

## Investigation of Antiinflammatory and Antioxidant Effects of Glycyrrhizin on Rats with Experimental Diabetes

Mehmet Mustafa İŞGÖR<sup>1</sup>, Altuğ KÜÇÜKGÜL<sup>1</sup>, Gonca OZAN KOCAMÜFTÜOĞLU<sup>2</sup>, Hayrettin ATA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, TURKEY

<sup>2</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary, Fırat University, Elazığ, TURKEY

### ABSTRACT

Diabetes is a metabolic disease with a worldwide prevalence. Adipokines secreted from adipose tissue are known to be involved in insulin signal transduction and have an effect on the regulation of glucose metabolism. It has been reported in many studies that glycyrrhizin, the primary bioactive component of licorice root, has anti-inflammatory and anti-oxidant effects. In this study, it was aimed to investigate the bioactivity of glycyrrhizin on oxidative stress and inflammation in an experimentally induced in vivo diabetes model. In our study, experimental diabetes model was formed at the end of 6 weeks following the administration of streptozotocin in rats. The experimental animals were divided into four groups, each consisting of 8 rats, the control group (Cont), the diabetes group (DM), the diabetes + glycyrrhizin group (+ Gly) and the glycyrrhizin group (Gly). Glycyrrhizin was dissolved in water and rats were given orally at 50 mg / kg / day for one week. At the end of the experiment, adipose and liver tissue samples were homogenized and oxidative stress index, total antioxidant and oxidant capacity were determined by spectrophotometric analysis. Besides, gene expression levels of leptin and adiponectin from the obtained RNA samples were investigated at the transcription level by using the real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) technique. According to the data obtained from the study, it was determined that glycyrrhizin significantly reduced diabetic induced total oxidant status (TOS) levels in both tissues. In addition, it was found that level of total antioxidant status (TAS) decreased by diabetes was significantly increased with glycyrrhizin administration. Again, adiponectin gene expression in both tissues was down-regulated in the DM group compared to control, in glycyrrhizin treated diabetes group, up-regulation of the same gene was determined according to DM group. Moreover, leptin mRNA expressions increased in both adipose tissue and liver tissue in diabetic rats, whereas glycyrrhizin decreased this effect in adipose tissue, but a slight increase was observed in the liver tissue according DM group. In short, glycyrrhizin showed an anti-inflammatory effect by regulating cytokine levels in liver and adipose tissues of diabetic rats. Besides, it has an antioxidant effect by increasing the antioxidant capacity significantly.

**Key words:** Diabetes, Glycyrrhizin, Inflammation, Oxidative stress

## DeneySEL Diyabetli Ratlarda Glisirizin'in Antienflamatuar ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması

### ÖZET

Diyabet, günümüzde dünya çapında önemli bir yaygınlığa sahip metabolik bir hastalıktır. Adipoz dokudan salgılanan adipokinlerin, insülin sinyal iletiminde görev aldığı ve glikoz metabolizmasının düzenlenmesinde etkilerinin olduğu bilinmektedir. Meyan kökünün primer biyoaktif bileşeni olan glisirizin'in anti-inflamatuar ve anti-oksidan etkileri olduğu birçok araştırmada rapor edilmiştir. Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan in vivo diyabet modelinde glisirizin'in oksidatif stres ve inflamasyon üzerine biyoetkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmamızda, ratlarda streptozotocin uygulamasını takiben 6 haftalık süre sonunda deneysel diyabet modeli oluşturuldu. Deney hayvanları her biri 8 tane rattan oluşacak şekilde kontrol grubu (Kont), diyabet grubu (DM), diyabet + glisirizin grubu (+Gly) ve glisirizin grubu (Gly) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Glisirizin suda çözündürüldü ve 1 hafta süreyle ratlara 50 mg/kg/gün oral olarak verildi. Deneme sonunda, alınan adipoz ve karaciğer doku örnekleri homojenize edilerek total antioksidan ve oksidan kapasite spektrofotometrik analizlerle ortaya konuldu. Bununla birlikte, elde edilen RNA örneklerinden leptin ve adiponektin sitokinlerinin gen ifadeleri transkripsiyon düzeyinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) tekniği kullanılarak araştırıldı. Araştırmadan elde edilen verilere göre her iki dokuda glisirizin'in diyabetle uyarılan total oksidan seviyelerini (TOS) anlamlı düzeyde azalttığı tespit edildi. Bunun yanı sıra, diyabetle azalan total antioksidan seviyelerinin (TAS) ise glisirizin uygulanımı ile anlamlı düzeyde attığı da bulundu. Yine, her iki dokuda adiponektin gen ekspresyonu DM grubunda kontrole göre aşağı-regüle olduğu, diyabet ile birlikte glisirizin uygulanan grupta ise DM grubuna göre yukarı-regüle olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte diyabet oluşturulan ratlarda gerek adipoz doku gerekse karaciğer dokusunda leptin ekspresyon ve protein seviyeleri artarken, glisirizin'in bu etkiyi azalttığı görülmüştür. Özetle, glisirizin diyabetik ratların karaciğer ve adipoz dokularında sitokin seviyelerini düzenleyerek antienflamatuar etki göstermiştir. Ayrıca, antioksidan kapasiteyi de anlamlı düzeyde arttırarak antioksidan etkinlik göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Diyabet, Glisirizin, İnflamasyon, Oksidatif stres

