فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۵۵، جلد ۱۴، شماره ۴، پاییز ۱۴۰۰، صفحه ۴۷ تا ۵۹
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

مقایسه اثر عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان(*Glycyrrhiza glabra*) و ماده‌ی موثره‌ی آن گلیسریزیک‌اسید بر میزان پروتئین‌های Bax و Bcl-2 در سلول‌های کبد موش‌های صحرایی نر دیابتی شده‌ی نوع یک

DOR:

صدیقه جانی[۱]، **ویدا حجتی[۲]**، غلامحسن واعظی[۳]، راهله رهباریان[۴]
۱-گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.
۲-دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران. V.Hojati@damghaniau.ac.ir
۳-استاد، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.
٤-استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/٦/۱ تاریخ پذیرش:۱۴۰۰/۷/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: عملکرد کبد وابسته به انسولین است و به شدت تحت تأثیر دیابت قرار می‌گیرد. دیابت از طریق استرس اکسیداتیو می تواند منجر به آسیب کبد شود. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات احتمالی عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) و گلیسریزیک‌اسید بر فاکتورهای آپوپتوزی Bax و Bcl2 در موش‌های صحرایی نر دیابتی نوع ۱ انجام شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۷۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به گروه‌های شاهد سالم، شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان و گلیسریزیک‌اسید با غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق تزریق داخل صفاقی در بازه زمانی ۱۵ و ۳۰ روز، تقسیم شدند. گروه‌های شاهد دیابتی و تیمار، با یک بار تزریق داخل صفاقی به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلوکسان مونو هیدرات دیابتی شدند. در پایان دوره تیمار فاکتورهای آپوپتوزی Bax و Bcl2، با روش الایزا سنجیده شد. نتایج توسط نرم افزار SPSS 21 و آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شد.

یافته ها: فاکتور آپوپتوزی Bax در گروه های تحت تیمار در مقایسه با گروه‌های شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش و فاکتور ضدآپوپتوزی Bcl2 به طور معنی داری افزایش یافت($p\leq ۰/۰۵$) که نشانگر بهبود ساختار بافت آسیب دیده ی کبد در گروه‌های تیمار است.

نتیجه گیری: عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه شیرین‌بیان وگلیسریزیک‌اسید در دوزهای بیان شده‌ی ضد آپوپتوز می‌باشد و در برابر آسیب‌های کبدی القاشده‌ی توسط دیابت اثر محافظتی دارد.

واژه های کلیدی: شیرین‌بیان، *Glycyrrhiza glabra*، آلوکسان، Bax، Bcl2، موش صحرایی.

مقدمه

دیابت شیرین، یکی از شایع ترین بیماری های دستگاه غدد درون ریز بدن بوده که برخی از عوارض آن شامل افزایش قند خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات ها، چربی ها و پروتئین ها است(۱۴،۱۵،۲۹). میزان شیوع جهانی دیابت به طور چشم‌گیری افزایش یافته و بر اساس پیش بینی فدراسیون بین المللی دیابت تا سال ۲۰۴۰ بیش از ۶۴۲ میلیون نفر(۷/۷ در صد مردم جهان) به دیابت مبتلا خواهند شد(۳۶، ۱۳). دو گروه عمده دیابت شیرین به عنوان نوع یک و نوع دو نام گذاری شده اند. دیابت نوع یک در نتیجه کمبود کامل یا تقریباً کامل انسولین رخ می-دهد. دیابت نوع دو شامل گروه‌های ناهمگونی از اختلالات است که با درجات متفاوتی از مقاومت به

انسولین، اختلال در ترشح انسولین و افزایش تولید گلوکز مشخص می شود(۶،۱۰،۲۷). دیابت شیرین نوع یک در نتیجه تعامل میان عوامل ژنتیکی، محیطی و ایمونولوژیکی به وجود می آید که در نهایت سبب تخریب سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس پانکراس و کمبود انسولین می-شود. دیابت نوع یک در نتیجه تخریب خود ایمنی سلول‌های بتا رخ می دهد و در اکثر ولی نه در همه ی مبتلایان، شواهد خود ایمنی بر ضد سلول‌های جزیره ای دیابتی مشاهده می شود. برخی از افرادی که فنوتیپ بالینی دیابت نوع یک را دارند، فاقد نشانگرهای ایمونولوژیک حاکی از فرآیند خود ایمنی بر ضد سلول‌های بتا و شاخص‌های ژنتیکی دیابت نوع یک هستند(۱۱،۲۷). دیابت یکی از عوامل اصلی اختلالات کبدی محسوب می‌شود(۶،۲۲).کبد اصلی ترین اندام سم‌زدایی در بدن است و نقش مهمی در کنترل هموستازی طبیعی گلوکز دارد(۸،۳۸) .هم چنین از اندام های اصلی حساس به استرس اکسیداتیو ناشی از قند خون است که ممکن است باعث آسیب بافت کبدی شود. این امر منجر به اختلال متابولیسم پروتئین، کربوهیدرات و لیپید شده و در نتیجه افزایش استرس اکسیداتیو و تحریک التهابی می-شود(۶،۲۰). حفظ ثبات سطح گلوکز خون با برداشت و ذخیره سازی گلوکز به گلیکوژن از وظایف کبد به شمار می‌رود. مشخص شده که آلوکسان مونوهیدرات دارای اثرات زیان آوری بر روی بافت کبد است(۴۱).آپوپتوز اصلی‌ترین مکانیسم در تکامل و هموستاز بافت های بالغ جهت حذف سلول‌های غیرضروری، آلوده، جهش یافته و یا آسیب دیده از طریق مسیرهای خودکشی داخلی است و عوامل مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی باعث القای آن می‌گردند(۳۰). آپوپتوز سلولی توسط برخی پروتئین‌های میتوکندریایی شامل پروتئین‌های خانواده lymphoma Bcl یا Bcl-2 که به دو بخش پروتئینی ضدآپوپتوتیک Bcl-2، Bcl-XL، Bcl-W، Bfl-1 و Mcl-1 و پیش آپوپتوتیک Bad، Bax، BAK Bcl-Xs، Bid، Bik، Bimو Hak تقسیم شده اند، تنظیم می‌شوند. پروتئین‌های ضد آپوپتوتیک، آپوپتوز را با جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم cاز میتوکندری، تنظیم می کنند در حالی که پروتئین‌های پیش‌آپوپتوتیک موجب تسریع رهاسازی آن می‌شوند. نسبت تعادل بین پروتئین‌های پیش‌آپوپتوتیک و پروتئین‌های ضدآپوپتوتیک یکی از فاکتورهای اصلی مشخص کننده این است که سلول‌ها زنده می‌مانند یا دچار آپوپتوز می گردند(۱۲،۳۹). پروتئین Bcl-2 با وزن ۲۸ کیلودالتون یکی از معروف ترین پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز است که علاوه بر جلوگیری از آزادسازی سیتوکروم c از میتوکندری، از طریق حفظ یک پارچگی غشای میتوکندری با خارج ساختن یون های H+ به Apaf-1 متصل می‌شود و فعال-سازی کاسپاز ۹ را مهار می کند. پروتئین Bax با وزن۲۴ کیلو دالتون می تواند عمل Bcl-2 را خنثی کند. به این دلیل در بیشتر مطالعات، جهت سنجش آپوپتوز هر دوی این دو فاکتور را ارزیابی می‌کنند(۳۹). گیاه‌درمانی دانش کهن‌سالی است که ریشه در اعماق تاریخ دارد(۳۵). در سال‌های اخیر تمایل زیادی به بررسی اثرات فیزیولوژی و فارماکولوژی عصاره‌های گیاهی و استفاده از داروهای گیاهی در جهان و به‌خصوص در ایران ایجاد شده‌است. عواملی هم چون: گوناگونی ترکیبات مؤثره‌ی موجود در گیاهان، هزینه‌های اقتصادی پایین‌تر، توسعه‌ی صنایع وابسته به کشت گیاهان دارویی، جلوگیری از خروج ارز از کشور، ایجاد کار مفید و به‌ویژه پیشنهاد استفاده از گیاهان دارویی توسط سازمان جهانی بهداشت، دلایل رویکرد جهانی به طب گیاهی است(۲۶، ۹). گیاه شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* ، نام انگلیسی Licorice و Liquorice و نام عربی شجره السوس یا عرق سوس، گیاهی چند ساله از خانواده بقولات (Fabaceae) می‌باشد(۲،۳،۲۵). شیرین بیان گیاهی

