مجله پلاسما و نشانگرهای زیستی
شماره پیاپی ۶۶، دوره ۱۷، شماره ۲،بهار ۱۴۰۳، صفحه ۲۷ تا ۴۳
Qjaphd.sinaweb.net **ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵**

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

اکرم اسدی[۱] ،**مریم رفیعی راد**[۲]، آمنه جاوید[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه، ایذه، ایران.
۲- دانشیار گروه زیست شناسی،دانشکده فنی مهندسی و علوم،دانشگاه علم و هنر یزد، یزد، ایران.نویسنده مسئول: rafieirad.m@gmail.com
۳- استادیار گروه زیست شناسی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه، ایذه، ایران.

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 پیروات کیناز در موش های صحرایی نر دیابتی انجام شد.

مواد و روش ها : تعداد ۴۰ سر موش صحرایی ۲تا۳ ماهه (با وزن ۲۵۰-۲۰۰گرم) به چهار گروه دهتایی تقسیم شدند.با تزریق استرپتوزوتوسین (۶۰mg/kg) در موش های صحرایی نر دیابت نوع ۱ ایجاد شد. پس از تزریق داخل صفاقی STZ، حیوانات دارای قند خون بالای mg/kg ۲۰۰، دیابتی تلقی شدند. گروه‌های کنترل و گروه دیابتی فقط سالین و گروه‌های دیابتی درمان شده به مدت چهار هفته روزانه بصورت گاواژ اولئوروپین mg/kg ۱۰،۲۰دریافت 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 پیروات کیناز به روش Real-time PCR استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح $P<0.05$ انجام شد.

نتایج : نتایج نشان داد در گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای mg/kg ۲۰و۱۰ اولئوروپین میزان گلوکز خون نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری کاهش یافت. بررسی بیان ژن پیروات کیناز نیز نشان داد در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم دارای کاهش بود اما این کاهش از نظر آماری در حد معنی‌داری بیان نشد. از طرفی در گروه دیابتی تحت درمان با دوز های mg/kg ۲۰ و ۱۰ اولئوروپین میزان بیان ژن پیروات کیناز نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری افزایش داشته است.

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

کلمات کلیدی : اولئوروپین، پیروات کیناز، دیابت، موش صحرایی

مقدمه

بیماری دیابت شیرین سندرم پیچیده ای است کـه بـا افزایش گلوکز خون، اختلال در متابولیـسم کربوهیـدرات و لیپید همـراه مـی باشـد. رونـد ابـتلا بـه دیابـت بـه عنـوان شایعترین بیماری ناشی از اختلال متابولیسم در سـالهـای اخیر رو به افزایش است. در دیابت نوع یک سلول های بتـای پانکراس دچار تخریب شده و به دنبال آن تولیـد انـسولین کاهش می یابد. به دلیل این که اندام های اصلی بدن بـرای مصرف سوخت خود که عمدتاً گلوکز می باشد بـه هورمـون انسولین نیاز دارند، این کـاهش منجـر بـه کـاهش مـصرف گلوکز توسط اندام ها و افزایش قند خون و گلوکونئوژنز می شود. انسولین با اثر تحریکی بر مسیر گلیکولیز و مکـانیزم کنترل منفی بر مسیرگلوکونئوژنز باعث افزایش گلیکـولیز و مهار گلوکونئوژنز در بافت ها و کاهش قند خون می شود (۱). روش های مختلفی برای درمان دیابت پیشنهاد شده اسـت که می توان به داروهای شیمیایی پایین آورنده گلوکز خون و استفاده از انسولین اشاره نمود (۲). همچنین روش هـای پیوند پانکراس، پیوند جزایرلانگرهانس و حتی اسـتفاده از سلول های بنیـادی مـورد توجـه مـی باشـند (۴-۳). اثـرات جانبی داروهای شیمیایی و تداخلات آنها با یکـدیگر کـه در بدن انسان یا در هنگام آزمایش های مختلف آشکار می شـود مسئله مهمی است که باید مدنظر باشد (۵). آنـزیم پیـروات (ATP EC ،Pyruvate 2-O-):phosphotransferase 2.7.1.40;PK) کینـاز آخـــرین واکـــنش در مـــسیر گلیکولیـــز را کاتالیـــز مـیکنـــد. در طـــی ایـــن واکنـــش انتقـــال گـــروه فـــسفریل از فـــسفواینول پیـــروات بـــه(Adenosine diphosphate) ADPانجـام شـده و پیـروات وATP تولید می شوند. در پـستانداران چهـار ایزوآنـزیم از پیـروات کیناز وجود دارد. این ایزوآنزیم ها را براساس نوع بـافتی کـه در آن به میزان بیشتری وجود دارند، نامگذاری کرده اند، کـه شامل ایزوآنزیم های (Muscle) M2وM1 ، (Red blood cell)R ،(Liver)L می باشند(۶). این ایزوآنزیم ها از لحـاظ خـواص سـینتیک، الکتروفورتیـک و ایمونولوژیـک بـا یکـدیگر تفـاوت دارند و به نظر میرسد که متعلق به دو گروه مجزا هـستند و هر گروه تحت کنترل یک ژن خاص قـرار دارد. دو ایزوآنـزیمL وR از ژنPKLR و با استفاده از پروموتورهـای جداگانـه تولید می شوند (۷) ،در حالی که دو ایزوآنزیمM1 وM2 از ژنPKM و بـه کمـک فرآینـدalternative splicing ایجـاد می شوند(۸).