## GİRİŞ

Tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) tüm diyabetlerin %90-95'ini oluşturmaktadır (Wild ve ark. 2004). Hastalık insülin sekresyonu, insülin direnci, insülin direnci bozulmuş glukoz toleransı ve  $\beta$ -hücre disfonksiyonu ile sınırlı gelişmektedir (Rodger 1991). Patolojik açıdan bakıldığında, iki ana tip diyabet vardır: tip 1 diyabetes mellitus (T1DM), pankreatik  $\beta$  hücre salgı eksikliği ile karakterize bir hastalıktır. T2DM ise, insülin direnci ve  $\beta$ -hücre disfonksiyonu arasındaki karmaşık etkileşimlerden kaynaklanmaktadır (Kolberg ve ark. 2009). Bununla birlikte, hastalık patogenezi ortaya koyan araştırmalar, kronik inflamasyon, obezite, lipotoksosite ve oksidatif stres gibi çoklu mekanizmaların T2DM'de glikoz disregülasyonuna katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (Sattar 2012; Surampudi ve ark. 2009).

Yağ dokusu, enerji homeostazında, hormonal sinyallere yanıt, metabolik regülasyon ve adipokin salgılanmasında önemli bir rol oynayan oldukça aktif bir endokrin organdır (Galic ve ark. 2010). Mevcut kanıtlar, adipoz dokunun adipokin adı verilen 50'den fazla sinyallemeye molekülü ve hormonunu barındırdığını göstermektedir (Blüher 2009). Adipokinlerin, termojenez, iştah, glikoz metabolizması, insülin duyarlılığı ve diğer endokrin fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Poulos ve ark. 2010).

Genellikle meyankökü olarak bilinen *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae), Akdeniz bölgesinde ve güney-batı Asya'da yaygın olarak büyüyen bir şifalı bitkidir. Bu bitki, bünyesinde glabridin, glisirizin,  $\beta$ -Glisiritinik asit, flavonoidler, steroller, aminoasitler, kalkonlar, izoflavonlar ve triterpenoidsaponinler gibi farmakolojik özellikleri olan pek çok bileşenleri içerir (Khanahmadi ve ark. 2013; Prajapati ve Patel 2013). Meyan kökü, özellikle gastrik ve duodenal ülserler, bakteriyel pilori etkileri ve allerjenik reaksiyonlar için geleneksel tıpta sıklıkla kullanılmaktadır. Önceki çalışmalarda meyan kökü ve bileşenleri için antioksidan, anti-mutajenik, antienflamatuvar, antiviral, anti-bakteriyel ve anti-astmatik özellikler bildirilmiştir (Kaur ve ark. 2013). Ek olarak, meyan kökü ve etkin bileşenlerinin anti-obezite etkileri de rapor edilmiştir (Malik ve Sharma 2011).

Bu çalışmada, meyan kökünün biyoaktif bileşeni olan glisirizinin deneysel diyabetli ratlarda adipoz ve karaciğer

dokularında antienflamatuvar ve antioksidan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEMLER

### Diyabet modelinin oluşturulması

Çalışmada, 263±23 gram ağırlığında Wistar Albino cinsi 32 rat kullanılmıştır. Deney öncesi ve deney sırasında tüm hayvanlar 12 saat ışık 12 saat karanlık foto periyodunda ve 22-24 C° sabit ısıdaki odalarda barındırılmıştır. Hayvanların beslenmesinde, standart pelet yemi ve çeşme suyu kullanılmıştır. Yem ve su tüketiminde kısıtlama yapılmamıştır. Deney hayvanlarının seçimi ve yapılan uygulamalar sırasında Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 23/07/2014 tarih ve 2014/17 sayılı toplantısında (Karar No:165) onayı alınarak; çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapılmıştır.

### Gruplar ve Deney Protokolü

Çalışma, her birinde 8 rat olacak şekilde oluşturulan 4 grup üzerinden gerçekleştirilmiştir. Çalışmada gruplar ve uygulanacak metodlar şu şekilde belirlenmiştir; Grup 1: Kontrol grubu (Kont), Grup 2: Diyabet grubu (DM), Grup 3: Diyabet + glisirizin uygulanacak grup (+Gly), Grup 4: Glisirizin uygulanacak grup (Gly).

Kontrol grubu ve glisirizin verilecek grup dışındaki gruplara diyabet modeli oluşturmak amacıyla, bir gece öncesi açlıktan sonra 0,1 M soğuk sodyum sitrat buffer (pH:4,5) içinde 45 mg/kg dozunda hazırlanan Streptozotosin (STZ) (Sigma)'in intraperitoneal enjeksiyonu uygulanarak ve 6 hafta süresince beklenerek kronik diyabet modeli oluşturulmuştur. Ratlara STZ'nin neden olduğu hipoglisemiyi engellemek için bir gece %5'lik glikoz solüsyonu içirilmiştir. Enjeksiyondan 48 saat sonra tüm kanda glikoz konsantrasyonları ölçülmüş ve 250 mg/dl nin üstünde konsantrasyona sahip olan ratlar denemede kullanılmıştır (Duzguner ve ark. 2008). Kontrol grubuna (n=8) standart besleme yapılırken, Diyabet + glisirizin (n=8) grubu ile glisirizin (n=8) grubuna deneme süresince gavaj yolu ile 50 mg/kg/gün glisirizin uygulanmıştır (Sil ve ark. 2013). Tüm gruptaki ratlar, 7 günlük deneme süresi sonunda intraperitoneal olarak ketamin (50-60 mg/kg) + ksilazin HCl (5-10 mg/kg) uygulanarak anesteziyeye alınmış ve dekapite edilmişlerdir. Adipoz ve karaciğer doku örnekleri,

aseptik şartlarda alınarak % 0,9'luk NaCl çözeltisi ile yıkanmış, daha sonra örnek saklama poşetlerine alınarak soğuk zincir altında laboratuvara ulaştırılmıştır. Analizlere kadar örnekler -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

