شد.

**مواد و روش ها:** تعداد ۴۰ سر موش صحرایی ۳ تا ۲ ماهه (با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم) به چهار گروه ده تایی تقسیم شدند. با تزریق استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) در موش های صحرایی نر دیابت نوع ۱ ایجاد شد. پس از تزریق داخل صفاقی STZ، حیوانات دارای قند خون بالای ۲۰۰ mg/kg، دیابتی تلقی شدند. گروه های کنترل و گروه دیابتی فقط سالیین و گروه های دیابتی درمان شده به مدت چهار هفته روزانه بصورت گاواژ اولئوروپین ۲۰، ۱۰ mg/kg دریافت کردند. در پایان دوره آزمایش تمام رت ها پس از بیهوشی بوسیله اتر با خون گیری از قلب تشریح شده و بافت کبد جداسازی و برای بررسی بیان ژن پیرووات کیناز به روش Real-time PCR استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آزمون توکی در سطح  $P < 0.05$  انجام شد.

**نتایج:** نتایج نشان داد در گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۰ و ۲۰ mg/kg اولئوروپین میزان گلوکز خون نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری کاهش یافت. بررسی بیان ژن پیرووات کیناز نیز نشان داد در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم دارای کاهش بود اما این کاهش از نظر آماری در حد معنی داری بیان نشد. از طرفی در گروه دیابتی تحت درمان با دوز های ۱۰ و ۲۰ mg/kg اولئوروپین میزان بیان ژن پیرووات کیناز نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری افزایش داشته است.

**نتیجه گیری:** نتایج تحقیق حاضر نشان داد که احتمالاً تجویز اولئوروپین توانسته از طریق تغییر میزان بیان ژن پیرووات کیناز باعث کاهش گلوکز خون شود.

**کلمات کلیدی:** اولئوروپین، پیرووات کیناز، دیابت، موش صحرایی

## مقدمه

بیماری دیابت شیرین سندرم پیچیده ای است که با افزایش گلوکز خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات و لیپید همراه می باشد. روند ابتلا به دیابت به عنوان شایعترین بیماری ناشی از اختلال متابولیسم در سالهای اخیر رو به افزایش است. در دیابت نوع یک سلول های بتای پانکراس دچار تخریب شده و به دنبال آن تولید انسولین کاهش می یابد. به دلیل این که اندام های اصلی بدن برای مصرف سوخت خود که عمدتاً گلوکز می باشد به هورمون انسولین نیاز دارند، این کاهش منجر به کاهش مصرف گلوکز توسط اندام ها و افزایش قند خون و گلوکونئوز می شود. انسولین با اثر تحریکی بر مسیر گلیکولیز و مکانیزم کنترل منفی بر مسیر گلوکونئوز باعث افزایش گلیکولیز و مهار گلوکونئوز در بافت ها و کاهش قند خون می شود (۱). روش های مختلفی برای درمان دیابت پیشنهاد شده است که می توان به داروهای شیمیایی پایین آورنده گلوکز خون و استفاده از انسولین اشاره نمود (۲). همچنین روش های پیوند پانکراس، پیوند جزایر لانگرهانس و حتی استفاده از سلول های بنیادی مورد توجه می باشند (۳-۴). اثرات جانبی داروهای شیمیایی و تداخلات آنها با یکدیگر که در بدن انسان یا در هنگام آزمایش های مختلف آشکار می شود مسئله مهمی است که باید مدنظر باشد (۵). آنزیم پیرووات (ATP phosphotransferase) (EC 2.7.1.40; PK) کیناز آخرین واکنش در مسیر گلیکولیز را کاتالیز میکند. در طی این واکنش انتقال گروه فسفریل از فسفواینول پیرووات به (Adenosine diphosphate) ADP انجام شده و پیرووات و ATP تولید می شوند. در پستانداران چهار ایزوآنزیم از پیرووات کیناز وجود دارد. این ایزوآنزیم ها را براساس نوع بافتی که در آن به

میزان بیشتری وجود دارند، نامگذاری کرده اند، که شامل ایزوآنزیم های (Red blood cell) (M1, M2 (Muscle) L (Liver) می باشند (۶). این ایزوآنزیم ها از لحاظ خواص سینتیک، الکتروفورتیک و ایمونولوژیک با یکدیگر تفاوت دارند و به نظر میرسد که متعلق به دو گروه مجزا هستند و هر گروه تحت کنترل یک ژن خاص قرار دارد. دو ایزوآنزیم L و R از ژن PKLR و با استفاده از پروموتورهای جداگانه تولید می شوند (۷)، در حالی که دو ایزوآنزیم M1 و M2 از ژن PKM و به کمک فرآیند alternative splicing ایجاد می شوند (۸).

پیرووات کیناز نقش متابولیکی مهمی در گیاهان، باکتری ها و جانوران دارد. ایزوآنزیم های مختلف پیرووات کیناز مصرف کربن متابولیکی به منظور بیوسنتز و استفاده پیرووات برای تولید انرژی را کنترل میکند (۹). مطالعات کمی در زمینه تغییرات بیان ژن های مسیر گلیکولیز تحت تأثیر عصاره های گیاهی صورت گرفته است. به عنوان مثال گزارش شده است عصاره گیاه دارویی دارچین، بیان ژن پیرووات کربوکسی کیناز (PEPCK) و ناقل ۲ گلوکز (GLUT 2) را در موش دیابتی افزایش داد و از کاهش بیان پیرووات کیناز جلوگیری کرد (۱۰). امروزه استفاده از داروهای گیاهی به دلیل تأثیر مثبت، عوارض جانبی کمتر و هزینه نسبتاً پایین رو به گسترش است، لذا تحقیق بر روی گیاهان دارویی حائز اهمیت فراوانی است. استفاده از طب گیاهی برای درمان بیماری دیابت در دنیا اهمیت فراوانی پیدا کرده است (۱۱). بیشترین ترکیبات فعال موجود در میوه ها، سبزیجات و گیاهان دارویی ترکیبات فنلی، نیتروژنی، ویتامین ها، ترپنوئیدها (کاروتنوئیدها و تری ترپن ها) و آلکالوئیدها هستند که برخی از آنها فعالیت آنتی اکسیدانی قوی دارند. آنتی اکسیدان ها در حیات انسان نقش مهم و اساسی ایفا میکنند. به طوری که مصرف آنتی اکسیدان ها با کاهش خطر

در این پژوهش تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۲ تا ۳ ماهه با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مرکز تحقیقات فیزیولوژی اهواز تهیه شد. این موش ها در قفس های ویژه ای نگهداری شده و دمای اتاق حیوانات حدود  $22 \pm 3$  درجه سانتی گراد بود. برنامه نوری مورد استفاده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با شروع روشنایی صبحگاهی در ساعت ۸ تعیین و حیوانات آزادانه به آب تازه و غذا به صورت نامحدود دسترسی داشتند. غذای موش ها از کارخانه خوراک دام پارس تهیه شد. علاوه بر این، بررسی های بالینی نیز به منظور یافتن علائم عام آسیب شناسی، به طور متناوب انجام می گرفت. در برنامه مطالعاتی، در ابتدا وزن گیری انجام شد و طبق وزن های به دست آمده، موش ها در قفس ها قرار گرفتند. با این عمل میانگین وزن هر قفس در یک رنج قرار گرفت و عامل وزن حذف شد.