پیـروات کینـاز نقش متابولیکی مهمی در گیاهان، باکتری ها و جـانوران دارد. ایزوزیم های مختلف پیـروات کینـاز مصرف کربن متابولیکی به منظور بیوسنتز و اسـتفاده پیـروات بـرای تولیـد انـرژی را کنتـرل میکند (۹). مطالعات کمی در زمینه تغییـرات بیـان ژن هـای مسیر گلیکولیز تحت تأثیر عصاره های گیاهی صورت گرفته است. به عنوان مثال گزارش شده است عصاره گیاه دارویـی دارچین، بیان ژن پیـروات کربوکـسی کینـاز (PEPCK) و ناقل ۲گلوکز(GLUT 2) را در موش دیابتی افـزایش داد و از کاهش بیـان پیـروات کینـاز جلـوگیری کـرد (۱۰). امروزه استفاده از داروهای گیاهی به دلیل تأثیر مثبت، عوارض جانبی کمتر و هزینه نسبتا 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

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 invitroاز اکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نماید (۱۹-۱۸). تحقیقات انجام شده توسطKarabag-Coban در سال ۲۰۱۷اثرات 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 پیروات کیناز (آخرین آنزیم مسیر گلیکولیز) در موش های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این پژوهش تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۲ تا ۳ ماهه با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۰۰گرم از مرکز تحقیقات فیزیولوژی اهواز تهیه شد. این موش ها در قفس های ویژه ای نگاهداری شده و دمای اتاق حیوانات حدود ۳±۲۲درجه سانتی گراد بود. برنامه نوری مورد استفاده ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی با شروع روشنایی صبحگاهی در ساعت ۸تعیین 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 قرارگرفت و عامل وزن حذف شد.

برای دیابتی نمودن موش های صحرایی از داروی استرپتوزوتوسین(STZ) (شرکت سیگماکانادا) به صورت تک دوز داخل صفاقی به میزان۶۰ میلی گرم برکیلوگرم 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 از۲۵۰میلی گرم بر دسی لیتر و پرنوشی)، تیمار داروها (۳ روز پس ازتزریق استرپتوزوسین) به صورت گاواژ به مدت۴هفته 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 ازآخرین گاواژ، ضمن رعایت شرایط ناشتای ۱۴ساعته، موش های صحرایی توسط کتامین بیهوش شده و خونگیری ازقلب آن ها به عمل می آید (۲۱). در پایان آزمایش موش‌ها را کشته وکبد را جدا کرده و بیان ژن پیروات کیناز را با روش Real-time RT-

PCR بررسی می‌شود. حیوانات جهت انجام آزمایش به ۴گروه ۱۰تایی (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 + دوز۱۰ 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 + دوز۲۰ 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.