### **Biyokimyasal Analizler**

Oksidatif stres parametreleri olan TAS ve TOS spektrofotometrik analizlerle gerçekleştirilmiştir. Dokulardan elde edilen RNA örneklerinden leptin ve adiponektin transkripsiyon düzeyleri qRT-PCR ile araştırılmıştır.

### **Homojenat Hazırlama**

Bir hafta süreden sonra deneklerin adipoz ve karaciğer dokularından steril ortamda 0,4'er g alınmıştır. Homojenatlar hazırlanırken PBS ile 2 kez yıkandıktan sonra üzerlerine içerisinde %1 triton X-100 (Merck), 50 mM HEPES (pH:7,2), 10 mM EDTA, 100 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O ve %1 oranında proteaz inhibitör kokteyli [aprotinin, fenilmetansülfonilflorid (PMSF), leupeptin, sodyum florid (Merck)] bulunan homojenat tampon çözeltisi eklenmiştir. Deterjanla çözünmeyen hücresel proteinler 12000xg, +4°C'de 10 d süreyle santrifüj edilerek süpernatantlar elde edilmiştir.

### **Bradford Yöntemi ile Protein Tayini**

Elde edilen süpernatantlardaki protein değerleri Coomassie (Bradford) Protein Assay Kit (Thermo) kullanılarak spektrofotometrede 595 nm ışık dalga boyunda okunarak kaydedilmiştir.

### **Total Antioksidan Kapasite (TAS) Analizi**

TAS düzeyleri ticari kitler (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanılarak analiz edilmiştir. Bu amaçla kitte bulunan Reagent 1'den 800 µl alınıp üzerlerine 50 µl örnekler eklenerek spektrofotometrede 660 nm dalga boyunda ilk ölçümler yapılarak kaydedilmiştir. Sonrasında bu test tüplerine 125 µl Reagent 2 eklenerek 10 dakika oda ısısında inkübe edilip tekrar 660 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Aynı işlemler, standardın 660 nm'de absorbansını ölçmek için örnek yerine standart solüsyonu eklenerek gerçekleştirilmiştir. Elde edilen değerler hesaplanarak örneklerin TAS değerleri µmol Trolox Eqiv./L olarak kaydedilmiştir.

### **Total Oksidan Kapasite (TOS) Analizi**

TOS düzeyleri ticari kitler (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanılarak analiz edilmiştir. Bu amaçla kitte bulunan Reagent 1'den 800 µl alınıp üzerlerine 125 µl örnekler eklenerek spektrofotometrede 530 nm dalga boyunda ilk ölçümler yapılmıştır. Sonrasında bu test tüplerine 35 µl Reagent 2 eklenerek 10 dakika oda ısısında tutularak tekrar 530 nm'de absorbans değerleri kaydedilmiştir. Aynı işlemler standardın 530 nm'de absorbansını ölçmek için örnek yerine standart solüsyonu eklenerek gerçekleştirilmiştir. Okunan değerler hesaplanarak örneklerin TOS değerleri µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eqiv/L cinsinden hesaplanarak kaydedilmiştir.

### **RNA izolasyonu ve Gen ekspresyon analizi**

Ribonükleik asit (RNA) eldesi için, deney süresi sonrası alınan 0,4 g doku örneklerine 1 ml RNA izolasyon reaktifi konularak üretici firmanın belirttiği yöntem ile total RNA hazırlanmış, miktarı ve spektrofotometrede saflığı (OD260/OD280 oranı) belirlenmiştir. Örneklerden elde edilen cDNA'lardan 1 µl alınarak, üzerlerine 0.5 U DNA Taq polimeraz içeren Verso 1-step qRT-PCR SYBR Green Kit (Thermo) ve mRNA üzerinde çoğaltılmak istenen genlere spesifik bir çift primer (oligonükleotid) ilave edilmiştir. Reaksiyonda GAPDH, leptin ve adiponektin spesifik primerleri literatürde belirtilen baz dizileri sentez ettirilerek kullanılmıştır (Li ve ark.2004; Nagai ve ark. 2009). Primer baz dizileri: GAPDH için forward 5'-GTCACCAGGGCTGCCTTCT-3'; reverse, 5'-CATTGAACTTGCCGTGGGTA-3, leptin için forward, 5'-GCCAGGCTGCCAGAATTG-3'; reverse 5'-CTGCCCCCAGTTTGATG-3' ve adiponektin için forward: 5'-ACCCCTGGCAGGAAAGGA-3', reverse: 5'-CCTACGCTGAATGCTGAG TGAT-3'. DNA amplifikasyonu PCR yöntemi ile anlık PCR sistemi (Real-Time PCR, Bio-Rad, South KOREA) kullanılarak yapılmıştır. Real Time PCR sisteminde Syber Green (Sigma, GERMANY) boyası kullanıldı. Leptin ve adiponektin'in gen transkripsiyon düzeyleri kontrol gen GAPDH transkripsiyon düzeyleriyle optimize edilerek gruplar arasındaki farklar misli (katı) cinsinden belirlenmiştir.