مدیترانه ای بوده و در جنوب شرق آسیا گسترش زیادی دارد. این گیاه از جنوب اروپا تا آسیای مرکزی میان دو عرض جغرافیایی ۳۰ تا ۴۵ درجه نیمکره شمالی رویش دارد. سابقه تاریخی ۲۵۰۰ ساله استفاده از شیرین‌بیان آن را به"پدربزرگ گیاهان دارویی" معروف کرده است(۳۶). گیاه شیرین‌بیان با واسطه دارا بودن ترکیبات دارویی و غذایی مهم در ریشه و ریزوم آن در دنیا حائز اهمیت بوده و مورد توجه صنایع دارویی، غذایی و حتی دخانیات قرارگرفته است(۲۶،۳۶). هم چنین دارای خواص متعدد دارویی از جمله ضددیابت، تقویت کننده حافظه، تاخیر در یائسگی، ضدسرطان و مسکن می‌باشد(۵). ماده‌ی اصلی این گیاه، ترکیب ساپونین تری ترپنوئیدی به نام اسیدگلیسیریزیک یا گلیسیریزین با فرمول $C_{92}H_6O_{16}$ می‌باشد که شیرینی آن ۵۰ تا ۳۰ برابر ساکارز است که در صنایع دارویی، غذایی و دخانیات کاربرد دارد. از گلیسریزیک‌اسید در درمان بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن استفاده می‌شود و در بیمارانی که به درمان با اینترفرون جواب نمی‌دهند استفاده می‌شود. گلیسریزین توانسته سبب کاهش ترنس آمینازهای سرم در هپاتیت C شود، اما به دنبال قطع مصرف آن ممکن است میزان آن ها مجدداً افزایش یابد(۳۴). علاوه بر این می‌توان به اثر ضد ویروسی عصاره‌ی ریشه گیاه شیرین‌بیان بر ویروس هپاتیت A، B، C و ویروس ضعیف‌کننده سیستم ایمنی بدن(HIV-1) نیز اشاره کرد(۲۳). هدف از این مطالعه مقایسه اثر عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان وگلیسریزیک‌اسید بر سطح پروتئین‌های Bax و Bcl-2 در سلول‌های کبد موش‌های صحرایی مدل دیابت تجربی نوع یک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: مطالعه تجربی حاضر در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم پایه دانشگاه پیام نور مشهد مقدس انجام شد. هم چنین لازم به ذکر است رعایت تمامی حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. هم چنین در کلیه مراحل قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده‌است و شناسه اخلاق به شماره IR.IAU.DAMGHAN. RE.1398.002 از کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دریافت شده‌است. به منظور حصول سازش با محیط، آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز بعد از استقرار حیوانات به انجام رسید(۱۷،۳۸).

گروه بندی: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، از تعداد ۷۲ سر موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن بین ۱۵۷ تا ۲۵۱ گرم استفاده می شود. موش های صحرایی در ابتدا به طور تصادفی به شش گروه ۱۲تایی دسته بندی شدند. سپس با توجه به تأثیر زمان هر گروه ۱۲ تایی به ۲ گروه شش تایی ۱۵ روزه و ۳۰ روزه تقسیم شدند که شامل:

-گروه‌های شاهد سالم ۱ و ۲: تزریق نرمال سالین طی ۱۵ روز و ۳۰ روز

-گروه‌های شاهد دیابتی ۳ و ۴: تزریق آلوکسان طی ۱۵ روز و ۳۰ روز

-گروه‌های دیابتی تجربی ۵ و ۶: تیمار با عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر طی ۱۵ روز و ۳۰ روز

-گروه‌های دیابتی تجربی ۷ و ۸:تیمار با عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر طی ۱۵ روز و ۳۰ روز

-گروه‌های دیابتی تجربی ۹ و ۱۰: تیمار با ماده موثره‌ی گلیسریزیک اسید با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر طی ۱۵ روز و ۳۰ روز

-گروه‌های دیابتی تجربی ۱۱ و ۱۲: تیمار با ماده موثره‌ی گلیسریزیک اسید با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر طی ۱۵ روز و ۳۰ روز

گروه‌های دیابتی ۱ و ۲ به مدت ۱۵ روز و ۳۰ روز پس از القاء دیابت تجربی با استفاده از آلوکسان مونوهیدرات (Sigma-Aldrich, Germany)، شیرین‌بیان با غلظت ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی دریافت می کنند(۱۰). گروه‌های‌دیابتی‌تجربی ۲ به مدت ۱۵ و ۳۰ روز پس از القاء دیابت تجربی با استفاده از آلوکسان مونوهیدرات، شیرین‌بیان با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم به ازاء هرکیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی دریافت می کنند(۴). گروه‌های دیابتی تجربی۳ به مدت ۱۵ و ۳۰ روز پس از القاء دیابت‌تجربی با استفاده از آلوکسان مونوهیدرات، گلیسریزیک‌اسید با غلظت ۵۰ میلی‌گرم به ازاء هرکیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی دریافت می کنند. گروه‌های دیابتی تجربی ۴ به مدت ۱۵ و ۳۰ روز پس از القاء دیابت تجربی با استفاده از آلوکسان مونوهیدرات، گلیسریزیک‌اسید با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم به ازاء هرکیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی دریافت می کنند. گروه‌های شاهد سالم ۱ و ۲ و شاهد دیابتی ۳ و ۴ به مدت ۱۵ و ۳۰ روز به میزان حجم گلیسریزیک اسید تزریقی، نرمال سالین استریل به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. دیابت نوع یک در موش-های صحرایی به دنبال ۱۶ ساعت ناشتایی با یک بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان به میزان ۲۴۰ میلی گرم به ازاء هرکیلوگرم وزن بدن ایجاد می شود. به دلیل این که مطالعه بر روی دیابت مزمن می باشد، آلوکسان به گروه‌های شاهددیابتی و گروه‌های دیابتی تجربی ۱ تزریق می‌شود.