اندازه گیری گلوکز خون

برای انـدازه گیـری گلـوکز خـون یک قطره خون از انتهای دم موش روی دسـتگاه گلوکـومتر ریخته و میزان گلوکز ناشتای خون آنها سـنجیده شـد .در طی مطالعـه وزن مـوش هـا نیـز بوسـیله تـرازوی دیجیتـال اندازه گیری و ثبت شد (۲۳).

بررسی بیان ژن پیروات کیناز

استخراج RNAاز بافت کبدی کل طبق دسـتورالعمل کیت (Geneall Hybrid-RTM)شـرکت پیـشگام انجـام گرفت. پس از استخراج ،RNAکمیت و کیفیت آن بـا روش اسپکتروفتومتری و الکتروفـورز ژل آگـارز مـورد ارزیـابی قـرارRevert Aid First از کیـت cDNAگرفت. جهت سنتز ،(شـرکت پیـشگام Strand cDNA Synthesis Kit) استفاده شد (۲۳).

توالی پرایمرهای اختصاصی برای بیان ژن *PK*و GAPDH همچنـین ژن به عنوان استاندارد درونی در جدول ۱نشان داده شده است.

جدول ۱- توالی پرایمر های ژن کنترل داخلی و PK

Gene	Primer pair
GAPDH	**Forward: 5'-GGAGAAACCTGCCAAGTATG-3'** **Reverse:5'- GAGTTGCTGTTGAAGTCACA-3'**
PK	**Forward: 5'-CGAAGGCGTGAAGAGGTTTGA -3'** **Reverse:5'- GCAGCGCCCAATCATCATCT-3'**

میزان بیان ژن پیروات 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 گرفت. میزان بیان ژنPK در نمونه با رقت سازی از نمونه cDNAنرمال برای ژن و رسم منحنی استاندارد به دست آمد (۲۳).

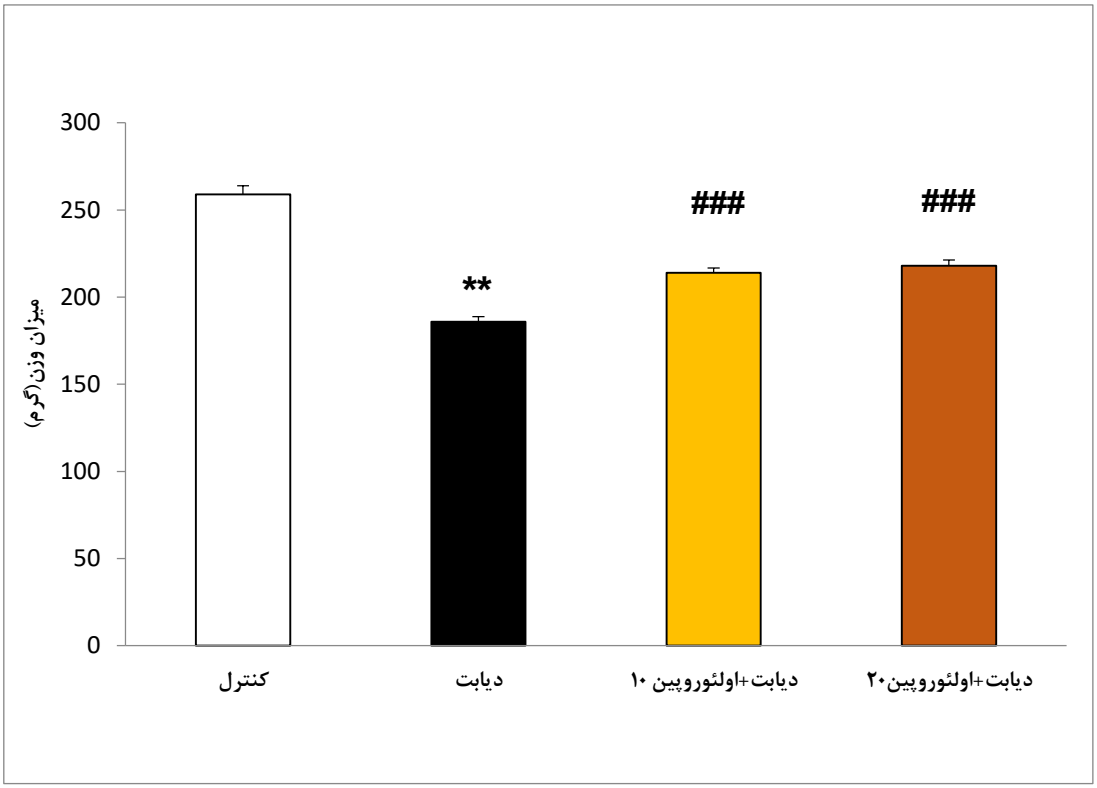
تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های این تحقیق به صورت Mean±SEM ارائه و سپس با روش‌های مناسب آماری در محیط‌های نرم