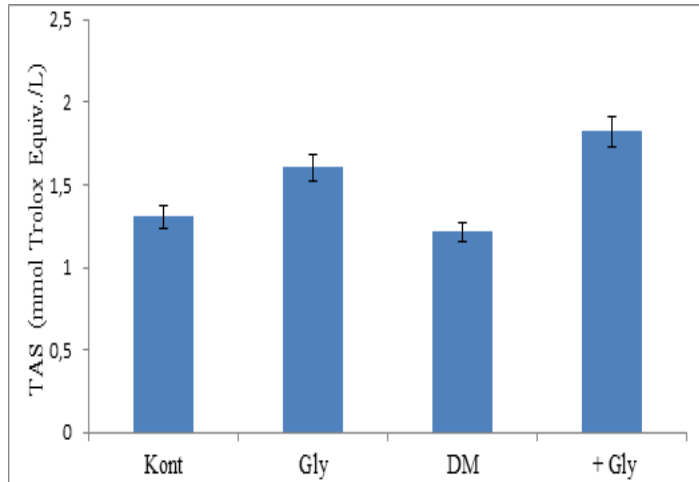
### **Etik Kurul İzni**

Fırat Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan 23/07/2014 tarih ve 2014/17 sayılı toplantısında (Karar No: 165) hayvan araştırmaları için etik kurul izni alınmıştır.

## BULGULAR

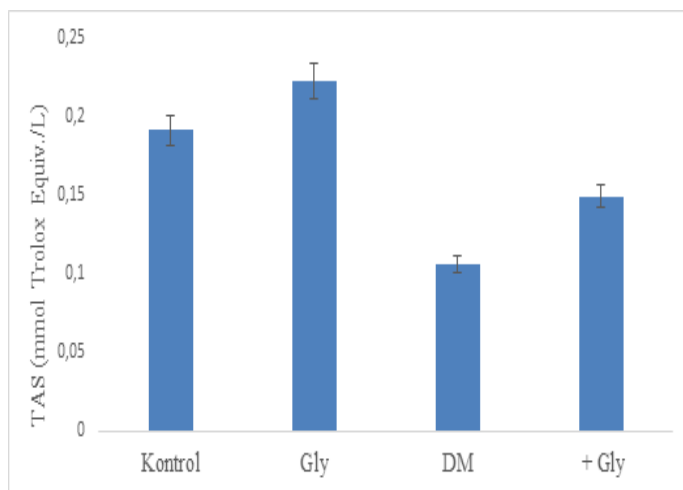
### Total Antioksidan ve Total Oksidan Kapasite Bulguları

Elde edilen verilere göre; Karaciğer TAS seviyeleri DM grubunda kontrol grubuna göre azalmışken, +Gly grubunda ise DM grubuna göre artış olduğu bulunmuştur. Elde edilen veriler Şekil 1'de verilmiştir.



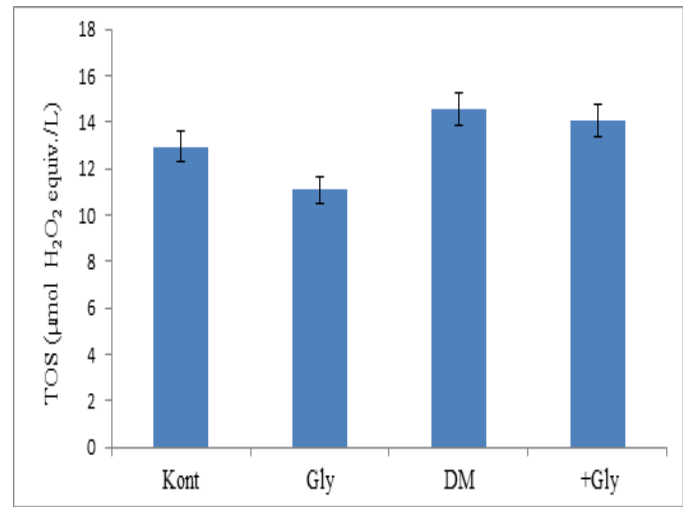
### Şekil 1. Karaciğer Dokusunda Gruplara Göre TAS Seviyeleri

Adipoz doku TAS seviyelerinde DM grubunda kontrol grubuna göre azalma görülürken, +Gly grubunda ise DM grubuna göre artış gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 2'de verilmiştir.



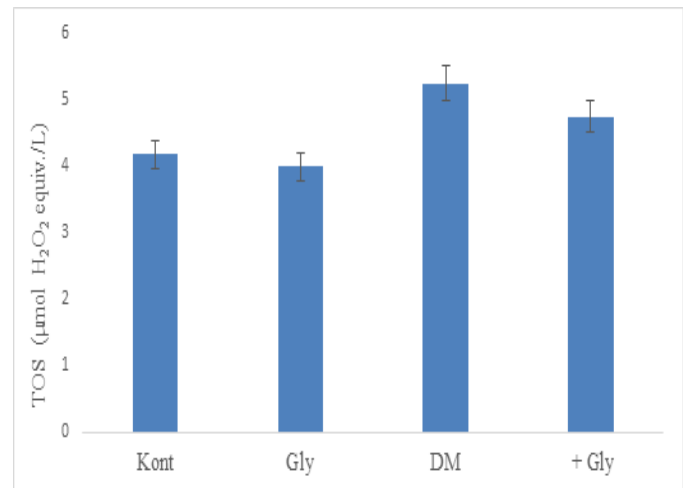
### Şekil 2. Adipoz Dokuda Gruplara Göre TAS Seviyeleri

Karaciğer doku TOS seviyeleri, DM grubunda kontrol grubuna göre artış gösterirken, +Gly grubunda ise DM grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen veriler Şekil 3'te verilmiştir.



