



## اثر یک دوره تمرین شنا و مکمل لیکورایز بر بیان ژن‌های TLR4 و NF-κB بافت روده موش‌های دیابتی

زهرا محمدپور رودبارکی: دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران  
 پروین فرزانی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران (✉ نویسنده مسئول) [parvin.farzanegi@gmail.com](mailto:parvin.farzanegi@gmail.com)  
 لیلا ضامنی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران  
 فرح نامنی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

تمرین شنا،  
 مکمل شیرین بیان،  
 مسیر سیگنالینگ  
*TLR4/NF-κB*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۱  
 تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۸/۱۳

**زمینه و هدف:** یکی از شایع‌ترین اختلالات متابولیکی در جهان دیابت می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف تبیین اثر تمرین شنا و لیکورایز بر بیان ژن‌های TLR4 و NF-κB بافت روده موش‌های دیابتی انجام شد.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش نر بالغ با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم به طور تصادفی به ۶ گروه کنترل سالم، شم دیابت، دیابت سالین، دیابت + مکمل، دیابت + تمرین، دیابت + تمرین + مکمل تقسیم شدند. ۲۵ سر از موش‌ها با تزریق ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم استریتوزوتوسین به صورت داخل صفاقی دیابتی شدند. گروه‌های تمرین شنا به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته تمرینات مورد نظر را انجام دادند. همچنین روزانه ۵۰۰ میلی گرم عصاره لیکورایز به صورت صفاقی تزریق شد. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین موش‌ها جراحی شده و میزان بیان ژن‌های TLR4 و NF-κB با استفاده از روش Real-Time PCR اندازه گیری شد. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری  $P < 0 / 05$  جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد.

**یافته‌ها:** در گروه دیابتی در مقایسه با گروه سالم میزان بیان ژن‌های TLR4 و NF-κB بیشتر بود (به ترتیب  $p=0/023$ ،  $p=0/012$ )، همچنین بیان ژن NF-κB در گروه‌های تمرین و مکمل در مقایسه با گروه شم به طور معناداری کاهش یافت ( $p=0/011$ ،  $p=0/012$ )، بیان ژن TLR4 در تمام گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شم کاهش یافت؛ اما فقط در گروه ترکیبی معنادار بود ( $p=0/002$ ).

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج تحقیق استفاده از تمرین شنا و مکمل لیکورایز جهت کاهش روند التهابی در افراد دیابتی توصیه می‌شود.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Mohammadpour Roudbaraki Z, Farzangi P, Zamani L, Namani F. The Effect of Swimming Training Period and Licorice Supplementation on Gene Expression of TLR4 and NF-κB in the Intestinal Tissue of Diabetic Rats. Razi J Med Sci. 2025(4 Nov);32.122.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 4.0 صورت گرفته است.



## The Effect of Swimming Training Period and Licorice Supplementation on Gene Expression of TLR4 and NF- $\kappa$ B in the Intestinal Tissue of Diabetic Rats

**Zahra Mohammadpour Roudbaraki:** PhD Candidate, Department of Sport Physiology, Sari branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

**Parvin Farzangi:** Associate Professor, Department of Sport Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran (\*Corresponding Author) [parvin.farzanegi@gmail.com](mailto:parvin.farzanegi@gmail.com)

**Leila Zamani:** Assistant Professor, Department of Sport Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

**Farah Namani:** Assistant Professor, Department of Sport Physiology, Varamin Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

### Abstract

**Background & Aims:** One of the most common metabolic disorders in the world is diabetes, which brings various complications and problems. This disease affects many people every year and is one of the main causes of death in many countries (1). The incidence of type 2 diabetes (T2D), largely driven by the obesity epidemic, is increasing at alarming rates. It was estimated that in 2030, the number of people suffering from this disease will increase to 578 million patients worldwide (2). Diabetes is generally associated with mild chronic inflammation, which activates pro-inflammatory elements and releases inflammatory cytokines through some signaling pathways. In recent decades, chronic low-grade “metabolic” inflammation has been identified as contributing to insulin resistance and progression to T2D. In this way, inflammation is associated with both insulin dysfunction and secretion (3). Gut microbiota plays an important role as an immune modulator in human metabolism. Although this property is vital for human health, it can also have harmful consequences. Based on this, gut microbiota has been determined as a driver of inflammation in obesity and T2D, which are characterized by altered gut microbiota composition (6, 5). TLR4 has been suggested to be involved in beta-cell failure during diet-induced obesity in mice, as HFD-fed TLR4 mice have preserved insulin secretory function, lower inflammatory markers, and no macrophage infiltration of pancreatic islets (10). Thus, TLR4 may be an interesting therapeutic target and an important mediator of insulin resistance, inflammation, and beta-cell failure. On the other hand, the activation of Toll-like receptor 4 (TLR4) is an important process in understanding how diabetes initiates inflammation, and the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway is one of the most important signal transmission pathways in the initiation and development of inflammation (12). TLR4-mediated signaling leads to the activation of nuclear transcription factor kappa B (NF- $\kappa$ B) and the production of pro-inflammatory cytokines (13). In numerous studies, the benefits and anti-inflammatory effects of regular exercise and medicinal herbs have been shown. Regular aerobic exercises reduce the release of pro-inflammatory cytokines and also regulate anti-inflammatory cytokines (17). The main anti-inflammatory effect of exercise may be due to the effects on the activation of the TLR pathway. Exercise training can reduce the circulating levels of TLR ligands that are increased in metabolic diseases. It seems that licorice plant has anti-inflammatory effects due to the presence of effective substances and phenolic and antioxidant compounds (21). The purpose of this research was to investigate the effect of licorice extract and selected swimming exercise on signaling pathway of gene expression of the TLR4/NF- $\kappa$ B in the intestinal tissue of diabetic male rats.