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 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($p<0.001$).

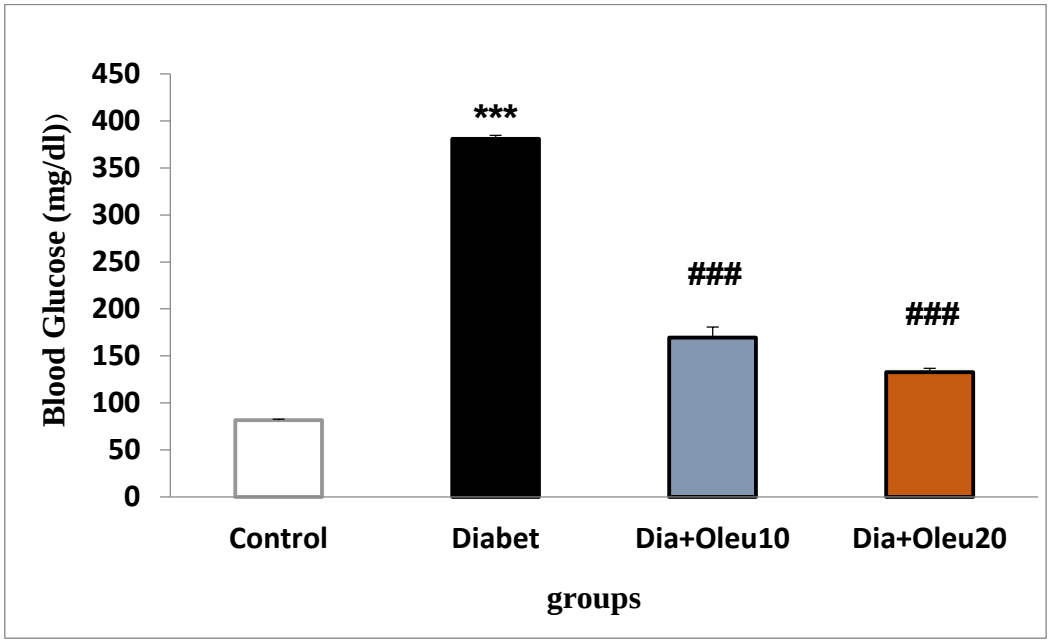


نمودار ۱: مقایسه (میانگین ± انحراف معیار از میانگین) اثر مصرف خوراکی اولئوروپین بر میزان وزن موش های گروه کنترل، گروه دیابتی، گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۰و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین.

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)