برای دیابتی نمودن موش های صحرایی از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) (شرکت سیگماکانادا) به صورت تک دوز داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده می شود و پس از مشاهده علایم دیابت حدود ۷۲ ساعت بعد از تزریق (کاهش وزن، افزایش قندخون به میزان بیش از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر و پرنوشی)، تیمار داروها (۳) روز پس از تزریق استرپتوزوسین) به صورت گاوژ به مدت ۴ هفته به صورت روزانه انجام می شود. میزان وزن در ابتدا و انتهای مطالعه تعیین می شود. همچنین میزان گلوکز سرم نیز در انتهای هر هفته اندازه گیری می شود (با استفاده از ورید دمی). ۴۸ ساعت پس از آخرین گاوژ، ضمن رعایت شرایط ناشتای ۱۴ ساعته، موش های صحرایی توسط کتامین بیهوش شده و خونگیری از قلب آن ها به عمل می آید (۲۱). در پایان آزمایش موش ها را کشته و کبد را جدا کرده و بیان ژن پیرووات کیناز را با روش Real-time RT-

بیماریهای قلبی، دیابت و دیگر بیماریهای مرتبط با پیری از قبیل سرطان همراه است (۱۲). مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی مختلف، از طریق مکانیزم های متفاوتی قادر به کاهش قند خون هستند. عمده این مکانیزم ها عبارتند از: افزایش ترشح انسولین، فعال کردن مسیر کاتابولیسم گلوکز، مهار یا غیر فعال کردن مسیر گلوکونئوژنز، هدایت گلوکز به داخل سلول، جذب گلوکز آزاد و ممانعت از اتصال آن به پروتئین ها، افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و ممانعت از آسیب زایی اکسیدان ها می باشد (۱۳). برگ زیتون یک منبع قابل ملاحظه ترکیبات فنلی است که به لحاظ بیولوژیکی فعال هستند و ظرفیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و قدرت پاک کنندگی رادیکالی بهتری دارند (۱۴، ۱۵). همچنین ترکیبات فنلی مشتق از برگ و روغن زیتون با داشتن مقادیر قابل توجهی اولئوروپین (Oleuropein) از اکسیداسیون لیپوپروتئینی جلوگیری میکنند (۱۶). اولئوروپین یک ترکیب فنلی است که به لحاظ فارماکولوژیکی فعال ترین ماده موجود در روغن زیتون است (۱۷). همچنین تحقیقات نشان داده شده که اولئوروپین اثرات آنتی اکسیدان، ضد التهابی و ضد سرطانی دارد و قادر است در شرایط *in vitro* از اکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نماید (۱۸-۱۹). تحقیقات انجام شده توسط Karabag-Coban در سال ۲۰۱۷ اثرات تزریق داخل صفاقی اولئوروپین با دوز  $mg/kg$  ۲۰ را بر وضعیت آنتی اکسیدانی و ضد التهابی در موش صحرایی دیابتی شده تایید نموده است (۲۰). در مطالعه حاضر اثر محافظتی اولئوروپین خوراکی بر میزان گلوکز خون و بیان ژن پیرووات کیناز (آخرین آنزیم مسیر گلیکولیز) در موش های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش ها

### اندازه گیری گلوکز خون

برای اندازه گیری گلوکز خون یک قطره خون از انتهای دم موش روی دستگاه گلوکومتر ریخته و میزان گلوکز ناشتای خون آنها سنجیده شد. در طی مطالعه وزن موش ها نیز بوسیله ترازوی دیجیتالی اندازه گیری و ثبت شد (۲۳).

### بررسی بیان ژن پیرووات کیناز

استخراج RNA از بافت کبدی کل طبق دستورالعمل کیت (Geneall Hybrid-RTM) شرکت پیشگام انجام گرفت. پس از استخراج RNA، کمی و کیفیت آن با روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت. Revert Aid First از کیت cDNA گرفته شد. سنتز، (شرکت پیشگام Strand cDNA Synthesis Kit) استفاده شد (۲۳).

توالی پرایمرهای اختصاصی برای بیان ژن PK و GAPDH همچنین ژن به عنوان استاندارد درونی در جدول نشان داده شده است.

PCR بررسی می شود. حیوانات جهت انجام آزمایش به ۴ گروه ۱۰ تایی (n=10) بصورت زیر تقسیم بندی شدند.

۱- گروه کنترل سالم (در طول مطالعه فقط آب و غذا معمولی استفاده کردند)

۲- گروه دیابتی (با تزریق استرپتوزوتوسین (60 mg/kg))

۳- گروه تجربی ۱ گروه دیابتی دریافت کننده استرپتوزوتوسین + دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین را روزانه و به مدت ۲۸ روز به صورت خوراکی دریافت کردند.

۴- گروه تجربی ۲ گروه دیابتی دریافت کننده استرپتوزوتوسین + دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین را روزانه و به مدت ۲۸ روز به صورت خوراکی دریافت کردند. (۲۲).

نحوه تهیه اولئوروپین: اولئوروپین از شرکت گل اکسیرس پارس مشهد ایران خریداری گردید و در دوزهای مشخص تجویز گردید.

جدول ۱- توالی پرایمر های ژن کنترل داخلی و PK

Gene	Primer pair
<i>GAPDH</i>	<b>Forward: 5'-GGAGAAACCTGCCAAGTATG-3'</b> <b>Reverse: 5'-GAGTTGCTGTTGAAGTCACA-3'</b>
<i>PK</i>	<b>Forward: 5'-CGAAGGCGTGAAGAGGTTGA-3'</b> <b>Reverse: 5'-GCAGCGCCCAATCATCATCT-3'</b>

گرفت. میزان بیان ژن PK در نمونه با رقت سازی از نمونه cDNA نرمال برای ژن و رسم منحنی استاندارد به دست آمد (۲۳).

### تجزیه و تحلیل داده ها

داده های این تحقیق به صورت Mean±SEM ارائه و سپس با روش های مناسب آماری در محیط های نرم

### میزان بیان ژن پیرووات کیناز با روش Real time

#### PCR:

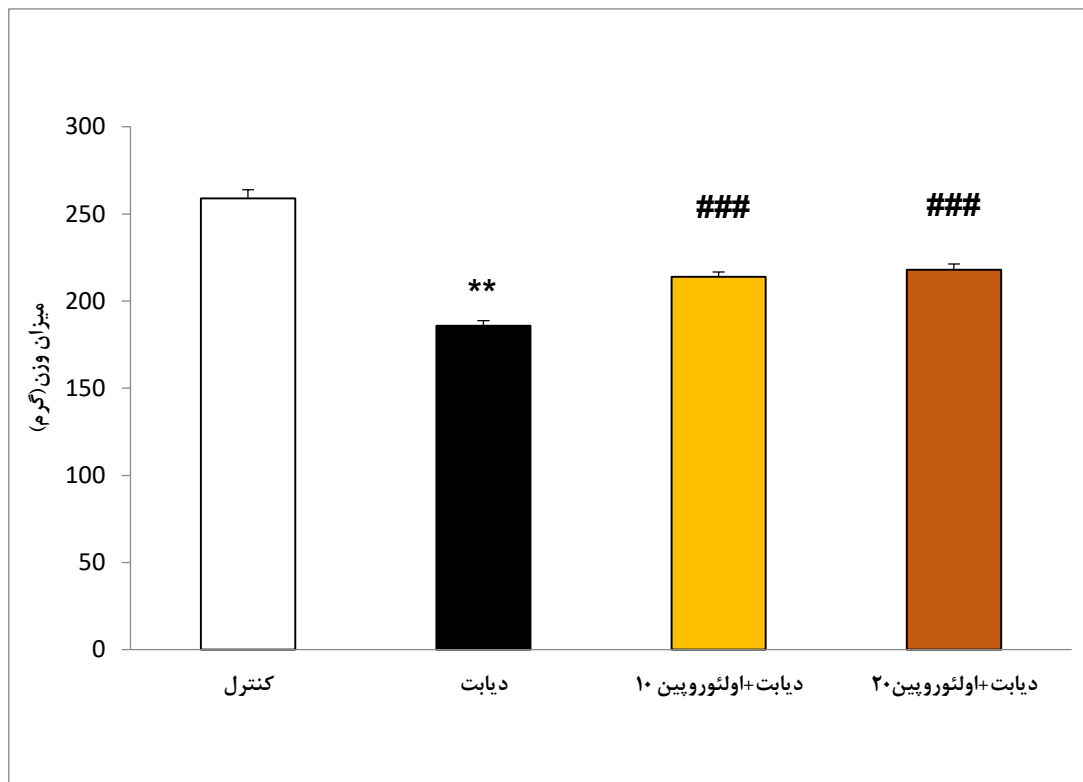
بر اساس روش استاندارد به صورت نسبی صورت گرفت. کمیت نسبی به وسیله اندازه گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ (Eva Green) با استفاده از دستگاه (RG-3000 Corbett Research) انجام

نشان داد گروه تجربی ۱ دریافت کننده دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین در روز باعث افزایش وزن موش های دیابتی شده نسبت به موش های گروه دیابتی شده است ( $p < 0.001$ ). همچنین نتایج حاصل از مشاهدات نشان داد که گروه تجربی ۲ دریافت کننده دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین در روز باعث افزایش وزن موش های دیابتی شده نسبت به موش های گروه دیابتی شده است ( $p < 0.001$ ).