### Şekil 3. Karaciğer Dokusunda Gruplara Göre TOS Seviyeleri

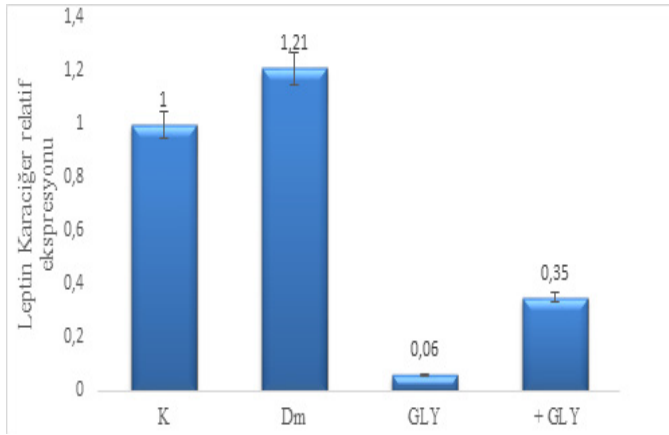
Araştırmada adipoz doku TOS düzeyleri DM grubunda kontrol grubuna göre artış gösterirken, +Gly grubunda ise DM grubuna göre azalma görülmüştür. Elde edilen veriler Şekil 4'te verilmiştir.



### Şekil 4. Adipoz Dokuda Gruplara Göre TOS Seviyeleri

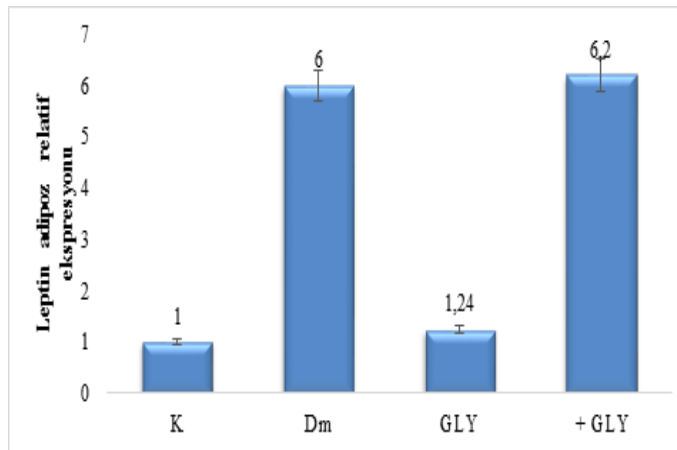
### Gen ekspresyon analizi bulguları:

Karaciğer doku RNA örneklerinde, leptin gen ekspresyon düzeyinin DM grubunda kontrol grubuna göre 1,21 kat relatif misli değişimlerle arttığı, +Gly grubunda ise DM grubuna göre 3,46 kat relatif misli değişimlerle azaldığı bulunmuştur. Elde edilen veriler Şekil 5'te verilmiştir.



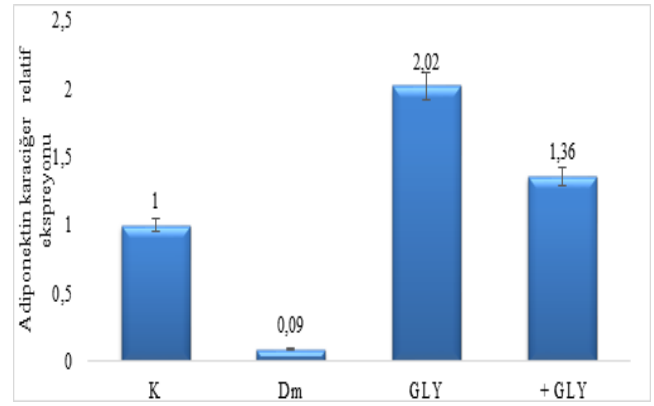
**Şekil 5.** Karaciğer Dokusunda Gruplara Göre Leptin Gen Ekspresyon Seviyeleri

Elde edilen verilere göre adipoz doku RNA örneklerinde, leptin gen ekspresyon düzeyi diyabet oluşturulan grupta kontrol grubuna göre 6 kat relatif misli değişimlerle arttığı görülürken, +Gly grubunda DM grubuna göre çok az oranda bir artış görülmüştür. Sonuçlar Şekil 6'da gösterilmiştir.