روش دیابتی کردن: دیابت تجربی(دیابت نوع یک) در موش های صحرایی با یک بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات(Sigma-Aldrich ساخت کشور آلمان) به میزان ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ایجاد شد(۳۲). هم چنین از بافر سیترات(pH = ۵/۴) عنوان حلال آلوکسان استفاده گردید. آلوکسان به گروه‌های شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین بیان و گلیسریزیک اسید تزریق شد. مطالعه بر روی دیابت مزمن می‌باشد و به همین دلیل حدود ۳۰ روز پس از تزریق آلوکسان، جهت تأیید القاء دیابت تجربی از ورید دمی خون‌گیری صورت گرفت.

اندازه‌گیری قند خون(گلوکومتری): اندازه گیری قند خون از طریق خون گیری از ورید دمی با استفاده از تیغ جراحی و با ایجاد یک برش کوچک صورت گرفت. تعیین سطح گلوکز با استفاده از یک قطره خون و دستگاه گلوکومتر مدل IGM-0002A(ساخت شرکت EasyGluco، کشور کره جنوبی) انجام شد. قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخصه‌ی دیابتی شدن و روز صفر آزمایش در نظرگرفته شد.

خون‌گیری: در پایان دوره تیمار، موش‌های صحرایی به تفکیک گروه‌ها توسط دی‌اتیل‌اتر بیهوش شدند. سپس پوست ناحیه قفسه سینه، جناغ و دنده ها برش داده شد و با کنار کشیدن جناغ و دنده ها از بطن چپ قلب توسط سرنگ ۲ میلی‌لیتر خون‌گیری انجام شد. خون گرفته شده بدون ماده ضد انعقاد درون لوله آزمایش ریخته و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور مدل INB400(ساخت شرکت Memmert، کشور آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، لوله ها در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۲ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس سرم خون روی بخش لخته شده توسط سمپلر جدا و به لوله آزمایش دیگری منتقل و در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد(۳۸).

سنجش پروتئین: جهت سنجش‌های بافتی، در روزهای ۱۵ و ۳۰ آزمایش، مقداری از کبد از بدن حیوانات خارج شد. پس از شستشو با محلول نرمال سالین به همراه بافر تریس به مدت ۲ دقیقه توسط دستگاه هموژنایزر با ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه شد. سپس توسط عمل سانتریفیوژ مدل EBA280(ساخت شرکت Hettich، کشور آلمان)،

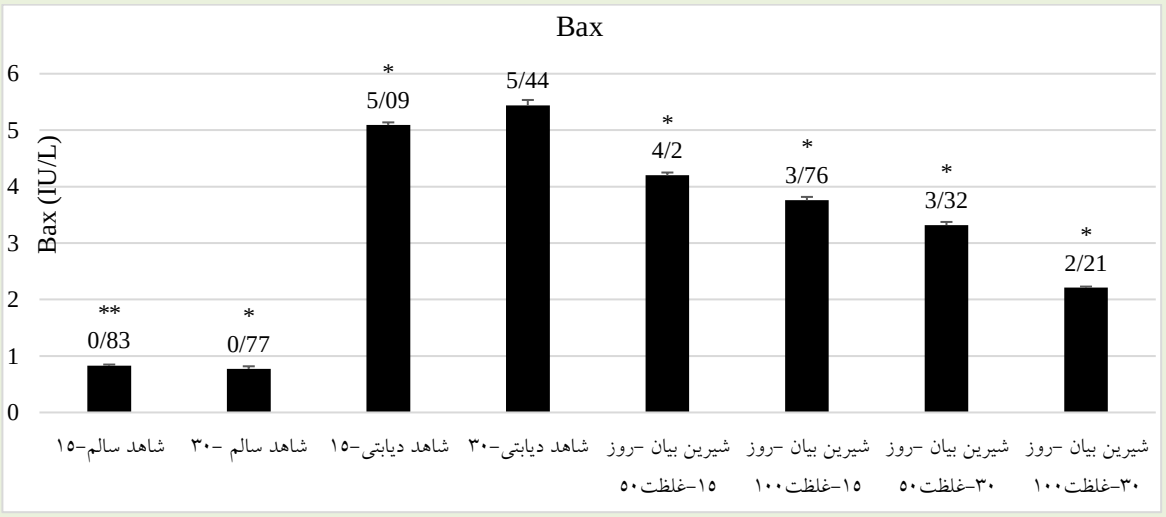
سیتوپلاسم سلول‌ها از بافت هموژنیزه تفکیک و جهت سنجش استفاده شد. جهت جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تمامی مراحل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ یخچال دار مدل Z366(ساخت شرکت Hermle، کشور آلمان) انجام شد و از محلول ۰/۵ میلی-مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید به عنوان مهارکننده پروتئازهای سلول‌ها استفاده شد(۳۱). جهت بررسی میزان پروتئین‌های Bcl2 و Bax از روش الایزا و دستگاه الایزا ریدر مدل Stat Fax-2100(ساخت کشور آمریکا) و کیت های ساخت شرکت فاین تست کشور چین استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزارآماری SPSS ویرایش۲۱ تحلیل شد. در نتایج به دست آمده توسط آزمون کولموگروف اسمیرنوف فرض نرمال بودن داده ها برقرار شد. جهت تحلیل داده ها از آزمون واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. معیار استنتاج آماری سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. هم چنین نتایج به دست آمده به همراه محاسبات آماری مربوطه به صورت میانگین ± خطای انحراف معیار بیان شد.