افزارهای SPSS و Dunnett.test ، مقایسه گروهها و بررسی اثر اولئوروپین بر متغیرهای مورد مطالعه با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و تست پشتیبان Tukey انجام شد. تفاوت نتایج بین گروه های مختلف با حداقل  $P < 0.05$  معنی دار تلقی می شود.

### نتایج

تحلیل یافته ها نشان داد میزان وزن در موش های گروه دیابتی در مقایسه با موش های گروه کنترل سالم به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.001$ ). علاوه بر این نتایج



نمودار ۱: مقایسه (میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین) اثر مصرف خوراکی اولئوروپین بر میزان وزن موش های گروه کنترل، گروه دیابتی، گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین.

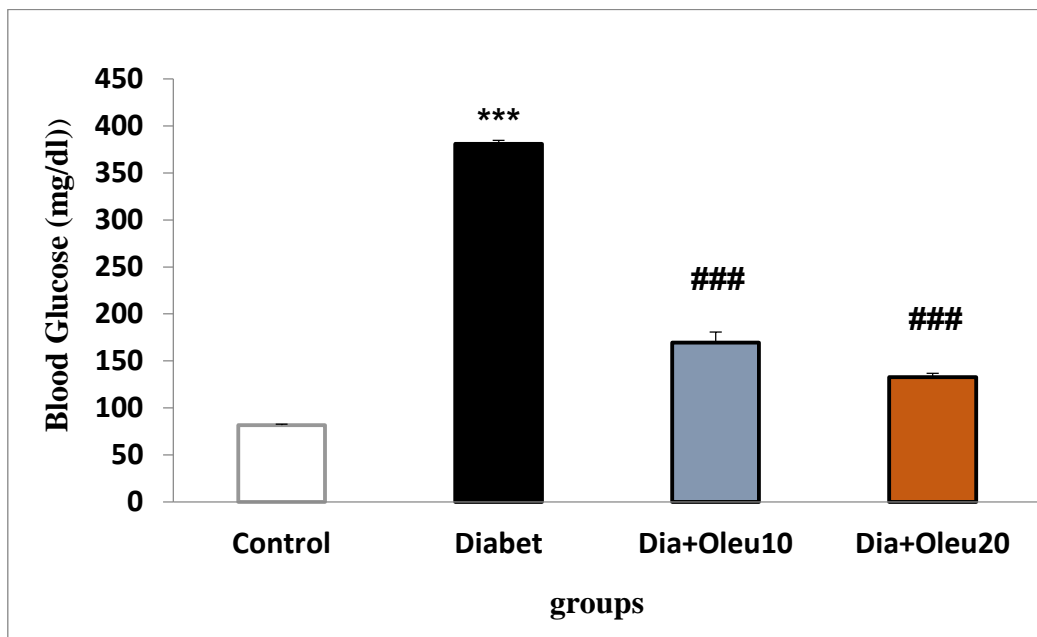
علامت (\*\*\*) بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.001$ ) و علامت (###) بیانگر اختلاف معنی دار با گروه های دیابتی ( $p < 0.001$ ). (n=10) آنالیز واریانس یک طرفه و تست پشتیبان (Tukey)

نشان داده شده است مقدار غلظت گلوکز خون در موش های گروه دیابتی در مقایسه با موش های گروه کنترل سالم

بررسی نتایج تاثیر تجویز اولئوروپین بر غلظت گلوکز خون موش های مورد مطالعه: همان طور که در نمودار ۲

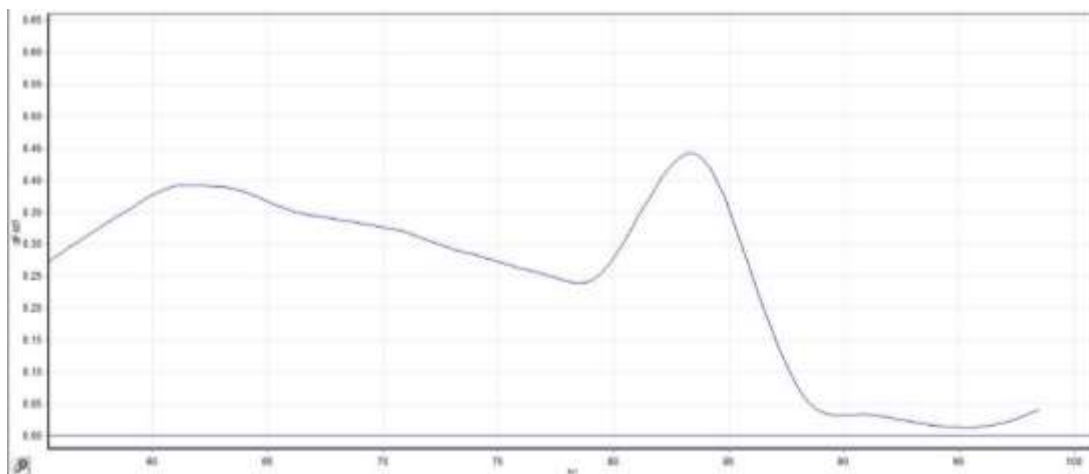
یافت ( $p < 0.001$ ). همچنین اختلاف غلظت گلوکز خون در موش های گروه دیابتی دریافت کننده دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین کاهش معناداری را نسبت به موش های گروه دیابتی نشان داد ( $p < 0.001$ ).

به طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0.01$ ). نتایج نشان داد که اختلاف غلظت گلوکز خون در موش های گروه دیابتی دریافت کننده دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین نسبت به موش های گروه دیابتی به طور معناداری کاهش

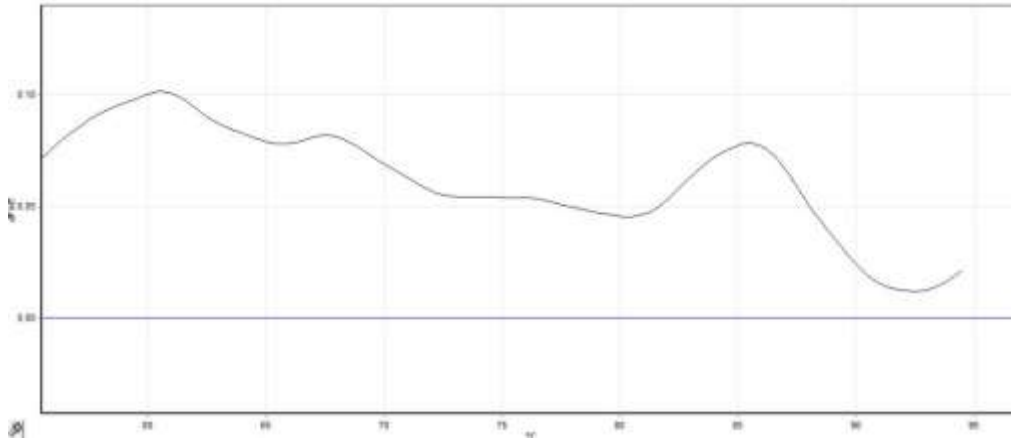


نمودار ۲: مقایسه (میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین) میزان گلوکز خون موش های گروه کنترل و گروه دیابتی، گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین.