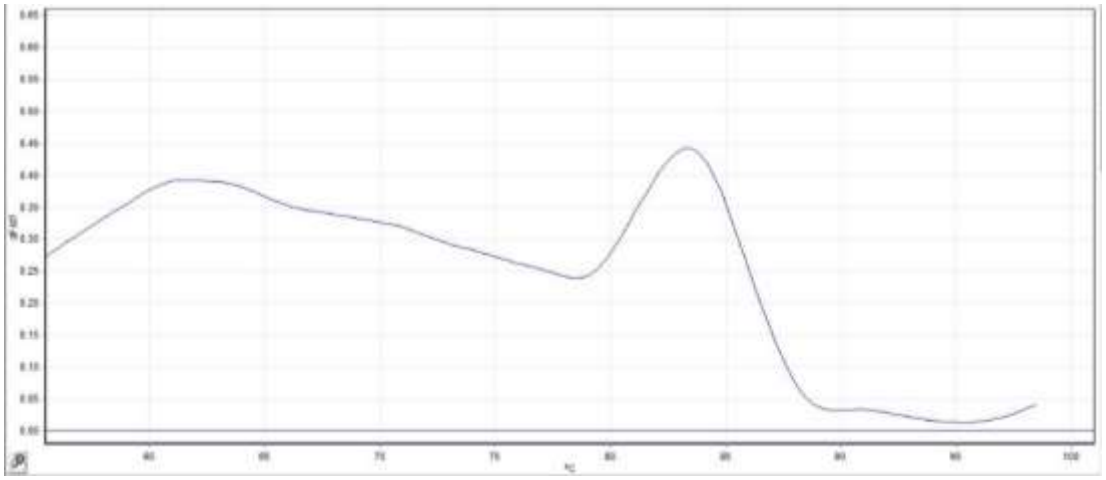
بررسی نتایج تاثیر تجویز اولئوروپین بر غلظت گلوکز خون موش‌های مورد مطالعه: همان طور که در نمودار ۲ نشان داده شده است مقدار غلظت گلوکز خون در موش های گروه دیابتی در مقایسه با موش های گروه کنترل سالم

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 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 ($p<0.001$).

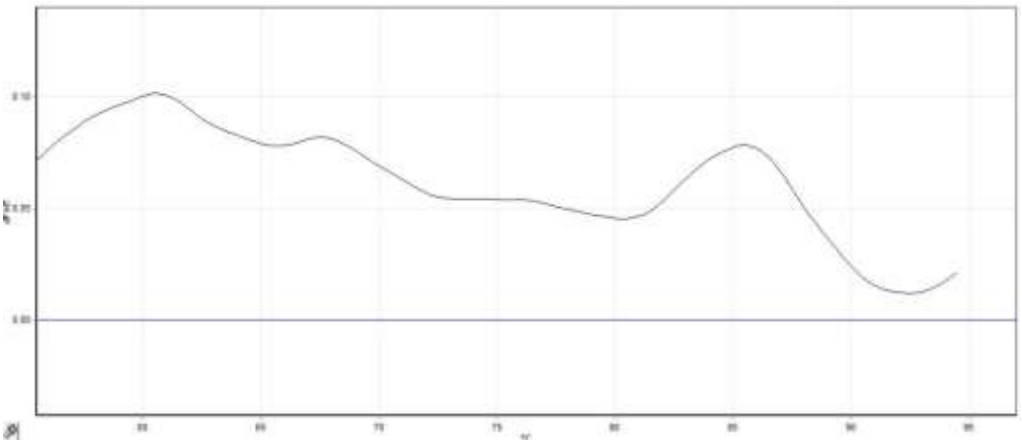


نمودار ۲ : مقایسه (میانگین ± انحراف معیار از میانگین) میزان گلوکز خون موش های گروه کنترل و گروه دیابتی، گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۰و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین.

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)