نتایج

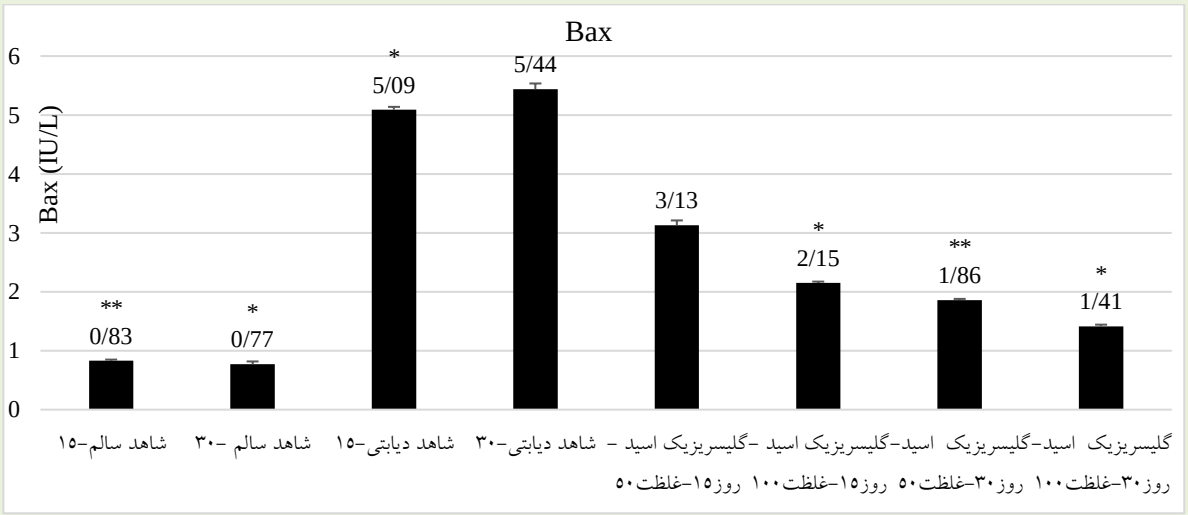
نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان پروتئین Bax در گروه‌های سالم ۱ بسیار ناچیز بوده است که بعد از دیابتی شدن موش‌ها با آلوکسان سطح بیان این ژن در موش‌های دیابتی افزایش یافته است. مقایسه بین موش‌های شاهد سالم و شاهد دیابتی در روزهای ۱۵ و ۳۰ تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. موش های تیمار شده با عصاره‌ی شیرین‌بیان با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در روز ۳۰ بیشتر از روز ۱۵ کاهش معنی‌داری در سطح پروتئین Bax نسبت به موش‌های دیابتی نشان دادند. هم چنین مقایسه بین گروه‌های دریافت کننده‌ی شیرین‌بیان با غلظت ۵۰میلی‌گرم در روز برای روز ۱۵ با گروه‌های شاهد دیابتی تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. به علاوه عصاره‌ی شیرین‌بیان با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در روز ۳۰ به طور معناداری سبب کاهش سطح پروتئین Bax در موش‌های دیابتی شده‌است. هم چنین کاهش سطح پروتئین Bax توسط ماده موثره‌ی گلیسیریزیک‌اسید در غلظت ۵۰ در روز ۱۵ مشابه غلظت ۱۰۰ شیرین‌بیان در روز ۳۰ می‌باشد. سطح پروتئین Bax در روز ۳۰، توسط غلظت ۱۰۰ گلیسیریزیک اسید به طور معناداری نسبت به گروه‌های شاهد دیابتی کاهش یافته است. علاوه بر این طبق مشاهدات در نمودار۱ ملاحظه می‌شود که سطح پروتئین Bax در روز۱۵ توسط غلظت ۱۰۰ گلیسیریزیک‌اسید با غلظت ۵۰ گلیسیریزیک اسید در روز ۱۵ به طور معناداری کاهش یافته است. مقایسه بین سطح پروتئین Bax در روز ۳۰ غلظت ۵۰ گلیسیریزیک‌اسید نسبت به غلظت ۱۰۰ همین ماده در روز ۳۰ مشابه یک دیگر است. مطابق نمودار مقایسه سطح پروتئین Bax در روز ۳۰ توسط غلظت ۵۰ ماده موثره‌ی گلیسیریزیک‌اسید، با روز ۳۰ توسط غلظت ۵۰ عصاره‌ی شیرین‌بیان در روز ۳۰ کاهش معنی‌داری نسبت به یک دیگر دارند(نمودارهای ۱ و ۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ژن Bcl-2 به میزان زیادی در گروه‌های شاهد سالم بیان شده و در مقابل در گروه‌های شاهد دیابتی شده بیان آن کاهش معنی داری نسبت به شاهد سالم داشته است. عصاره‌ی شیرین‌بیان با دوز ۵۰ میلی‌گرم در روز ۱۵، تأثیر محسوس در افزایش بیان این ژن نسبت به شاهد دیابتی روز ۱۵ نداشته‌است. مقایسه تأثیر عصاره‌ی شیرین‌بیان با دوز ۵۰ میلی‌گرم در روز ۳۰، تأثیر محسوس و معنی دار در مقابل عصاره‌ی شیرین‌بیان در غلظت ۵۰ در روز ۱۵ داشته است. مقایسه تأثیر ماده موثره‌ی گلیسریزیک اسید در غلظت ۵۰ در روز ۱۵ به طور معناداری باعث افزایش سطح بیان ژن نسبت به شاهد دیابتی روز ۱۵ و عصاره‌ی شیرین‌بیان در غلظت ۵۰ در روز ۱۵ داشته است. عصاره‌ی شیرین‌بیان در غلظت ۵۰ در روز ۳۰، اثر مشابهی در افزایش سطح بیان ژن ماده

موثره‌ی گلیسریزیک‌اسید با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در روز ۱۵ داشته‌است. تأثیر افزایش عصاره‌ی شیرین‌بیان با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در روز ۳۰ هم مشابه اثر گلیسیریزیک اسید با غلظت ۵۰ در روز ۳۰ می‌باشد. بیشترین تأثیر افزایشی بر میزان پروتئین Bcl-2 توسط غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم گلیسیریزیک اسید در روز ۳۰ می‌باشد(نمودارهای ۳ و ۴).