علامت (\*\*\*) بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.001$ ) و علامت #### بیانگر اختلاف معنی دار با گروه های دیابتی ( $p < 0.001$ ). (n=10) آنالیز واریانس یک طرفه و تست پشتیبان (Tukey)



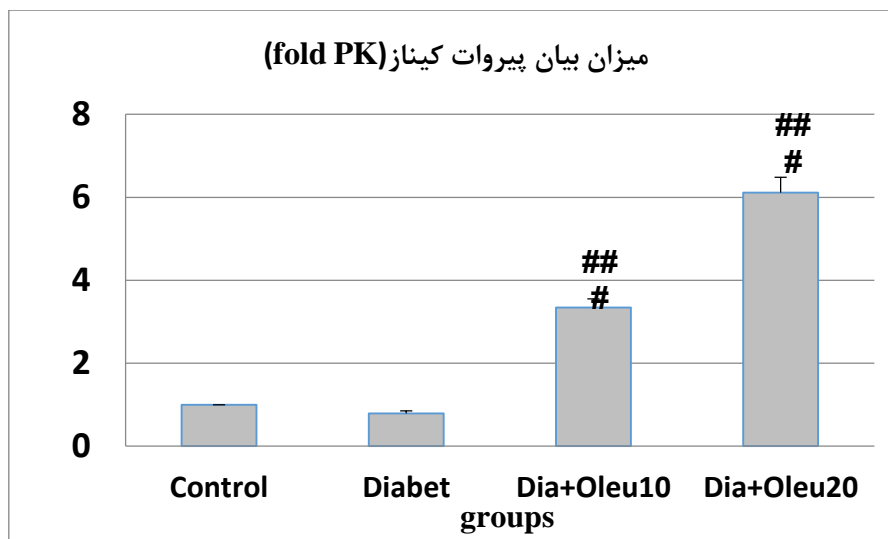
نمودار ۳ مربوط به منحنی ذوب ژن GAPDH در کبد نمونه موش



نمودار ۴ نمودار مربوط به منحنی ذوب ژن PK در کبد نمونه موش

داری نسبت به گروه دیابتی داشته است ( $p < 0.001$ ). همچنین میزان بیان ژن پیروات کیناز در موش های دیابتی دریافت کننده دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین به مدت ۲۸ روز در مقایسه با گروه دیابتی افزایش معنی داری را نشان داد ( $p < 0.001$ ).

**نتایج بررسی بیان ژن پیروات کیناز :** همانطور که در نمودار ۴ مشاهده می شود میزان بیان ژن پیروات کیناز در موش های گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم کاهش داشت اما از لحاظ آماری معنی دار نبود. همچنین میزان بیان ژن پیروات کیناز در موش های دیابتی دریافت کننده دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین افزایش معنی



نمودار ۵ مقایسه (میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین) تغییرات بیان ژن پیروات کیناز موش های گروه کنترل، گروه دیابتی، گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین. علامت (\*\*\*) بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.001$ ) و علامت ### بیانگر اختلاف معنی دار با گروه های دیابتی ( $p < 0.001$ ). (n=10) آنالیز واریانس یک طرفه و تست پشتیبان (Tukey).

## بحث

این پژوهش به منظور بررسی اثر اولئوروپین بر روی گلوکز ناشتای خون و میزان بیان ژن پیرووات کیناز در موش های صحرایی در چهار گروه کنترل سالم، گروه دیابتی و گروه دیابتی تحت تیمار با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین صورت گرفت. از سوی دیگر، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که القای دیابت تجربی در موش های صحرایی به طور معناداری سبب کاهش وزن این حیوانات نسبت به گروه کنترل می شود. وزن تمامی گروه های دریافت کننده اولئوروپین نسبت به گروه دیابتی افزایش نشان داد.

انسولین با اثر تحریکی بر آنزیم کلیدی مسیر گلیکولیز، یعنی گلوکوکیناز و مکانیسم کنترل منفی بر مسیر گلوکونئوژنز و آنزیم کلیدی آن فسفو انول پیرووات کربوکسی کیناز، باعث افزایش گلیکولیز و مهار گلوکونئوژنز در بافت ها و کاهش قند خون می شود (۲۵). دیابت از طریق تاثیرگذاری بر فعالیت ژن پیرووات کربوکسی کیناز، سبب کاهش میزان فعالیت این آنزیم در انتقال فسفات از فسفوانول پیرووات به ADP می شود که نتیجه این کاهش سطح فعالیت آنزیمی، بالارفتن سطح بیان ژن پیرووات کیناز در افراد دیابتی می شود (۲۶). کبد اندام اصلی هموستاز گلوکز بدن محسوب می شود. سلول های کبدی از طریق برداشت گلوکز خون، اثر روی مسیرهای گلیکولیز، گلوکونئوژنز و پنتوز فسفات در تنظیم گلوکز خون دخیل می باشند. در مسیر گلیکولیز آنزیم گلوکوکیناز و در مسیر گلوکونئوژنز، آنزیم فسفوانول پیرووات کربوکسی کیناز نقش کلیدی دارند و کاهش یا افزایش فعالیت آنها تأثیر چشمگیری بر تنظیم گلوکز خون دارد (۲۷).

پیرووات کیناز یک آنزیم است که در مسیر تجزیه گلوکز در سلول ها نقش دارد، اما تأثیر گلوکز خون در دیابت بیشتر به تغییرات در سطح گلوکز خون، ترشح انسولین، مقاومت به

انسولین و سایر فرایندهای متابولیکی مرتبط با دیابت مرتبط است. به علاوه، پیرووات کیناز به طور مستقیم تحت تأثیر گلوکز خون قرار نمی گیرد. در بیماران دیابتی، نقش اصلی گلوکز خون در مسیر مولکولی پیرووات کیناز به صورت غیرمستقیم است. افزایش سطح گلوکز خون در بیماران دیابتی ممکن است منجر به افزایش تولید پیرووات در سلول ها شود. این پیرووات می تواند به میتوکندری ها منتقل شده و در فرایند اکسید استفاده شود تا ATP تولید کند. اما در بیماران دیابتی، بخصوص در مواردی که مقاومت به انسولین وجود دارد، سلول ها ممکن است نتوانند گلوکز را به طور کامل جذب کنند و بخشی از آن به پیرووات تبدیل نشود. این ممکن است منجر به کاهش تولید ATP و کمبود انرژی در سلول ها شود (۲۸).

افزایش گلوکز در بیماران دیابتی می تواند تأثیرات متعددی بر مسیر مولکولی پیرووات کیناز داشته باشد. در بیماری دیابت نوع ۲، که به نام مقاومت به انسولین معروف است، بدن قادر به استفاده کامل از گلوکز نیست و سطح گلوکز در خون بالا می ماند. در ادامه، نحوه تأثیر افزایش گلوکز بر مسیر مولکولی پیرووات کیناز توضیح داده شده است.

افزایش سطح گلوکز در خون ممکن است منجر به کاهش فعالیت آنزیم پیرووات کیناز شود. این آنزیم در مسیر گلیکولیز نقش دارد و وظیفه تبدیل فسفوانول پیرووات (PEP) به پیرووات را دارد. با افزایش سطح گلوکز، نیاز به تجزیه آن افزایش می یابد و ممکن است فعالیت پیرووات کیناز در کنترل تولید ATP کاهش یابد (۲۸).

افزایش سطح گلوکز در خون منجر به افزایش تجزیه گلوکز و تولید بیشتر پیرووات می شود. در شرایط طبیعی، پیرووات به میتوکندری ها منتقل شده و در فرایند اکسیداسیون به انرژی تبدیل می شود. اما در بیماران دیابتی، کاهش فعالیت پیرووات کیناز می تواند به تجمع پیرووات در



افزایش گلوکز در بیماران دیابتی می‌تواند به اختلالات در هموستازیس (تعادل داخلی سلولی) منجر شود. سطح بالای گلوکز در خون ممکن است باعث افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتا در جزیره لانگرهانس و کاهش حساسیت سلول‌ها به انسولین شود. این اختلالات می‌توانند به مرور منجر به کاهش توانایی سلول‌ها برای جذب گلوکز و کاهش تولید ATP شود (۲۹).