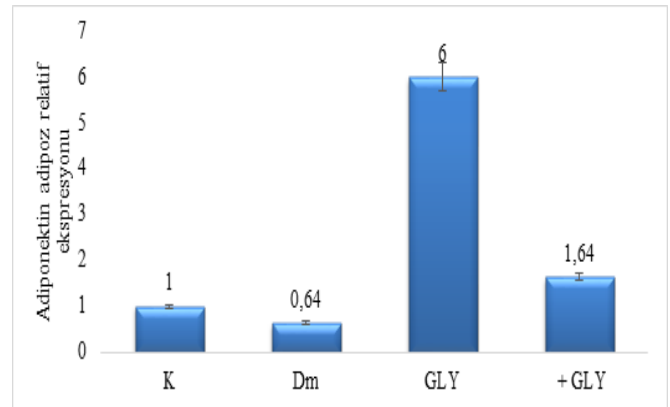
**Şekil 6.** Adipoz Dokuda Gruplara Göre Leptin Gen Ekspresyon Seviyeleri

Karaciğer doku RNA örneklerinde, adiponektin gen ekspresyon düzeyi DM grupta kontrol grubuna göre yaklaşık 11 kat relatif misli değişimlerle aşağı regüle olurken, +Gly grubunda ise bu düzeyin DM grubuna göre yaklaşık 15 kat relatif misli değişimlerle yukarı regüle olduğu görülmüştür. Elde edilen veriler Şekil 7'de verilmiştir.



**Şekil 7.** Karaciğer Dokusunda Gruplara Göre Adiponektin Gen Ekspresyon Seviyeleri

Adipoz doku RNA örneklerinde, adiponektin gen ekspresyonu düzeyi DM grubunda kontrol grubuna göre 1,6 kat relatif misli değişimlerle aşağı regüle olurken, +Gly grubunda ise DM grubuna göre yaklaşık 2,5 kat relatif misli değişimlerle yukarı regüle olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler Şekil 8'de verilmiştir.



**Şekil 8.** Adipoz Dokuda Gruplara Göre Adiponektin Gen Ekspresyon Seviyeleri

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Tip 2 diyabet, hem yağ birikimi hem de insülin etkinliğinde bozulma, insülin üretimi veya her ikisi ile karakterize olan bir metabolik hastalıktır. İnsülin direnci, hipergliseminin gelişimine yol açar. Bu tür zararlı hiperglisemi, diyabetik komplikasyonların ana sebebi olan dokuya zarar vererek glukotoksik etki gösterir (Wild ve ark. 2004). Ayrıca, adipoz dokularda biriken yağın anormal metabolizması, diyabetik komplikasyonları dahada şiddetlendirebilen lipotoksisiteye

neden olabilir (Chang ve ark. 2013).

Adipositler tarafından salgılanan bir hormon olan leptinin gıda alınımının düzenlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Minikoshi ve ark. 2015). Tip 2 diyabetli hastalarda, dolaşımdaki leptin düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (Farooq ve ark. 2017). Tip 2 diyabette dolaşımdaki leptin düzeyi artışının, insülin direnci ile yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir (López-Jaramillo ve ark. 2014). Yaptığımız çalışmada, karaciğer dokusunda leptin gen ekspresyonunun diyabette arttığı görülmüştür. Diyabet oluşturulmuş ratlara glisirizinin (50mg/kg/gün) 1 hafta uygulananın ise leptin gen ekspresyonunu diyabet grubuna göre azalttığı tespit edilmiştir. Adipoz dokuda ise leptin ekspresyonu diyabet grubunda kontrol grubuna göre artış gösterirken, diyabet ile birlikte glisirizin uygulanan grupta DM grubuna göre azaltıcı etki göstermemiştir. Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, leptin seviyelerinin bir antihipertansif ilaç olan telmisartan uygulananı ile ilk üç aylık dönemde hafif artış gösterdiği ve bu durumun artan insülin duyarlılığından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Usui ve ark. 2007). Ayrıca, yapılan bir diğer çalışmada glisirizik asit uygulananın ratlarda enerji alınımını etkilemeksizin hiperinsülinemi önlediği ve leptin seviyelerini düzenlediği bildirilmiştir (Chandramouli ve ark. 2011).

Adipoz dokudan salgılanan bir diğer antiinflamatuvar sitokin olan adiponektinin insülin duyarlılığına etki ettiği, antiaterojenik ve kardiyoprotektif etkilere sahip olduğu öne sürülmüştür (Katsiki ve ark. 2017; Ruhl ve Landrier 2016). Plazma adiponektin seviyelerinin obezite, tip 2 diyabet ve koroner arter hastalığı olan kişilerde belirgin oranda düştüğü belirtilmiştir (Hotta ve ark. 2000; Arita ve ark. 1999). Çalışmamızda bir diğer hedef olan adiponektinin gen ekspresyonu ve hücre içi protein düzeyleri araştırılmıştır. Elde ettiğimiz verilere göre, hem karaciğer hem de adipoz dokularından RNA izolasyonları sonucu adiponektin gen ekspresyonu DM grubunda kontrole göre aşağı-regüle edilirken, diyabet ile birlikte glisirizin uygulanan grupta aynı genin DM grubuna göre yukarı regülasyonunun şekillendiği tespit edilmiştir. Serum adiponektin düzeylerinin T2DM insidansı ile ters ilişkili olduğu ve de insülin duyarlılığını