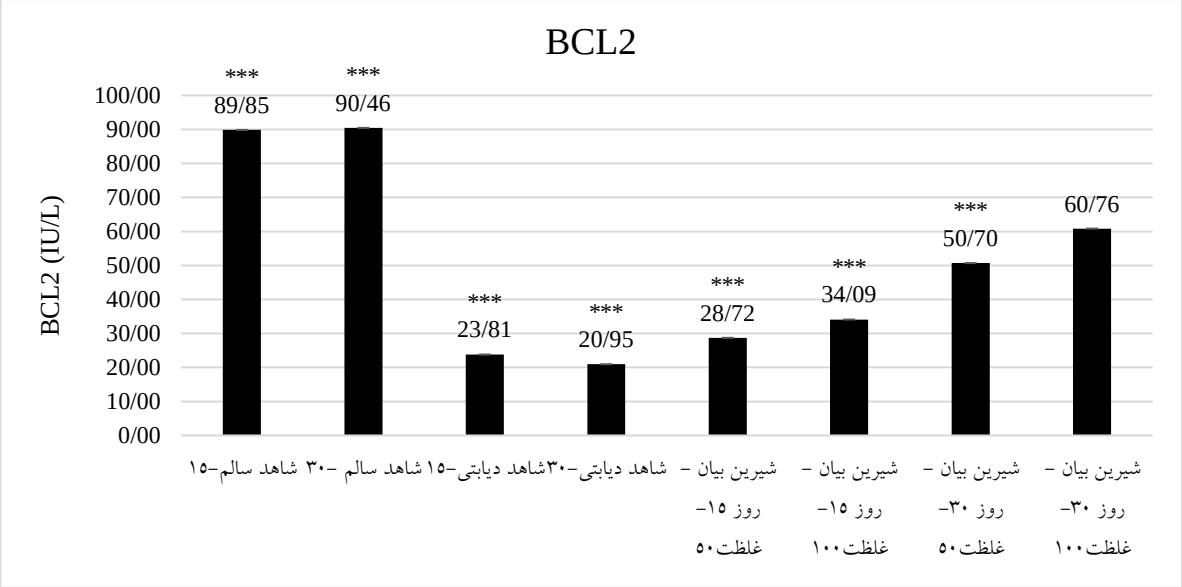
نمودار ۱- مقایسه میزان پروتئین Bax در موش های دریافت کننده عصاره‌ی شیرین‌بیان با غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم با گروه‌های شاهددیابتی(کنترل) سالم و دیابتی

مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و *: $p < ۰/۰۵$، **: $۰/۰۱ > p$ و ***: $p < ۰/۰۰۱$)



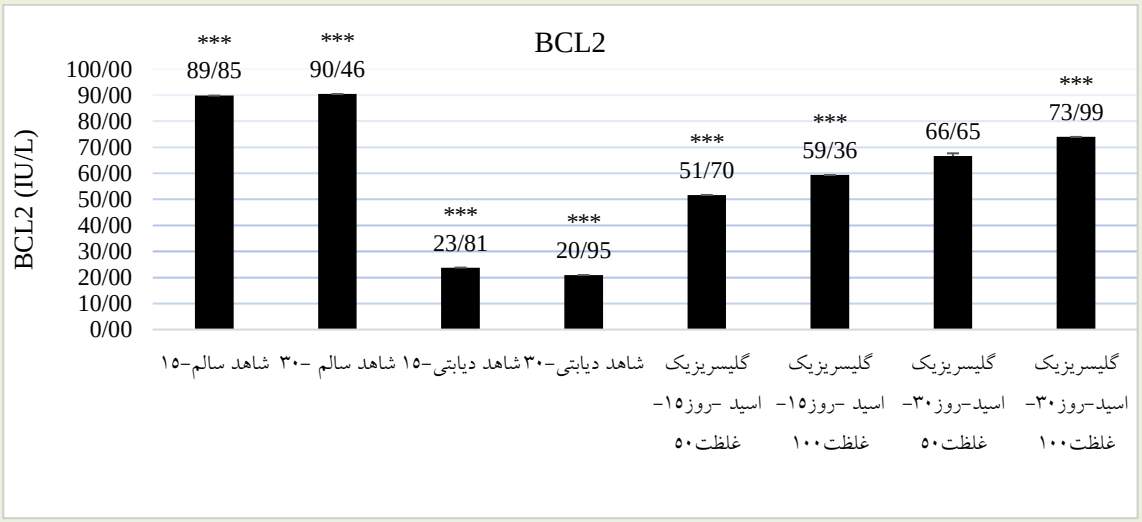
نمودار ۲- مقایسه میزان پروتئین Bax در موش های تحت تیمار ماده موثره‌ی گلیسریزیک‌اسید

مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و *: $p < ۰/۰۵$، **: $۰/۰۱ > p$ و ***: $p < ۰/۰۰۱$



نمودار ۳-مقایسه میزان پروتئین BCL_2 در موش های تحت تیمار عصاره‌ی شیرین‌بیان

(مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و *: $p < ۰/۰۵$، **: $p < ۰/۰۱$ و ***: $p < ۰/۰۰۱$)



نمودار ٤- مقایسه میزان پروتئین Bcl-2 در گروه های تحت تیمار عصاره‌ی شیرین‌بیان

(مقادیر به صورت میانگین ± خطای معیار و *: $p < ۰/۰۵$، **: $p < ۰/۰۱$ و ***: $p < ۰/۰۰۱$)

بحث ونتیجه گیری

در این پژوهش با استفاده از ماده‌ی شیمیایی آلوکسان مونوهیدرات شرایطی مشابه با دیابت نوع یک ایجاد شد. یکی از مسیرهایی که در توجیه آپوپتوز به دنبال تجویز آلوکسان نقش دارد فعال شدن مسیر استرس اکسیداتیو می‌باشد که محصول نهائی آن تولید بیش از حد رادیکال-های آزاد و تخریب سلول‌های بتای پانکراس است(۱۸،۳۲). تاکنون در مسیرهای مولکولی منجر به آپوپتوز پروتئین های متعدد شناخته شده‌است که البته برخی از آن ها پیش برنده و برخی بازدارنده آپوپتوز محسوب می‌شود. خانواده پروتئین Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) که با ژن Bcl-2 کدگذاری می‌شود یک پروتئین آنتی‌آپوپتوتیک می‌باشد و می‌تواند از آسیب‌های سمیت سلولی جلوگیری کند(۱۹). هایپرگلایسمی با افزایش رادیکال‌های آزاد موجب بیان بالای پروتئین Bax می‌شود. پروتئین Bax یا پروتئین X وابسته به Bcl-2،