در کل، افزایش گلوکز در بیماران دیابتی می‌تواند منجر به تغییراتی در مسیر مولکولی پیرووات کیناز شود، از جمله کاهش فعالیت آنزیم پیرووات کیناز، تجمع پیرووات، تأثیر بر تولید ATP، و تأثیر بر تراکم گلوکز در خون. این تغییرات می‌توانند عوارضی مانند کاهش تولید انرژی، نارسایی عضلانی، و تغییرات متابولیکی را در بیماران دیابتی ایجاد کنند.

کاهش تولید انسولین مهمترین مشخصه ی بیماری دیابت می باشد. انسولین با اثر تحریکی بر آنزیم کلیدی مسیر گلیکولیز، یعنی گلوکوکیناز و مکانیسم کنترل منفی بر مسیر گلوکونئوژنز و آنزیم کلیدی آن فسفو انول پیرووات کربوکسی کیناز، باعث افزایش گلیکولیز و مهار گلوکونئوژنز در بافت ها و کاهش قند خون می شود (۳۰). با توجه به روش مولکولی که در این مطالعه بکار برده شده است این مطالعه نیز صحت مطالعات گذشته را تأیید می نماید. از آنجا که در دیابت با دو مشکل اساسی یعنی عدم ترشح انسولین و قند خون بالا مواجه هستیم و اثر انسولین نیز از طریق تأثیر بر بیان ژن آنزیم های مسیر گلیکولیز و گلوکونئوژنز اعمال می شود.

نتایج این مطالعه نشان داد در گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۰ و ۲۰ mg/kg اولئوروپین میزان گلوکز خون نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری کاهش یافت. همچنین بررسی بیان ژن پیرووات کیناز نیز نشان داد در

سلول‌ها و خون منجر شود (۲۸). پیرووات کیناز نقش مهمی در تولید ATP دارد. با کاهش فعالیت این آنزیم، تولید ATP نیز کاهش می‌یابد. این موضوع می‌تواند کمبود انرژی در سلول‌ها و بافت‌ها را به همراه داشته باشد و عوارضی مانند خستگی، ضعف عضلانی، و کاهش عملکرد سیستم‌های بیولوژیکی را ایجاد کند. افزایش گلوکز در خون در بیماران دیابتی باعث افزایش تراکم گلوکز در خون می‌شود. این موضوع می‌تواند به تغییرات دیگری در مسیر مولکولی پیرووات کیناز و سایر مسیرهای متابولیکی منجر شود. به عنوان مثال، افزایش تراکم گلوکز در خون می‌تواند به فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (AMPK) منجر شود، که در نتیجه تحریک فعالیت این آنزیم، تنظیم متابولیسم گلوکز و تولید انرژی را تغییر می‌دهد (۲۸).

در شرایطی که سطح گلوکز در خون بیش از حد بالا باشد، سلول‌ها ممکن است ترجیح دهند گلوکز را تجزیه کنند و پیرووات را به لاکتات تبدیل کنند به جای آنکه آن را به میتوکندری‌ها منتقل کرده و در فرایند تأکسید استفاده کنند. این پدیده به عنوان "تراکم لاکتات" شناخته می‌شود. افزایش تراکم لاکتات می‌تواند منجر به اسیدوز لاکتیک (یا لاکتیک اسیدوز) شود که ممکن است به علت کاهش pH خون و اختلالات متابولیکی و عملکردی، عوارض جدی را برای بیمار داشته باشد (۲۹).

افزایش سطح گلوکز در خون می‌تواند تأثیری بر تولید ATP در میتوکندری‌ها داشته باشد. پیرووات که از تجزیه گلوکز به دست می‌آید، به میتوکندری‌ها منتقل می‌شود تا در فرایند اکسایش اکسید شده و ATP تولید کند. با افزایش سطح گلوکز، تجمع پیرووات ممکن است مسیر تأکسید درون میتوکندری را محدود کند و تولید ATP را کاهش دهد. این موضوع ممکن است باعث کمبود انرژی و عوارضی مانند خستگی، ضعف عضلانی و اختلالات عملکردی سایر سلول‌ها و بافت‌ها شود (۲۹).

داده است که اولئوروپین دارای خواص فارماکولوژیک فراوانی از جمله ضد آپتوزی، ضد دیابتی، ضد آریتمی، ضد تشنج، خاصیت متفاوت نوروپروتکتیو در ناهنجاری های مختلف عصبی از جمله آسیب های عصبی هیپوکامپ طی ایسکمی مغزی، آسیب مغزی پس از هیپوکسی و اکسیژن رسانی مجدد در مدل موش دیابتی دارد (۳۸-۴۲). مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی با مکانیزم های متفاوتی مانند: افزایش ترشح انسولین، فعال کردن مسیر کاتابولیسم گلوکز، مهار یا غیر فعال کردن مسیر گلوکونئوزنز، هدایت گلوکز به داخل سلول، جذب گلوکز آزاد و ممانعت از اتصال آن به پروتئین ها و ممانعت از جذب گلوکز از روده، قند خون را کاهش می دهند (۴۳). مطالعات نشان داده اند پیرووات کیناز یک آنزیم گلیکولیتیک است که به آهستگی کاتالیز می شود و در حضور فسفوانول پیرووات (PEP) منجر به فسفوریلاسیون آدنوزین دی فسفات (ADP) و آدنوزین تری فسفات (ATP) می شود. ایزوفریم M2 پیرووات - کیناز (PKM2) یک تنظیم کننده کلیدی سوخت و ساز و واسطه گلیکولیتیک است و توانایی تغییر متابولیسم گلوکز را دارد (۴۴). آنالیز بیان ژن می تواند در فراهم کردن اطلاعاتی در زمینه عوامل مؤثر در پیش آگهی بیماری مفید واقع شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد میزان بیان ژن پیرووات کیناز در موش های گروه دیابتی نسبت به موش های گروه کنترل سالم دارای کاهش بود اما این کاهش از نظر آماری در حد معنی داری بیان نشد. ولی در موش های گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین میزان بیان ژن پیرووات کیناز نسبت به موش های گروه دیابتی به طور معناداری افزایش یافت. از طرفی میزان بیان ژن پیرووات کیناز در موش های گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین به طور معناداری نسبت به موش های گروه دیابتی به مقدار بیشتری افزایش یافت. در بررسی که در گذشته داشتیم نشان داده

گروه دیابتی تحت درمان با دوز های ۱۰ و ۲۰ mg/kg اولئوروپین میزان بیان ژن پیرووات کیناز نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری افزایش یافته است. این بررسی اثر ضد دیابتی اولئوروپین را تایید میکند که در گذشته نیز به اثبات رسیده است.

از طرفی، به این نکته نیز می توان اشاره کرد که مسیرهای سیگنالینگ انسولین نقش مهمی را در کنترل بیان ژن های گلوکونئوزنیک نظیر G6Pase و PEPCK که سرعت گلوکونئوزن کبدی را تنظیم میکنند، بازی میکند. فسفوانول پیرووات کربوکسیلاز (PEPCK) یکی از آنزیم های کلیدی درگیر در گلوکونئوزن هست. بیان ژن PEPCK با انسولین و گلوکاگون کنترل می شود. بر پایه شواهد موجود، افزایش بیان ژن PEPCK در گروه ژل رویال را میتوان به نوعی به افزایش بیشتر سطوح انسولین در پاسخ به مصرف طولانی مدت ژل رویال نسبت داد (۳۱). G6Pase کبدی نقش مهمی در هموستاز گلوکز خون ایفا میکند. یک ویژگی مشخص دیابت نوع ۲ افزایش تولید گلوکز درون زه، عمدتاً به دلیل افزایش تولید گلوکز کبدی است (۳۲). در طول ناشتایی، گلوکونئوزن کبدی منبع اصلی تولید گلوکز درون زه است و آنزیم اصلی تنظیم گلوکونئوزن، G6Pase است (۳۳).