geliştirme, tümör nekroz faktörü-a (TNF $\alpha$ ) gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe ettiği literatürde belirtilmiştir (Liu ve ark. 2016). Ayrıca, yüksek kalorili diyet uyarımlı diyabet benzeri metabolik sendrom modelinde, diyabet oluşturulmuş ratlarda adiponektin seviyelerinin önemli derecede azaldığı ancak glisirizin uygulananının yaptığımız çalışmada adipoz dokuda elde edilen sonuca benzer bir şekilde bu azalmayı biraz daha düşürdüğü rapor edilmiştir (Cheng ve ark. 2016).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artmasının ve antioksidan savunma sisteminin zayıflamasının T2DM patogeneğinde ve komplikasyonlarında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Shen ve Pierce 2015). Genel bir kanı olarak, diyabette artan oksidatif stresin mekanizmasında antioksidan savunma sistemlerindeki enzimlerin aktivite veya protein seviyelerindeki değişimlerin etkili olduğu düşünülmektedir (Karthikesan ve ark. 2010; Madhikarmi ve ark. 2013). Meyan kökü biyoaktif bileşenlerinin antioksidan, süperoksit anyon giderici ve oksidatif stresten koruyucu etkileri olduğu yapılan birçok çalışmada rapor edilmiştir. Örneğin; streptozotosin uyarımlı tip 1 diyabet modeli oluşturulan ratlarda, meyan kökü bileşenlerinden glabridinin serum katalaz enzim aktivitesini ve glutatyon seviyelerini arttırarak antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (Abdel-Ghffar 2016). Yapılan bir diğer çalışmada, diyabetik ratlarda meyan kökü etanolik ekstraktının (1g/kg/gün) total antioksidan kapasiteyi ve antioksidan enzimlerden katalaz protein seviyelerini arttırdığı, glutatyon seviyesini yükselttiği, böylelikle oksidatif stresi azaltarak diyabetik nefropatide koruyucu etkinlik gösterdiği belirtilmiştir (Kataya ve ark. 2011). Ayrıca, 18 $\beta$ -glisiretinik asit ve kafeik asitin ayrı ayrı veya kombine kullanımının antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz aktivitelerini arttırarak, total antioksidan kapasiteyi yükselterek ve de malondialdehit seviyelerini düşürerek antidiyabetik ve antioksidan etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (Mohammed ve ark. 2015). Çalışmamızda ise adipoz ve karaciğer doku homojenat örneklerinde diyabetik oluşturulmuş ratlarda TAS seviyeleri her iki dokuda DM grubunda azalırken, diyabet sonrası glisirizin uygulananın TAS seviyelerini DM grubuna göre arttırdığı görülmüştür. Bunun yanı sıra, TOS seviyeleri kontrol grubuna göre artış gösterirken, diyabetle birlikte glisirizin uygulanan grupta TOS seviyelerinin DM grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda ise meyankökü biyoaktif bileşeni glisirizin, literatürde elde edilen sonuçlara benzer bir şekilde diyabet modeli oluşturulan ratlarda TAS ve TOS seviyelerini regüle ederek antioksidan etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, glisirizin diyabet modelinde özellikle glikoz ve yağ metabolizmasındaki önemli sitokinlerden adiponektin ve leptin nükleer ve hücre içi düzeylerini düzenleyerek antienflamatuar etki göstermiştir. Diğer taraftan antioksidan kapasiteyi de anlamlı düzeyde arttırarak antioksidan etki göstermiştir. Ancak bu bağlamda glisirizinin konuyla ilgili tam etkinliğinin söylenebilmesi için daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

### TEŞEKKÜRLER

Çalışmanın finansal desteğini sağlayan Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (MKÜ BAP) Komisyonu'na teşekkürlerimizi sunarız (Proje ID: 12960).

### KAYNAKLAR

- Abdel-Ghffar EAA. (2016). Ameliorative effect of glabridin, a main component of *Glycyrrhiza glabra* L. roots in streptozotocin induced Type 1 diabetes in male albino rats. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 15 (4): 570-579.
- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*, 257: 79-83.
- Bluher M. (2009). Adipose tissue dysfunction in obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 117 (6): 241-50.
- Chandramouli C, Yong ST, Lam YL, Ton SH, Kadir KA. (2011). Glycyrrhizic acid improves lipid and glucose metabolism in high-sucrose-fed rats. *J. Endocrinol Metab*, 1: 125-141.
- Chang CL, Lin Y, Bartolome AP, Chen YC, Chiu SC, Yang WC. (2013). Herbal therapies for type 2 diabetes mellitus: chemistry, biology, and potential application of selected plants and compounds. *Evid Based Complement Alternat Med*, 378657.
- Cheng HS, Yaw HP, Ton SH, Choy SM, Kong JM, Abdul Kadir K. (2016). Glycyrrhizic acid prevents high calorie diet-induced metabolic aberrations despite the suppression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  expression. *Nutrition*, 32 (9): 995-1001.
- Duzguner V, Kucukgul A, Erdogan S, Celik S, Sahin K (2008). Effect of Lycopene Administration on Plasma Glucose, Oxidative Stress and Body Weight in Streptozotocin Diabetic Rats. *J Appl Him Res*, 33: 17-20.
- Farooq R, Amin S, Hayat BM, Malik R, Wani HA, Majid S. (2017). Type 2 diabetes and metabolic syndrome- adipokine levels and effect of drugs. *Gynecol Endocrinol*, 33: 75-78.
- Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. (2010). Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*, 316 (2): 129-39.
- Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. (2000). Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 1595-1599.
- Karthikesan K, Pari L, Menon VP. (2010). Protective effect of tetrahydrocurcumin and chlorogenic acid against streptozotocin - nicotinamide generated oxidative stress induced diabetes. *J Funct Foods*, 2: 134-42.
- Kataya HH, Hamza AA, Ramadan GA, Khasawneh MA. (2011). Effect of licorice extract on the complications of diabetes nephropathy in rats. *Drug Chem Toxicol*, 34 (2): 101-8.
- Katsiki N, Mantzoros C, Mikhailidis DP. (2017). Adiponectin, lipids and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 28: 347-354.
- Kaur R, Kaur H, Dhindsa AS. (2013). *Glycyrrhiza glabra*: a phytopharmacological review. *Int J Pharmaceut Sci Res*, 4 (7): 2470-7.
- Khanahmadi M, Naghdi BH, Akhondzadeh S, Khalighi-Sigaroodi F, Mehrafarin A, Shahriari S, Hajiaghvae R. (2013). A Review on Medicinal Plant of *Glycyrrhiza glabra* L. *J Med Plant Res*, 2 (46): 1-12.
- Kolberg JA, Jørgensen T, Gerwien RW, Hamren S, McKenna MP, Moler E, Rowe MW, Urdea MS, Xu XM, Hansen T, Pedersen O, Borch-Johnsen K. (2009). Development of a type 2 diabetes risk model from a panel of serum biomarkers from the Inter99 cohort. *Diabetes Care*, 32 (7):