**Methods:** 30 male Wistar rats were randomly divided into 6 healthy controls, diabetic sham, saline diabetic, diabetic + supplement, diabetic + exercise, diabetic + exercise + supplement. To induce diabetes, a single dose of streptozotocin was used as an intraperitoneal injection. 500 mg of licorice extract was injected intraperitoneally to rats. In order to induce diabetes, a single dose of streptozotocin at the rate of 50 mg/kg of body weight was used as an intraperitoneal injection one week before the start of training. Daily, 500 mg of licorice powder prepared with 6 cc of normal saline was diluted and injected intraperitoneally to rats. The main training program included swimming for 8 weeks and 5 sessions per week, which started with 5 minutes of training in the first week and gradually increased the swimming time to 30 minutes at the beginning of the fourth week and continued until the eighth week. 48 hours after the last training session, the studied rats in each group were anesthetized by intraperitoneal injection of a mixture of 10% ketamine at a dose of 50 mg/kg and 2% xylazine at a dose of 10 mg/kg, followed by Intestinal tissue extraction was

### Keywords

Swimming Training,  
Licorice  
Supplementation,  
TLR4/NF- $\kappa$ B Signaling  
Pathway

Received: 02/08/2025

Published: 04/11/2025

performed. The expression levels of TLR4 and NF- $\kappa$ B genes were measured using Real-Time PCR method. After collecting the raw data, in order to check the normality of the data, the Shapiro-Wilk test was used. After determining the normality of data distribution and establishing the assumption of equality of variances, one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used for statistical analysis of data and comparison between groups. All statistical calculations were done using SPSS23 statistical software at a significance level of  $P < 0.05$ .

**Results:** The level of NF- $\kappa$ B and TLR4 gene expression in the sham and saline groups increased significantly compared to the control group ( $p=0.012$ ,  $p=0.023$ , respectively). While the expression of NF- $\kappa$ B gene in the exercise and supplement groups was significantly decreased compared to the sham group ( $p=0.012$ ,  $p=0.011$ , respectively). Also, the level of TLR4 gene expression in the sham and saline groups increased significantly compared to the control group ( $p < 0.001$ ,  $p=0.006$ , respectively). Also, the expression level of TLR4 decreased in the experimental groups compared to the sham group; this decreasing trend was significant only in the combined group ( $p=0.002$ ). However, TLR4 gene expression values in the experimental groups were still at a higher level compared to the control group.

**Conclusion:** The results of the present study also showed that the induction of diabetes caused a significant increase in TLR4 and NF- $\kappa$ B in the patient group (sham and saline) compared to the healthy control group. Also, the results of the present study showed that swimming training caused a decrease in TLR4 and NF- $\kappa$ B gene expression in diabetic rats. In line with the results of the current research, Kaki et al. (2019) investigated the effect of aerobic exercise on the expression of Toll-like receptor 4 gene and inflammatory mediators in diabetic rats. The results showed that aerobic exercise can reduce the expression of TLR4 gene (27). Also, Kawanishi et al showed that sixteen weeks of aerobic exercise decreased TLR4 gene expression in mice fed a high-fat diet (17). Also, in a research, Marta et al investigated the effect of intense interval training on TLR4 gene expression in people with high body mass index. The results showed that 2 weeks of high-intensity interval training caused a significant increase in TLR4 gene expression in monocytes in inactive men, which is not consistent with the results of the present study. The reason for the inconsistency of the present study with Marta et al.'s research can be related to the type and intensity of the exercise as well as the subjects. In the current research, swimming aerobic exercise was used in animal subjects; While in Marta et al.'s research, the effect of high-intensity interval training has been done on human subjects. It has been shown in the research that long-term and regular exercise can produce inflammatory cytokines and also the expression of TLR4 and NF- $\kappa$ B in the surface reduce monocytes. The mechanism involved in reducing the expression of TLR4 and NF- $\kappa$ B as a result of exercise can be related to the role of aerobic activity in increasing the levels of anti-inflammatory cytokines, heat shock proteins and glucocorticoids, which can inhibit TLR4 and NF- $\kappa$ B (28, 29). The phenolic compounds present in the root of licorice plant by regulating the expression of cyclooxygenase, nitric oxide synthase and tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 6 as anti-inflammatory agents may reduce free radicals in the cellular space and reduce the inflammation process (38). Results of present study showed that induction of cancer caused the activation of the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway and increased regulation of factors in the cancer group compared to the healthy control. Also, licorice extract along with endurance exercises caused a decrease in TLR4 and NF- $\kappa$ B gene expression in the experimental groups compared to the cancer group. According to the results of the research, it is possible that the consumption of licorice extract along with endurance training can be effective in reducing the inflammatory process through the negative regulation of the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Mohammadpour Roudbaraki Z, Farzangi P, Zamani L, Namani F. The Effect of Swimming Training Period and Licorice Supplementation on Gene Expression of TLR4 and NF- $\kappa$ B in the Intestinal Tissue of Diabetic Rats. *Razi J Med Sci.* 2025(4 Nov);32.122.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