مواد دارای خاصیت آنتی اکسیدانی با ایجاد پایداری در کمپلکس نسخه برداری ژن فاکتور باز تولید سلول های بنای پانکراس، سبب باز تولید و حفاظت این سلول ها در برابر آسیب های مسمومیت سلولی استرپتوزوتوسین می شوند (۳۴). پلی فنول ها ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی هستند که قادرند رادیکال های آزاد را جذب نموده و از بدن در برابر بسیاری از بیماری ها محافظت کنند (۳۵). اولئوروپین (Oleuropein) جزء اصلی فعال عصاره برگ زیتون (یک محصول طبیعی از گروه سکوتیرپروئید) و مهم ترین پلی فنول یافت شده در آن می باشد (۳۷-۳۵). مطالعات نشان

ورا با تأثیر بر روی ترشح انسولین و متعاقباً تأثیر بر بیان ژن آنزیم های کلیدی مسیر گلیکولیز و گلوکونئوژنز میتواند در بهبود شرایط دیابتی موثر باشد (۲۵).

ارسلانده و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند موسیر ایرانی به طور معنی داری سطح گلوکز خون را احتمالاً از طریق کاهش بیان ژن آنزیم فسفوانول پیرووات کربوکسی کیناز کبد، یکی از آنزیم های گلوکونئوژنز کاهش داد (۴۹). همچنین در مطالعه دیار اسانس روغنی ساتوریا خوزستانیکا جمزاد به واسطه یک افزایش متوسط در میزان بیان ژن آنزیم های گلوکوکیناز و گلیکوژن فسفریلاز و کاهش میزان بیان ژن آنزیم فسفو انول پیرووات کربوکسی کیناز باعث کاهش قند در موشهای دیابتی شد (۵۰).

Yilmaz در مطالعه ای در سال ۲۰۰۶ تغییرات در فعالیت آنزیم پیرووات کیناز در بافت کبد و کلیه موش های صحرایی دیابتی القا شد توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار داد. نتایج آنها نشان داد که سطوح آنزیم پیرووات کیناز کبد در موش های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین در روزهای ۳ و ۱۲ نسبت به مقدار به دست آمد از گروه کنترل کاهش یافت. فعالیت پیرووات کیناز در کلیه در روز سوم در گروه دیابتی تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشت. با این حال، در روز ۱۲ سطوح پیرووات کیناز به طور قابل توجهی در کلیه های گروه دیابتی بالاتر از گروه کنترل بود (۵۱).

Zheng و همکاران در سال ۲۰۲۱ در مطالعه ای اثربخشی و مکانیسم اولئوروپین در کاهش دیابت و عوارض دیابت مورد بررسی قرار دادند. اولئوروپین میتواند عوارض دیابت از جمله نفروپاتی دیابتی، عوارض قلبی عروقی دیابت، رتینوپاتی دیابتی، بهبود ضعیف زخم، نوروپاتی دیابتی و اختلال عملکرد بیضه دیابتی را تسکین دهد. اولئوروپین آپوپتوز سلولی را معکوس می کند، بافت ها را بازسازی می کند، سازمان بافت شناسی را بازسازی می کند و استرس اکسیداتیو را در درمان عوارض دیابت کاهش می دهد. در

شد عصاره موسیر باعث کاهش بیان ژن آنزیم فسفوانول پیرووات کربوکسی کیناز شده است که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۴۵).

هم چنین در این مطالعه تأثیر اولئوروپین بر سطح گلوکز خون موش های دیابتی بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده مقدار غلظت گلوکز خون در موش های گروه دیابتی در مقایسه با موش های گروه کنترل سالم به طور معناداری افزایش یافت. نتایج نشان داد که اختلاف غلظت گلوکز خون در موش های گروه دیابتی دریافت کننده دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین نسبت به موش های گروه دیابتی به طور معناداری کاهش یافت. همچنین اختلاف غلظت گلوکز خون در موش های گروه دیابتی دریافت کننده دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین کاهش معناداری را نسبت به موش های گروه دیابتی نشان داد. در مطالعه قبلی استفاده از گیاه موسیر ایرانی به دلیل تقویت ترشح انسولین سرمی، باعث کاهش قند خون شده که نتایج آن با این مطالعه همخوانی دارد (۴۶). در مطالعه ی دیگری که انجام شد، عصاره برگ توت با خاصیت آنتی اکسیدانی باعث افزایش ترشح انسولین، کاهش قند خون و افزایش بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز شد که نتایج حاصل با نتایج حاصل از مطالعه ما همخوانی داشت (۴۷).

مطالعات مختلف نشان داده اند که مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی، از طریق مکانیزم های متفاوتی قادر به کاهش قند خون هستند. یک مطالعه ای که به بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی ریشه گیاه جغجغه بر وزن، میزان گلوکز خون و بیان ژن پیرووات کیناز در موشهای صحرایی دیابتی پرداخته است نشان می دهد که تجویز عصاره هیدرو الکلی ریشه گیاه جغجغه توانسته از طریق تغییر میزان بیان ژن پیرووات کیناز باعث کاهش گلوکز خون شود (۴۸). در یک تحقیقی دیگری که چهاردولی و همکارانش در سال ۲۰۱۵ انجام دادند مشاهده شد که عصاره هیدرو الکلی آلوئه

دیابتی تحت تیمار با ماده موثره اولئوروپین قرار می گیرند می تواند در کاهش میزان گلوکز خون مؤثر باشد. در مطالعه حاضر بیان ژن آنزیم پیرووات کیناز تحت تأثیر اولئوروپین به طور معنی داری در گروه دیابتی افزایش یافت. به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد تجویز اولئوروپین احتمالاً از طریق افزایش بیان ژن PK که یکی از ژن های کاتالیزکننده آخرین مرحله گلیکولیز می باشد، باعث کاهش گلوکز خون در موش های دیابتی می شود. لذا اولئوروپین میتواند به صورت کمکی در درمان و بهبود دیابت مؤثر واقع شود.

#### ملاحظات اخلاقی

پژوهش حاضر در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه با رعایت تمام ملاحظات اخلاقی بین المللی و روش های کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و مورد تایید کمیته اخلاق با کد IR.IAU.D.REC.1402.102 قرار گرفت در مراحل مختلف ضمن رعایت مسایل اخلاقی سعی شد از هر گونه آزار جسمی و روش غیرضروری اجتناب گردد.

#### حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک از دانشگاه علم و هنر یزد می باشد و در دانشگاه واحد ایذه انجام شده است و هزینه های تحقیق بر عهده دانشجو بوده است.

#### تعارض در منافع

هیچ گونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

#### فهرست منابع

1. Risbridger G, Wang H, Young P, Kurita T, Wang YZ, Lubahn D, et al. Evidences That Epithelial And Mesenchymal Estrogen Receptor Alpha

مجموع اولئوروپین یک ترکیب امیدوارکننده برای مدیریت دیابت و عوارض دیابت است و می تواند به عنوان یک ماده غذایی برای مبارزه با این بیماری ها استفاده شود (۵۲). همچنین گزارش شد است که اولئوروپین از تمایز سلول های چربی T3-L13 جلوگیری می کند (۵۳). در مطالعات دیابت، اولئوروپین به عنوان کاهش سطح گلوکز خون در موش های دیابتی ناشی از آلوکسان (۵۴) شناخته شده است. Nekooeian و همکاران در سال ۲۰۱۴ نقش استرس اکسیداتیو در اثرات محافظتی اولئوروپین در مدل موش دیابت نوع ۲ و فشار خون کلیوی همزمان انجام دادند. یافته ها این مطالعه نشان می دهد که اولئوروپین محافظت از قلب را ارائه میدهد، که ممکن است تا حدی به واسطه خواص آنتی اکسیدانی اولئوروپین باشد (۵۵). با توجه به روش مولکولی که در این مطالعه بکار برده شده است این مطالعه نیز صحت مطالعات گذشته را تأیید می نماید. از آنجا که در دیابت با دو مشکل اساسی یعنی عدم ترشح انسولین و قند خون بالا مواجه هستیم و اثر انسولین نیز از طریق تأثیر بر بیان ژن آنزیم های مسیر گلیکولیز اعمال می شود، این بررسی نشان داد اثر ضد دیابتی اولئوروپین که در گذشته نیز به اثبات رسیده است، از طریق بیان ژن آنزیم ها و سطح انسولین نیز قابل اثبات و تأیید می باشد.