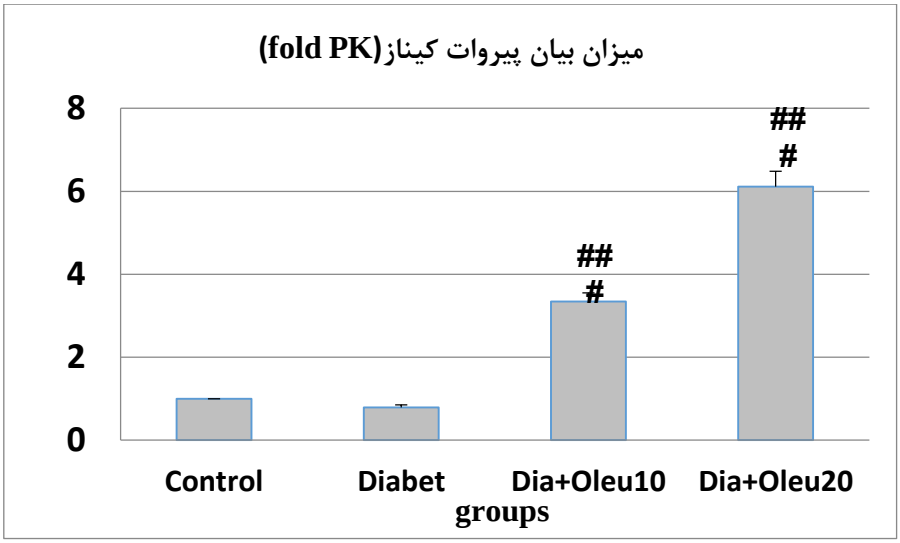


نمودار ۳ مربوط به منحنی ذوب ژن *GAPDH* در کبد نمونه موش



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

نتایج بررسی بیان ژن پیروات کیناز : همانطور که در نمودار ۴ مشاهده می شود میزان بیان ژن پیروات کینار 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 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 ($p<0.001$).



نمودار ۵ مقایسه (میانگین ± انحراف معیار از میانگین) تغییرات بیان ژن پیروات کیناز موش های گروه کنترل، گروه دیابتی، گروه دیابتی دریافت کننده دوزهای ۱۰و 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 پیروات کیناز در موش‌های 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 پیروات کربوکسی‌کیناز، باعث افزایش گلیکولیز و مهار گلوکونئوژنز در بافت‌ها و کاهش قند خون می‌شود (۲۵). دیابت از طریق تاثیرگذاری بر فعالیت ژن پیروات 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 پیروات کیناز در افراد دیابتی می شود (۲۶). کبد اندام اصلی هموستاز گلوکز بدن محسوب می‌شود. سلول‌های کبدی از طریق برداشت گلوکز خون، اثر روی مسیرهای گلیکولیز، گلوکونئوژنز و پنتوز فسفات در تنظیم گلوکز خون دخیل می‌باشند. در مسیرگلیکولیز آنزیم گلوکوکیناز و در مسیر گلوکونئوژنز، آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی‌کیناز نقش کلیدی دارند و کاهش یا افزایش فعالیت آنها تأثیر چشمگیری بر تنظیم گلوکز خون دارد (۲۷).

پیروات کیناز یک آنزیم است که در مسیر تجزیه گلوکز در سلول‌ها 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، پیروات کیناز به طور مستقیم تحت تأثیر گلوکز خون قرار نمی‌گیرد. در بیماران دیابتی، نقش اصلی گلوکز خون در مسیر مولکولی پیروات کیناز به صورت غیرمستقیم است. افزایش سطح گلوکز خون در بیماران دیابتی ممکن است منجر به افزایش تولید پیرووات در سلول‌ها شود. این پیرووات می‌تواند به میتوکندری‌ها 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، سلول‌ها 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 سلول‌ها شود(۲۸).

افزایش گلوکز در بیماران دیابتی می‌تواند تأثیرات متعددی بر مسیر مولکولی پیروات 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 می‌ماند. در ادامه، نحوه تأثیر افزایش گلوکز بر مسیر مولکولی پیروات کیناز توضیح داده شده است.

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

افزایش سطح گلوکز در خون منجر به افزایش تجزیه گلوکز و تولید بیشتر پیرووات می‌شود. در شرایط طبیعی، پیرووات به میتوکندری‌ها منتقل شده و در فرایند اکسیداسیون به انرژی تبدیل می‌شود. اما در بیماران دیابتی، کاهش فعالیت پیروات کیناز می‌تواند به تجمع پیرووات در

سلول‌ها و خون منجر شود(۲۸). پیرووات کیناز نقش مهمی در تولید ATP دارد. با کاهش فعالیت این آنزیم، تولید ATPنیز 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 پیروات 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 ATPدر 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).

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 پیروات کیناز شود، از جمله کاهش فعالیت آنزیم پیروات کیناز، تجمع پیرووات، تأثیر بر تولیدATP ، 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 پیروات 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 ۱۰و۲۰ mg/kg اولئوروپین میزان گلوکز خون نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری کاهش یافت. همچنین بررسی بیان ژن پیروات کیناز نیز نشان داد در

گروه دیابتی تحت درمان با دوز های mg/kg ۲۰و ۱۰ اولئوروپین میزان بیان ژن پیروات کیناز نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری افزایش یافته است. این بررسی اثر ضد دیابتی اولئوروپین را تایید میکند کـه در گذشته نیـز بـه اثبـات رسـیده اسـت.