پروتئین تنظیم کننده آپوپتوز است و در زمان استرس‌های اکسایشی افزایش می‌یابد و موجب ایجاد سیگنال‌های مختلف سلول‌ها می‌شود. پس غلظت این پروتئین‌ها عامل مهمی در سرنوشت سلول‌ها است(۴).در این میان یکی از ایندکس‌های شناخته شده، نسبت سطح Bax/Bcl-2 می‌باشد که افزایش این نسبت سلول‌ها را به سمت آپوپتوز سوق می‌دهد. شایان ذکر است که افزایش پروتئین Bax به شروع آپوپتوز و افزایش پروتئینBcl-2 به جلوگیری از آن کمک می‌کند(۱). در دیابت نوع ۱، اختلال مطلق یا نبود انسولین ناشی از تخریب سلول‌های بتای جزایرلانگرهانس می باشد(۷،۱۳،۳۶). استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوژن دیابت و عوارض آن دارد که این منجر به آزاد شدن رادیکال های آزاد اکسیژن می شود(۱۴،۳۶،۳۸). تولید این رادیکال ها منجر به آسیب ماکرومولکول ها مانند پروتئین ها، نوکلئیک‌اسیدها و لیپیدها می شود. هم چنین قنددارشدن پروتئین ها و اکسیداسیون گلوکز منجر به تشکیل محصولاتی می‌شود که می تواند موجب تولید رادیکال های آزاد شوند. تداوم هایپرگلایسمی منجر به عدم تعادل میان رادیکال‌های آزاد و سیستم های دفاعی سلول‌ها می شود. آن عدم تعادل می‌تواند باعث از بین رفتن سلول‌ها، آسیب سلولی و بافتی بدن شود(۳۶،۳۸). تعداد زیادی از این گیاهان حاوی ترکیبات طبیعی می‌باشند که به گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی می دهند و موجب سرکوب رادیکال های آزاد ایجاد شده در بعضی بیماری ها به ویژه بیماری دیابت می شوند(۳۳). امروزه برای درمان بیماری‌ها از جمله دیابت به سوی استفاده از داروهای‌گیاهی که دارای کمترین عوارض جانبی نسبت به داروهای شیمیایی هستند، می‌روند(۴).گلیسریزیک‌اسید می‌تواند با القای میتوکندری، مسیر پروآپوپتوز را تحریک کند. ویژگی انتقال مواد و نفوذپذیری سلول‌ها ممکن است برای القای آپوپتوز در سلول‌های توموری مفید باشد. عصاره‌ی شیرین‌بیان باعث فسفوریلاسیون Bcl2 شد(۴۰). حساسیت سلول‌ها به آپوپتوز به تعادل و نسبت فاکتورهای پیش‌آپوپتوزی(Bax و Bid) و ضدآپوپتوزی(Bcl-XL و Bcl-2) بستگی دارد و در حقیقت نسبت متوسط این پروتئین‌ها سرنوشت سلول‌ها را تعیین می کند. مکانیسم‌های حفاظت و پیشگیری در برابر آپوپتوز ممکن است متأثر از NF-kB باشد که مانع از حساسیت به آپوپتوز می‌شود و می‌تواند سبب تنظیم افزایشی پروتئین‌های سلولی ضد آپوپتوتیک Bcl-2 را تقویت کند. بیان زیاد عامل ضدآپوپتوزی Bcl-2 در کاهش آسیب بافت کبد و بهبود عملکرد کبد مؤثر می‌باشد(۱۹،۴۲). تحقیقات مشابه‌ایی در رابطه با تأثیرگذاری دیابت بر روی سلول‌های اندام های مختلف مثل کبد، قلب انجام شده است که در این تحقیقات بر روی میزان پروتیئن‌های Bax و Bcl-2 در سلول‌ها کار شده‌است(۲۸). هم چنین پژوهش‌های بعدی بر روی تأثیرگذاری داروهای گیاهی برروی بیماری دیابت و میزان پروتئین‌های Bax و Bcl-2 بوده است که به چند مورد اشاره می‌شود. از جمله در تحقیق پژوهشی که در سال ۲۰۲۰ انجام شد، نتایج نشان داد تجویز مکمل کافئین در بافت میوکارد موش‌های دیابتی‌شده سبب افزایش هرچه بیشتر بیان پروتئین آپوپتوزی Bax و کاهش بیان پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl-2 در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم و دیابتی می‌شود. چنان چه افزایش در فعالیت ماشین آپوپتوزی به دنبال القای دیابت در بیشتر تحقیقات قبلی نیز به خوبی ثابت شده‌است(۲۴).در تحقیق پژوهشی دیگری اثرات عصاره‌ی آبی سیر در میزان بیان ژن های Bax و Bcl-2 و فعالیت کاسپاز۳ در بافت کبد موش‌های دیابتی نوع ۱ و ۲ مورد مطالعه قرار گرفته‌است. در این تحقیق بیان شده که دیابت نوع ۱ سبب القای آپوپتوز شده‌است ولی عصاره‌ی سیر سبب بهبود این آسیب نشده‌است(۲۲). در تحقیق پژوهشی دیگری نتایج نشان داد مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین بر

فاکتور Bcl-2 بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری دارند، اما تمرین هوازی و مکمل ال کارنیتین به تنهایی تأثیر معنی‌داری ندارند(۱۹). در تحقیق پژوهشی بعدی به بررسی اثر سافرانال بر میزان Bcl2 و Bax در بافت بیضه‌ی موش‌های صحرایی دیابتی شده‌ی با استرپتوزوتوسین پرداخته‌است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که سافرانال با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانست شاخص سطح بافتی Bax را کاهش و میزان سطح بافتی Bcl-2 را نسبت به گروه‌های شاهد دیابتی به طور معنی‌داری افزایش دهد و از این طریق موجب بهبود آسیب‌های القاشده‌ی توسط دیابت در بافت بیضه‌ی موش‌های صحرایی دیابتی شود(۴).همان طور که ملاحظه می شود مطالعات بسیار اندکی در خصوص اثر فعالیت مقایسه اثر عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان و گلیسریزیک‌اسید روی Bax و Bcl-2 انجام‌شده‌است. در مجموع نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در روز ۳۰ توانست سطح بافتی شاخص Bax را به طور معنی‌داری کاهش دهد. ولی سطح بافتی شاخص Bcl-2 افزایش معنی داری نسبت به گروه‌های تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر در روز ۱۵ را نشان داد که دلیل آن اثر وابسته به غلظت در زمان طولانی‌تر است($p < ۰/۰۵$). گروه‌های تحت تیمار عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در روز ۱۵ توانست سطح بافتی شاخص Bax را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان کاهش دهد که دلیل آن اثر وابسته به غلظت شیرین‌بیان می‌باشد. ولی شاخص بافتی Bcl-2 در شیرین‌بیان با غلظت ۱۰۰ افزایش معنی داری نسبت به گروه‌های تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر در روز ۱۵ نشان دادکه دلیل آن اثر وابسته به غلظت است($p< ۰/۰۰۱$). ولی هر دو غلظت یاد شده‌ی نسبت به شاهد دیابتی توانستند سطح بافتی شاخص Bax را به طور معنی داری کاهش دهند($p < ۰/۰۵$). ولی هر دو گروه‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان درروز ۱۵ توانستند سطح شاخص بافتی Bcl-2 را به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد دیابتی افزایش دهند($p< ۰/۰۰۱$). گروه‌های تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در روز ۳۰، عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان توانست سطح بافتی شاخص Bax را به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره‌ی هیدروالکلی شیرین‌بیان در روز ۱۵ را کاهش دهد که دلیل آن اثر وابسته به زمان تأثیر شیرین‌بیان می‌باشد($p< ۰/۰۵$). هم چنین نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که غلظت‌های یاد شده در مورد ماده‌ی موثره‌ی گلیسریزیک‌اسید تأثیر معنی‌داری بر سطح شاخص‌های بافتی Bax و Bcl-2 نسبت به غلظت‌های مشابه عصاره‌ی شیرین‌بیان دارد که دلیل آن خالص بودن این ماده(گلیسریزیک‌اسید) نسبت به حالت ترکیب با مواد دیگر(عصاره) می‌باشد. مطالعه حاضر نشان داد القای دیابت موجب افزایش میزان فعالیت ماشین آپوپتوتیک از طریق افزایش بیان پروتئین Bax به عنوان یکی از شاخص‌های پیش آپوپتوزی و کاهش بیان پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl-2 شد. گلیسریزیک اسید با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در روز ۳۰ نسبت به غلظت‌های مشابه از عصاره‌ی شیرین‌بیان در همان روز توانست شاخص سطح بافتی پروتئین Bax را کاهش معنی‌دارتری دهد. هم چنین میزان سطح بافتی پروتئین Bcl-2 را نسبت به گروه‌های شاهد دیابتی به‌طور معنی‌دارتری افزایش دهد و از این طریق موجب بهبود آسیب‌های القاء شده توسط دیابت در بافت کبد موش¬های صحرایی دیابتی شود.