#### نتیجه گیری

با بررسی نتایج به دست آمده از این تحقیق می توان نتیجه گرفت که اثر ضد دیابتی اولئوروپین در مطالعه حاضر مشهود است. بنابراین مدت زمانی که موش های

Mediates Effects Of Estrogen On Prostatic Epithelium. Dev Biol. 2001; 229(2): 432-42.

2. Karabag-Coban F, Hazman O, Bozkurt MF, Ince S. Antioxidant Status And Anti-Inflammatory Effects Of Oleuropein In

- Streptozotocin-Induced Diabetic Nephropathy In Rats. *Eur J Med Plants*. 2017; 18(2): 1-10.
3. Jemai H, Sayadi S. Heart Histopathology And Oxidative Features In Diabetic Rats And Protective Effects Of Oleuropein. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2015; 6(6): 383-9.
4. Meyer K, Deutscher J, Anil M, Berthold A, Bartsch G, Kiess W. Serum Androgen Levels In Adolescents With Type I Diabetes: Relationship To Pubertal Stage And Metabolic Control. *J Endocrinol Invest*. 2000; 23: 362-8.
5. Kumar S, Malhotra R, Kumar D. Antidiabetic And Free Radical Scavenging Potential Of Euphorbia Hirta Flower Extract. *Indian J Pharm Sci*. 2010; 72(4): 533-7.
6. Wooll JO, Friesen RHE, White MA, Watowich SJ, Fox RO, Ching Lee J, et al. Structural and functional linkages between subunit interfaces in mammalian pyruvate kinase. *Journal of Molecular Biology* 2001; 312: 525- 40.
7. Noguchi R, Yamada K, Inove H, Matsuda T, Tanaka T. The L-and R-type isozymes of rat pyruvate kinase are produced from a single gene by use a different promoters. *The Journal of Biological Chemistry* 1987; 262(29): 14366-71.
8. Noguchi T, Inove H, Tanaka T. The M1-and M2-type isozymes of rat pyruvate kinase are produced from the same gene by alternative RNA splicing. *The Journal of Biological Chemistry* 1986; 261(29): 13807-12.
9. Omar SH. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci Pharm* 2010;78(2):133-54.
10. Al Jamal AR, Ibrahim A Effects Of Olive Oil On Lipid Profiles And Blood Glucose In Type2 Diabetic Patients. *Int J Diabetes Metab* 2011; 19:19-22.
11. Anup KM, Smriti T, Zabeer A, Ram KS. Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of Euphorbia hirta in Streptozotocin induced diabetic rats. *Scholars Research Library*. 2012;4(2):703-7.
12. Özlem S, Aslan T, Tülay AÇ. Antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of extracts from medicinal plant Euphorbia platyphyllos L. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2013;7(19):1293-304.
13. Anup KM, Smriti T, Zabeer A, Ram K S. Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of Euphorbia hirta in Streptozotocin induced diabetic rats. *Scholars Research Library* 2012; 4 (2):703-7.
14. Omar SH. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Science Pharmacology*. 2010;30;78(2):133-54.
15. Lee OH, Lee BY, Lee J, Lee HB, Son JY, Park CS, et al. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*. 2009;100(23):6107-13.
16. Omar SH. Cardio protective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2011;18(3):111-21.
17. Nediani C, Ruzzolini J, Romani A, Calorini L. Oleuropein, a Bioactive Compound from *Olea europaea* L., as a potential preventive and therapeutic agent in

non-communicable diseases. *Antioxidants*. 2019;8(12):578.

18. Karabag-Coban F, Hazman O, Bozkurt MF, Ince S. Antioxidant status and anti-inflammatory effects of oleuropein in Streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *European Journal of Medicinal Plants*. 2017;18(2):1-10.

19. Ahmadvand H, Noori A, Ghasemi Dehnoo M, Bagheri S, Cheraghi R. Hypoglycemic, hypolipidemic and antiatherogenic effects of oleuropein in alloxan-induced type 1 diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2014;4(1):421-25.

20. Karabag-Coban F, Hazman O, Bozkurt MF, Ince S. Antioxidant status and anti-inflammatory effects of oleuropein in Streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *European Journal of Medicinal Plants*. 2017;18(2):1-10.

21. Rafieirad M, Abdolhassan Doulah AH, Goudarzi S. Evaluation of the Effect of Alpha-pinene on Blood Glucose and Lipid Profiles, in Diabetic Rats. *Journal of Animal Biology*. 2022; 14(3): 171-180.

22. Ghasemzadeh Dehkordi S, Doulah A, Rafieirad M. The Effect of Four Weeks Swimming Practice and Oleuropin Supplementation on Memory Impairment and Parkinson's Pain in Adult Male Rats. *The Quarterly Journal of Applied Biology*. 2022;35(1):180-195. 180-195.

23. Darvish Sargazi M, Sabbagh S, Miri H R, Najafi S, Sabbagh K. The effect of hydro-alcoholic *Prosopis farcta* fruit extract on blood glucose and gene expression of pyruvate kinase in type 1 diabetic rats. *yafte* 2016; 17 (4) :54-61.

24. Can A, Akev N, Ozsoy N, Bolkent S, Arda BP, Yanardag R, et al. Effect of Aloe vera leaf gel and pulp extracts on the liver in type-II diabetic rat models. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2004; 27(5): 694-8.

25. Chahardoli M, Mahmoodi M, Hajizadeh M, Khoramdel Azad H, Khoshdel A, Mirzaei M. Effect of Aloe Vera Hydroalcoholic Extract on Blood Glucose, Serum Insulin and the Key Enzymes in Metabolic Pathways of Glycolysis and Gluconeogenesis in Hepatocytes of Type 1 Diabetic Rats. *JRUMS*. 2015; 13 (8) :669-682.

26. Zhang X, Yang S, Chen J, Su Z. Unraveling the regulation of hepatic gluconeogenesis. *Front Endocrinol*. 2019; 9: 802.

27. Biyani MK, Banavalikar MM, Suthar AC, Shahani S, Sivakami S, Vidri J. Antihyperglycemic effects of three extract from *momordica charantia*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003; 88: 107-11.

28. Rajala A, Soni K, Rajala RVS. Metabolic and Non-metabolic Roles of Pyruvate Kinase M2 Isoform in Diabetic Retinopathy. *Sci Rep*. 2020 May 4;10(1):7456.

29. Lee IK. The role of pyruvate dehydrogenase kinase in diabetes and obesity. *Diabetes Metab J*. 2014 Jun;38(3):181-6.

30. Can A, Akev N, Ozsoy N, Bolkent S, Arda BP, Yanardag R, et al. Effect of Aloe vera leaf gel and pulp extracts on the liver in type-II diabetic rat models. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2004;27(5): 694-8.

31. Yeylaghi Ashrafi MR, Abednatanzi H, Ghazalian F. The effect of eight weeks of



high intensity interval training and nchromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. *RJMS* 2020; 27(8): 135-150 (Persian).

32. Haeusler RA, Camastra S, Astiarraga B, Nannipieri M, Anselmino M, Ferrannini E. Decreased expression of hepatic glucokinase in type 2 diabetes. *Mol Metabol.* 2015;4(3):222-6.

33. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Comprehen Physiol.* 2014;4(1):177-97.

34. Beppu H, Shimpo K, Chihara T, Kaneko T, Tamai I, Yamaji S and et al. Antidiabetic effects of dietary administration of *Aloe arborescens* Miller components on multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice: Investigation on hypoglycemic action and systemic absorption dynamics of aloe components. *J Ethnopharmacol* 2006; 103: 468-77.