- 1207-1212.
- Li RY, Song HD, Shi WJ, Hu SM, Yang YS, Tang JF, Chen MD, Chen JL. (2004). Galanin inhibits leptin expression and secretion in rat adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *J Mol Endocrinol*, 33(1): 11-9.
- Liu C, Feng X, Li Q, Wang Y, Li Q, Hua M. (2016). Adiponectin, TNF- $\alpha$  and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: a systematic review and metaanalysis. *Cytokine*, 86: 100-109.
- López-Jaramillo P, Gómez-Arbeláez D, López-López J, López-López C, Martínez-Ortega J, Gómez-Rodríguez A, Triana-Cubillos S. (2014). The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 18: 37-45.
- Madhikarmi NL, Murthy KR, Rajagopal G, Singh PP. (2013). Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with type 2 diabetes in relation to obesity in Pokhara - Nepal. *J Diabetology*, 4(1): 5.
- Malik ZA, Sharma PL. (2011). An ethanolic extract from licorice (*glycyrrhiza glabra*) exhibits anti-obesity effects by decreasing dietary fat absorption in a high fat diet-induced obesity rat model. *Int J Pharmaceut Sci Res*, 2(11): 3010-3.
- Minikoshi Y, Kim Y, Peroni OD, Fryer LG, Muller C, Carling D, Kahn BB. (2002). Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature*, 415: 339-343.
- Mohammed FZ, El-Deen Al-Hussaini AS, El-Shehabi MS. (2015). Antidiabetic activity of caffeic acid and 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid and its relationship with the antioxidant property. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(5): 229-235.
- Nagai Y, Ichihara A, Nakano D, Kimura S, Pelisch N, Fujisawa Y, Hitomi H, Hosomi N, Kiyomoto H, Kohno M, Ito H, Nishiyama A. (2009). Possible contribution of the non-proteolytic activation of prorenin to the development of insulin resistance in fructose-fed rats. *Exp Physiol*, 94(9):1016-23. doi: 10.1113/expphysiol.2009.048108. Epub 2009 Jun 5.
- Poulos SP, Hausman DB, Hausman GJ. (2010). The development and endocrine functions of adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol*, 323(1): 20-34.
- Prajapati S, Patel BR. (2013). Phyto Pharmacological Perspective of Yashtimadhu *Glycyrrhiza Glabra* LINN A Review. *Int J Pharm Biol Arch*, 4(5): 833-41.
- Rodger W. (1991). Non-insulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *Canadian Medical Association Journal*, 145(12): 1571-1581.
- Ruhl R, Landrier JF. (2016). Dietary regulation of adiponectin by direct and indirect lipid activators of nuclear hormone receptors. *Mol Nutr Food Res*, 60: 175-184.
- Sattar N. (2012). Biomarkers for diabetes prediction, pathogenesis or pharmacotherapy guidance? Past, present and future possibilities. *Diabetic Medicine*, 29(1): 5-13.
- Shen Q, Pierce JD. (2015). Supplementation of coenzyme Q10 among patients with type 2 diabetes mellitus. *Healthcare*, 3: 296-309.
- Sil R, Ray D, Chakraborti AS. (2013). Glisirizin ameliorates insulin resistance, hyperglycemia, dyslipidemia and oxidative stress in fructose-induced metabolic syndrome X in rat model. *Indian Journal of Experimental Biology*, 51: 129-138.
- Surampudi PN, John-Kalarickal J and Fonseca VA. (2009). Emerging concepts in the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Mount Sinai Journal of Medicine*, 76(3): 216-226.
- Usui I, Fujisaka S, Yamazaki K, Takano A, Murakami S, Yamazaki Y, Urakaze M, Hachiya H, Takata M, Senda S, Iwata M, Satoh A, Sasoaka T, Ak ND, Temaru R, Kobayashi M. (2007). Telmisartan reduced blood pressure and HOMA-IR with increasing plasma leptin level in hypertensive and type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 77(2): 210-4.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27(5): 1047-53.