منابع

1.Aliparasti, M., Dadkhah, M., Alipour, M., Almasi, Sh., Faizi, H. (2016). The effect of ghrelin on Bcl-2Bax gene expression in lung tissue of rats kept under chronic hypoxia. Scientific Research Journal of Zanjan University of Medical Sciences, 24(106); 89-79.

2.Amani, M., Gharebagh R. S., N. Mostaoufi. (2005). Optimal extraction of glycyrrhetinic acid from licorice root. Journal of Food Technology, 3(4); 576-580.

3.Amouoghli-Tabrizi, B., Mohajeri, D. (2010). Protective effect of edible turmeric (*Curcuma longa* Linn.) powder on early hepatic injury in diabetic rats. Journal of Kashan Uniersity of Medical Sciences (Feyz), 14(3); 190-199.

4.Ataei, Gh, Rahbarian, R. (2020). Investigating the effect of safranal on Bax and Bcl2 and oxidative stress levels in testis tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Kashan Uniersity of Medical Sciences (Feyz), 24(1); 10-20.

5.Batiha, G., Beshbishy, A.M., Mleeh, A.E., Daim, M.M., Devkota, H.P. (2020). Traditinal uses bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyherriza glabral* (Fabacea). Biomolicules, 10; 325.

6.Bugianesi, E., McCullough, A.J., Marchesini, G. (2005). Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. Hepatology, 42(5); 987-1000.

7.Burkart, V., Wang, Z.Q., Radons, J., Heller, B. (1999). Mice lacking the poly (ADP-ribose) polymerase gene are resistant to pancreatic beta-cell destruction and diabetes development induced by streptozocin. Nature Medicine, 5; 314-319.

8.Chen, Z.W., Chen, L.Y., Dai, H.L., Chen, J.H., Fang, L.Z. (2008). Relationship between alanine aminotransferase levels and metabolic syndrome in nonalcoholic fatty liver disease. Journal of Zhejiang University Science, 9(8); 616-622.

9.Chin, Y.W., Balunas, M.J., Chai, H.B., Kinghorn, A.D. (2006). Drug discovery from natural sources. The AAPS Journal, 8(2); E239-E253.

10. Darabi, S, Hasanvand, A, Norohahi, A. (2016). Evaluation of anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extracts of garlic, nettle leaves and olive in rats with diabetes. C.M.J., 6(S1); 1452-1460.

11. Dunn, J.S., Kirkpatrick, J., McLetchie, N.G.B., Telfer, S.V. (1943). Necrosis of the islets of Langerhans produced experimentally. Journal of Pathology and Bacteriology, 55; 245-257.

12. Ebadollahi, S., Pouramir, M., Zabihi, E., Golpour, M., Aghajanpour-Mir, M. (2021). The effect of arbutin on the expression of tumor suppressor P53, BAX/BCL-2 ratio and oxidative stress induced by tert-butyl hydroperoxide in fibroblast and lncap cell lines. Cell Journal, 22(4); 532-541.

13. Eiselein, L., Schwartz, H.J., Rutledge, J.C. (2004). The challenge of type 1 diabetes mellitus. ILAR Journal, 45(3); 231-236.

14. Fernández-Mejía, C., Lazo-de-la-Vega-Monroy, M.L. (2013). Oxidative stress in diabetes mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. DOI: 10.5772/51788.

15. Ganda, O.P., Rossi, A.A., Like, A.A. (1976). Studies on streptozotocin diabetes. Diabetes, 25; 595-603.

16. Gissen, P., Arias, I.M. (2015). Structural and functional hepatocyte polarity and liver disease. Journal of Hepatology, 63(4); 1023-1037.

17. Heydari, F., Mirazi, N. (2016). Effect of hydro-alcholic extract of *Pelargonium graveolens* L. on serum lipid profile in male rat. Feyz, 20(3); 196-204.

18. Hye-won, R., Ji-Na, L., Hyung-Rhokim, M. (2000). Protective mechanism of glucose against alloxan–induced B-cell damage. Experimental and Molecular Medicine, 32(1); 12-17.

19. Jabbari, S.E., Gholami, M., Nikbakht, H., Shakeri, N., Ghazalian, F. (2019). Effect of aerobic training and L-carnitine supplementation on some apoptotic factors in diabetic rat liver. Razi Journal of Medical Sciences, 26(7); 131-134

20. Jamaluddin, J.L., Huri, H.Z., Vethakkan, S.R. (2016). Clinical and genetic predictors of dipeptidyl peptidase-4 inhibitor treatment response in Type 2 diabetes mellitus. Pharmacogenomics, 17(8); 867-881.

21. Kapoor, R., Kakkar, P. (2014). Naringenin accords hepatoprotection from streptozotocin induced diabetes in vivo by modulating mitochondrial dysfunction and apoptotic signaling cascade. Toxicology Reports, 1; 569-581.

22. Karimi, M.N., Abbasalipourkabir, R., Arab Sadeghabadi, Z., Ziamajidi, N. (2017). The level of gene expression of Bax and Bcl-2 and the activity of caspase 3 in the liver tissues of normal, type 1 and type 2 diabetic rats before and after treatment with aqueous extract of garlic. JSS

Academy of Higher Education and Research, 25(7); 547-555

23. Ketabchi, S., Papari Moghadamfard, M. (2021). Medicinal plants effective in the prevention and control of coronaviruses (Persian). Complementary Medicine Journal, 10(4); 296-307.