35. Rahimi N, Delfan B, Motamed-Gorji N, Dehpour AR. Effects of oleuropein on pentylenetetrazol-induced seizures in mice: involvement of opioidergic and nitrergic systems. *J Nat.* 2017;71(2):389-96.

36. Pourkhodadad S, Alirezaei M, Moghaddasi M, Ahmadvand H, Karami M, Delfan B, et al. Neuroprotective effects of oleuropein against cognitive dysfunction induced by colchicine in hippocampal CA1 area in rats. *J Physiol Sci.* 2016 Sep;66(5):397-405.

37. Rahimi N, Delfan B, Motamed-Gorji N, Dehpour AR. Effects of oleuropein on pentylenetetrazol-induced seizures in mice: involvement of opioidergic and nitrergic systems. *J Nat.* 2017;71(2):389-96.

38. Dekanski D, Selaković V, Piperski V, Radulović Ž, Korenić A, Radenović L. Protective effect of olive leaf extract on hippocampal injury induced by transient global cerebral ischemia and reperfusion in Mongolian gerbils. *Phytomedicine.* 2011;18(13):1137-43.

39. De La Cruz JP, Del Río S, Arrebola MM, López-Villodres JA, Jebrouni N, González-Correa JA. Effect of virgin olive oil plus acetylsalicylic acid on brain slices damage after hypoxia-reoxygenation in rats with type 1-like diabetes mellitus. *Neurosci Lett.* 2010; 471(2):89-93.

40. Kuem N, Song SJ, Yu R, Yun JW, Park T. Oleuropein attenuates visceral adiposity in high-fat diet-induced obese mice through the modulation of WNT10b- and galanin-mediated signaling. *Mol Nutr Food Res.* 2014;58(11):2166-76.

41. Khalatbary AR, Ghaffari E, Mohammadnegad B. Protective role of oleuropein against acute deltamethrin-induced neurotoxicity in rat brain. *Iran Biomed.* 2015;19(4):247-53.

42. Khalatbary AL. Olive oil phenols and neuroprotection. *Nutr Neurosci.* 2013;16(6):243-9

43. Barzin M, Hosseinpanah F, Arzhan S, Azizi F. Trends of obesity and abdominal obesity in Tehranian adults. *Pajoohandeh Journal.* 2011; 16(5):212-8. (In Persian)

44. Janghorbani M, Amini M, Willett WC, Gouya MM, Delavari A, Alikhani S, et al. First nationwide survey of prevalence of overweight, underweight, and abdominal obesity in Iranian adults. *Obesity.* 2007;15(11):2797-808.

45. Mahmoodi M, Hosseini-Zijoud SM, Kazemi Arababadi M, Khorramdelazad H. Effect of Persian shallot (*Allium hirtifolium* Boiss. extract on glucokinase (GCK), glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) genes expression in diabetic rats. *African J Pharmacy and Pharmacol* 2013; 7(7): 389-96.
46. Hosseini-Zijoud SM, Mahmoodi M. The effects of Persian shallot extract on the levels of some blood biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *African Journal of Agricultural Research* 2012; 7(22): 3308-13.
47. Nazari M, Hajizadeh MR, Mahmoodi M, Mirzaei MR, Hassanshahi G. The regulatory impacts of *Morus Alba* leaf extract on some enzymes involved in glucose metabolism pathways in diabetic rat liver. *Clin Lab* 2012; 59(5-6): 497-504.
48. Bazi Shad A, Miri H R, Esmaeilzadeh Bahabadi S, Hajinezhad M R, Dahmardeh Ghale no F, Sabori H et al. The effect of hydroalcoholic extract of *Prosopis farcta* on weight, blood glucose and gene expression of Pyruvate Kinase in Diabetic Rats (Type1). *Jms*.2017; 4 (4) :1-9
49. Arsalandeh F, Hoseini SM, Hoseini J. Effects of *Allium hirtifolium* extract on gene expression of glycogen phosphorylase and phosphoenol pyruvate carboxykinase. *First National Student Conference of Biotechn.*2012;46-56. (In Persian)
50. Shavsavari G, Ehsani A, Hooshmand M. Effect of essential oils of *Satureia khuzestanica* Jamzad on enzyme activity and gene expression of some regulatory enzymes of glucose in diabetic and normal rats. *Yafte*.2008; 10(4): 71-80. (In Persian)
51. Yılmaz, S. The Levels of Pyruvate Kinase Activity in Renal and Hepatic Tissues of Rats with Diabetes Induced by Streptozotocin. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*.2002;26 (3):549-553.
52. Zheng S, Huang K, Tong T. Efficacy and Mechanisms of Oleuropein in Mitigating Diabetes and Diabetes Complications. *J Agric Food Chem*.2021; 9;69(22):6145-6155.
53. Drira R, Chen S, Sakamoto K. Oleuropein and hydroxytyrosol inhibit adipocyte differentiation in 3 T3-L1 cells. *Life Sci*.2011; Nov 7;89(19-20):708-16.
54. Ahmadvand H, Shavsavari G, Tavafi M, Bagheri S, Moradkhani MR, Kkorramabadi RM, Khosravi P, Jafari M, Zahabi K, Eftekhari R, Soleimanejad M, Moghadam S. Protective effects of oleuropein against renal injury oxidative damage in alloxan-induced diabetic rats; a histological and biochemical study. *J Nephropathol*.2017;6(3):204-209
55. Nekooeian AA, Khalili A, Khosravi MB. Effects of oleuropein in rats with simultaneous type 2 diabetes and renal hypertension: a study of antihypertensive mechanisms. *J Asian Nat Prod Res*.2014;16(9):953-62.





## Effect of Oleuropein on blood glucose and gene expression of pyruvate kinase in Streptozotocin-induced diabetic male rats

Akram Asadi<sup>1</sup>, **Maryam Rafiei Rad**<sup>2</sup>, Ameneh Javid<sup>3</sup>

1- Master's student, Department of Biology, Faculty of Engineering and Science, Yazd University of Science and Art, Yazd, Ira

2- Associate Professor, Department of Biology Islamic Azad University, Izeh branch, Izeh, Iran. Corresponding Author: [rafieirad.m@gmail.com](mailto:rafieirad.m@gmail.com)

3- Department of Biology, Faculty of Engineering and Science, Yazd University of Science and Art, Yazd, Iran.

Received:2024.03.01

Accepted: 2024.05.08

### Abstract

**Background & Aim:** Considering the antioxidant properties of oleuropein and the role of antioxidants in improving diabetes, this study was conducted with the aim of investigating the effect of oleuropein on blood glucose levels and pyruvate kinase gene expression in diabetic male rats.

**Materials & Methods:** 40 rats aged 2-3 months (weighing 200-250 grams) were divided into four groups of ten. By injecting streptozotocin (60 mg/kg), type 1 diabetes was induced in male rats. After intraperitoneal injection of STZ, animals with blood glucose above 200 mg/kg were considered diabetic. The control groups and the diabetic group only received saline and the treated diabetic groups received 10, 20 mg/kg oleuropein daily by gavage for four weeks. At the end of the experiment period, all the rats were dissected after anesthesia with ether by drawing blood from the heart and liver tissue was isolated and used to check the expression of pyruvate kinase gene by Real-time PCR method. Data analysis was performed using Tukey's test at  $P < 0.05$  level.

**Results:** The results showed that in the diabetic group receiving doses of 10 and 20 mg/kg of oleuropein, the blood glucose level decreased significantly compared to the diabetic group. Examining the expression of pyruvate kinase gene also showed that there was a decrease in the diabetic group compared to the healthy control group, but this decrease was not statistically significant. On the other hand, in the diabetic group treated with 20 and 10 mg/kg doses of oleuropein, pyruvate kinase gene expression increased significantly compared to the diabetic group.

**Conclusion:** The results of the present study showed that the administration of oleuropein has been able to reduce blood glucose by changing the expression of the pyruvate kinase gene.

**Key words:** Oleuropein, Pyruvate kinase, Diabetes, Rat