از طرفی، به این نکتـه نیـز می توان اشاره کرد کـه مسیرهای سیگنالینگ انسولین نقش مهمـی را در کنتـرل بیان ژن های گلوکونئوژنیـک نظیـر G6Paseو PEPCK که سرعت گلوکونئوژنز کبدی را تنظیم میکنند، بـازی میکند. فسـفوانول پیـروات کربوکسـیلاز (PEPCK) یکـی از آنزیم هـای کلیـدی درگیـر در گلوکونئـوژنز هست. بیان ژن PEPCKبا انسولین و گلوکاگون کنتـرل می شود. بر پایه شواهد موجود، افزایش بیان ژن PEPCK در گروه ژل رویال را میتوان به نوعی به افـزایش بیشـتر سطوح انسولین در پاسـخ بـه مصـرف طـولانی مـدت ژل رویال نسبت داد(۳۱). G6Pase کبدی نقش مهمی در هموسـتاز گلـوکز خون ایفا میکند. یک ویژگـی مشـخص دیابـت نـوع ۲ افزایش تولید گلوکز درون زا، عمدتا به دلیل افزایش تولید گلوکز کبدی است (۳۲). در طول ناشتایی، گلوکونئوژنز کبدی منبع اصلی تولیـد گلـوکز درون زا اسـت و آنـزیم اصلی تنظیم گلوکونئوژنز، G6Paseاسـت (۳۳).

مواد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی با ایجاد پایداری در کمپلکس نسخه‌برداری ژن فاکتور باز تولید سلول‌های بتای پانکراس، سبب بازتولید و حفاظت این سلول‌ها در برابر آسیب‌های مسمومیت سلولی استرپتوزوتوسین می‌شوند (۳۴). پلی‌فنول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی هستند که قادرند رادیکال‌های آزاد را جذب نموده و از بدن در برابر بسیاری از بیماری‌ها محافظت کنند (۳۵). اولئوروپیین (Oleuropein) جزء اصلی فعال عصاره برگ زیتون (یک محصول طبیعی از گروه سکوئیریروئید) و مهم‌ترین پلی فنول یافت شده در آن می باشد(۳۷-۳۵). مطالعات نشان داده است که اولئوروپیین دارای خواص فارماکولوژیک فراوانی از جمله ضد آپپتوزی ،ضددیابتی، ضد آریتمی، ضدتشنج، خاصیت متفاوت نوروپروتکتیو در ناهنجاری‌های مختلف عصبی از جمله آسیب‌های عصبی هیپوکامپ طی ایسکمی مغزی، آسیب مغزی پس از هیپوکسی و اکسیژن‌رسانی مجدد در مدل موش دیابتی دارد (۴۲-۳۸). مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی با مکانیزم‌های متفاوتی مانند: افزایش ترشح انسولین، فعال کـردن مسیر کاتابولیسم گلوکز، مهار یا غیر فعال کردن مسیر گلوکونئوژنز، هدایت گلوکز به داخل سلول، جذب گلوکز آزاد و ممانعت از اتصال آن به پروتئین‌ها و ممانعت از جذب گلوکز از روده، قند خون را کاهش می‌دهند (۴۳). مطالعات نشان داده اند پیروات 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. ایزوفرم M2پیروات -کیناز (PKM2) یک تنظیم کننده کلیدی سوخت و ساز و واسطه گلیکولیتیک است و توانایی تغییر متابولیسم گلوکز را دارد(۴۴). آنالیز بیان ژن می‌تواند در فراهم کردن اطلاعاتی در زمینه‌ی عوامل موثر در پیش آگهی بیماری مفید واقع شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد میزان بیان ژن پیروات کیناز در موش های گروه دیابتی نسبت به موش های گروه کنترل سالم دارای کاهش بود اما این کاهش از نظر آماری در حد معنی‌داری بیان نشد. ولی در موش های گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اولئوروپین میزان بیان ژن پیروات کیناز نسبت به موش های گروه دیابتی به طور معناداری افزایش یافت . از طرفی میزان بیان ژن پیروات 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