24. Khameneh AR, Jafari A, Nikookheslat S, Karimi P. (2020). Effect of chronic caffeine administration on expression ratio of Bax and Bcl-2 proteins in myocardial tissue of male wistar rats with type 2 diabetes (Persian). Complementary Medicine Journal, 10(3); 206-217 .

25. Khanahmadi, M.M., Naghdi Badi, H., Akhondzadeh, S., Khalighi-Sigaroodi, F., Mehrafarin, A., Shahriari, S. (2013). A Review on medicinal plant of *Glycyrrhiza glabra* L. Journal of Medicinal Plants, 12(46), 1-12.

26. Khoshnam, S.E., Farzaneh, M., Valipour, M., Bahaoddini, A., Valipour, A. (2015). Review of the phytochemical, pharmacological and physiological properties of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*). Clinical Excellence, 4(S1); 71-56

27. Kharroubi, A.T., Darwish, H.M. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. World Journal of Diabetes, 6(6); 850.

28. Kroncke, K.D., Fehsel, K., Sommer, A., Rodriguez, M.L. (1995). Nitric oxide generation during cellular metabolization of the diabetogenic N-methyl-N-nitroso-urea streptozotocin contributes to islet cell DNA damage. BiolChem Hoppe-Seyler, 376; 179-185.

29. Lachin, T., Reza, H. (2012). Anti-diabetic effect of cherries in alloxan induced diabetic rats. Recent Patents on Endocrine, Metabolic and Immune Drug Discovery, 6(1); 67-72.

30. Marzetti, E., Privitera, G., Simili, V., Wohlgemuth, S.E., Aulisa, L., Pahor, M., (2010). Multiple pathways to the same end: mechanisms of myonuclear apoptosis in sarcopenia of aging. The Scientific World Journal, 10; 340-349.

31. Mohammadi Malayeri, M.R., Hesaraki, S., Jamal Livani, P. (2014). Protective effect of Iranian black tea on hepatotoxicity induced by cadmium chloride in rats. Comparative Pathology, 11(4); 1481-1490.

32. Mohammad-Sadeghi, H., Mansorabadi, A.H, Emami, S., Nahvinezhad, M.R, Mogoii, M. (2015). The effect of hydroalcoholic extract of mountain cockatiel on the number Active pancreatic beta cells induced in type 1 diabetic mice Streptozotocin. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism, 14(6); 373-378.

33. Mukim, M., Sharma, P., Mohsina, F.P., Faheem, I.P., Kukkar, R., Patel, R. (2021). Multiple used medicinal plant: glycyrrhiza glabra– review. SunText Review of Pharmaceutical Sciences, 2(2); 113.

34. Nasiri Asl, M., Hosseinzadeh, H. (2007). A review of the antiviral effects of licorice and its active ingredient glycerin. Journal of Medicinal Plants, 6(22); 1-12 .

35. Petrovska, B.B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. Pharmacognosy Review, 6(11); 1-5.

36. Qureshi, J.A., Memon, Z., Ismail, K., Saher, F., Motiani, V., Mushtaq, Z. (2020). Anti-hyperglycemic and anti-dyslipidemic activities of *Glycyrrhiza glabra* root extract in diabetic rats. Journal of Islamic International Medical College (JIIMC), 15(2); 98-103.

37. Rahbarian, R., Sadoughi, S.D. (2017). Effect of catechin on serum levels of inflammatory cytokines, activity of antioxidant enzymes, oxidative DNA damage of ovarian tissue in rats model of polycystic ovary syndrome. Pars of Jahrom University of Medical Sciences, 15(1); 23-35.

38. Sadoughi, S.D. (2017). Effect of crocin onBax/Bcl-2 ratio, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in liver tissue of chick embryo treated with silver nanoparticles. Horizon of Medical Sciences, 23(4); 293-299.

39. Sari-Sarraf, V., Amirsasan, R., Sheikholeslami-Vatani, D., Faraji, H. (2016). Effect of creatine supplementation on the factors involved in apoptosis-related process(Bax, Bcl-2) and their ratio (Bcl-2/Bax) during acute resistance exercise in middle-aged men. Journal of Kurdistan University of Medical Sciences, 21; 17-28.

40. Sharma, V., Katiyar, A., Agrawal, R.C. (2017). *Glycyrrhiza glabra*: Chemistry and Pharmacological Activity. Sweeteners, 2017; 87-100 .

41. Tahmasbpour, N., Dehghan, G., Hosseinpour Feizi, M.A., Monirinasab, H. (2014). The effect of *Teucrium orientale* on oxidative stress marker and liver function enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. Armaghan-e- Danesh Magazine, 19(2); 135-145.

42. Wang, K. (2014). Molecular mechanisms of liver injury: Apoptosis or necrosis. Exp Toxicol Pathology, 66(8); 351-356**..**

Comparison of the Effect of Hydroalcoholic Extract of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) and Its Active Ingredient Glycyrrhizic Acid on the Amount of Bax and Bcl-2 Proteins in the Liver Cells of Type 1 Diabetic Male Rats

S.Jani[1], **V. Hojati**[2], Gh. Vaezi[3], R. Rahbarian[4]

1.Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

2.Associate Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

V.Hojati@damghaniau.ac.ir

3.Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

4.Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Received:2021.23.8 **Accepted: 2021.7.10**

Abstract

Inroduction & Objective: The function of the liver as an insulin-dependent organ is strongly affected by diabetes. Diabetes can lead to liver damage through oxidative stress. The present study was performed to evaluate the possible effects of hydroalcoholic extract of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) and glyceric acid on Bax and Bcl2 apoptotic factors in male type 1 diabetic rats.

Material and Methods: In this experimental study, 72 male Wistar rats were injected into diabetic control, diabetic control and diabetic groups treated with hydroalcoholic extract of licorice and glycyrrhizinic acid at concentrations of 50 and 100 mg / kg by injection. The time intervals of 15 and 30 days were divided. Diabetic control and treatment groups became diabetic with a single intraperitoneal injection of 120 mg/kg alloxane monohydrate. At the end of the treatment period, Bax and Bcl2 apoptotic factors were measured. The results were analyzed by SPSS 21 software and one-way analysis of variance and Tukey post hoc test.

Results: Bax apoptotic factor was significantly decreased in the treated groups compared to the diabetic control groups and Bcl2 anti-apoptotic factor was significantly increased ($p < 0.05$) which indicates improvement in the structure of damaged liver tissue in the groups. It is a treatment.

Conclusion: Hydroalcoholic extract of licorice and glycyrrhizic acid is in expressed doses of anti-apoptotic and has a protective effect against liver damage induced by diabetes.

Keywords: Licorice, *Glycyrrhiza glabra*, Alloxan, Bax, Bcl2, Rat.