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

هم چنین در این مطالعه تاثیر اولئوروپین بر سطح گلوکز خون موش‌های‌دیابتی بررسی شد. بر اساس نتایج به‌دست 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 داده‌اند کـه مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی، از طریق مکانیزم‌های متفاوتی قادر به کاهش قند خون هستند. یک مطالعه ای که به بررسی اثر عصار هیدرو الکلی ریشه گیاه جغجغه بر وزن، میزان گلوکز خون و بیان ژن پیروات کیناز در موشهای صحرایی دیابتی پرداخته است نشان می دهد که تجویز عصاره هیدروالکلی 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 ۲۰۱۵انجام دادند مشاهد شد که عصاره هیدروالکلی آلوئه 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 پیروات 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 پیروات کربوکسی کیناز باعث کاهش قند در موشهای دیابتی شد(۵۰).

Yilmaz در مطالعه ای در سال ۲۰۰۶تغییرات در فعالیت آنزیم پیروات 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 پیروات کیناز کبد در موش های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین در روزهای 3و 12نسبت به مقدار به دست آمد از گرو 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، ۱۲سطوح پیرووات کیناز به طور قابل توجهی در کلیه های گرو 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 قراردادند. 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

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 استفاد 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. Nekooeianو همکاران در سال ۲۰۱۴ نقش استرس اکسیداتیو در اثرات محافظتی اولئوروپین در مدل موش دیابت نوع ۲و 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 مولکـولی کـه در ایـن مطالعـه بکار برده شـده اسـت ایـن مطالعـه نیـز صـحت مطالعـات گذشته را تأیید می نماید. از آنجا که در دیابت با دو مشکل اساسی یعنی عدم ترشح انسولین و قند خـون بـالا مواجـه هسـتیم و اثـر انسـولین نیـز از طریـق تـأثیر بـر بیـان ژن آنزیم های مسیر گلیکولیز اعمـال مـی شـود، این بررسی نشان داد اثر ضد دیابتی اولئوروپین کـه در گذشته نیـز بـه اثبـات رسـیده اسـت، از طریـق بیـان ژن آنزیم ها و سطح انسولین نیز قابل اثبات و تأییـد مـی باشـد.

نتیجه‌گیری

با بررسی نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می-توان نتیجه گرفت که اثـر ضـد دیـابتی اولئوروپین در مطالعه حاضر مشهود است. بنابراین مدت زمانی که موش های دیابتی تحت تیمار بـا ماده موثره اولئوروپین قرار می گیرند می تواند درکاهش میزان گلوکز خون مؤثر باشد. در مطالعه حاضر بیـان ژن آنـزیم پیـروات کینـاز تحـت تـأثیر اولئوروپین به طـور معنـی داری در گروه دیابتی افزایش یافت. به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان مـی دهد تجویز اولئوروپین احتمـالاً از طریق افزایش بیان ژن PKکه یکـی از ژن هـای کاتالیزکننـده آخرین مرحله گلیکولیز می باشد، باعث کاهش گلوکز خـون 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 منافعی 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 ReceptorAlpha 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 antihhyperlipidemic 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 antihhyperlipidemic 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 momoridaca charantia. Journal of Ethnopharmocology.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 arborescensMiller 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 glucosemetabolism 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 hirtifoliu extract on gene expression of glycogene phosphorylase and phosphoenol pyruvate carboxykinase. First National Student Conference of Biotechn.2012;46-56. (In Persian)

50.Shahsavari 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, Shahsavari G, Tavafi M, Bagheri S, Moradkhani MR, Kkorramabadi RM, Khosravi P, Jafari M, Zahabi K, Eftekhar R, Soleimaninejad 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.

.

Journal of Plasma & Biomarkers
Volume17 , Issue 2, Number 66, Pages 27-43
Qjaphd.sinaweb.net **ISSN: 9880-1735**

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

Akram Asadi[1], **Maryam Rafiei Rad[2],**Ameneh Javid[3]

1- Master's student, Department of Biology, Islamic Azad University, Izeh branch, Izeh, Iran.
2- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Engineering and Science, Yazd University of Science and Art, Yazd, Iran. Corresponding Author: rafieirad.m@gmail.com
3- Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Izeh Branch, Izeh, 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