**\*This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.**

## مقدمه

یکی از شایع‌ترین اختلالات متابولیسمی در جهان دیابت می‌باشد که عوارض و مشکلات مختلفی را به همراه دارد. این بیماری هر ساله افراد بسیار زیادی را درگیر می‌کند و از عوامل اصلی مرگ و میر در بسیاری از کشورها است (۱). دیابت عموماً با یک التهاب مزمن خفیف همراه است که این اثر از طریق برخی مسیرهای سیگنالی موجب فعال شدن عناصر پیش التهابی و ترشح سایتوکاین‌های التهابی می‌شود. در دهه‌های اخیر، التهاب مزمن «متابولیک» با درجه پایین شناسایی شده است که در ایجاد مقاومت به انسولین و پیشرفت به دیابت نوع ۲ نقش دارد. به این ترتیب، التهاب هم با اختلال در عملکرد و هم ترشح انسولین مرتبط است (۳). اجزای رژیم غذایی و عدم فعالیت بدنی عوامل تعیین کننده اصلی مستعد ابتلا به دیابت هستند. رژیم غذایی همچنین عامل مهمی در تعیین ماهیت عناصر تشکیل دهنده میکروبیوم روده است. ترکیب نامناسب میکروبیوم روده و در نتیجه محتوای غیر طبیعی عوامل متابولیک با افزایش چاقی، التهاب مزمن و مقاومت به انسولین مرتبط است و عدم تعادل ترکیب میکروبیوم در حالات پاتولوژیک مانند چاقی و سندرم متابولیک و دیابت شایع است (۴). بر این اساس، میکروبیوتای روده به عنوان محرک التهاب در چاقی و دیابت نوع ۲، که با ترکیب میکروبیوتای روده تغییر یافته مشخص می‌شوند، تعیین شده است (۵) و (۶).

در حالی که مجموعه وسیعی از تحقیقات بینش دقیقی را در مورد تنظیم هموستاز گلوکز توسط مسیرهای التهابی ارائه کرده‌اند، محرک‌های بالادستی این مسیرها برای مدت طولانی ناشناخته مانده‌اند. علاوه بر این، درمان‌های دارویی متعدد با هدف کاهش التهاب در بیماری‌های متابولیک اثرات مثبتی بر تحمل گلوکز در موش و انسان دارد. گیرنده‌های شبه تول (Toll) از اجزای حیاتی سیستم ایمنی ذاتی هستند. وقتی که TLRها به وسیله لیگاندهای مربوط به عامل پاتوژن یا میزبان فعال می‌شوند، سیگنال‌های پایین دست را القاء می‌کنند که منجر به تولید سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها و شروع پاسخ‌های التهابی می‌شود (۷). التهاب حاد برای پاکسازی بافت عفونی،

غیر طبیعی یا آسیب دیده مهم است. این فرآیند باید حل شود تا از آسیب غیر ضروری به بافت سالم جلوگیری شود. معمولاً این وضع در شرایط التهاب مزمن مختل می‌شود (۷). چندین TLR با ایجاد سندرم متابولیک به ویژه TLR4 مرتبط است (۸). مونوسیت‌های افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ بیان بالاتری از TLR4، همراه با سطوح سایتوکاین بالاتر را نشان دادند (۹). جلب توجه است که تزریق انسولین به مدت چند ساعت قادر به سرکوب بیان TLR بر روی مونوسیت‌های افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ شد، که نشان می‌دهد مقاومت به انسولین باعث افزایش بیان TLR (و در نتیجه التهاب) می‌شود. علاوه بر این، پیشنهاد شده است که TLR4 در نارسایی سلول‌های بتا در طول چاقی ناشی از رژیم غذایی در موش‌ها نقش داشته باشد، زیرا موش‌های TLR4 تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (High fat diet) عملکرد ترشح انسولین حفظ شده، نشانگرهای التهابی کمتری دارند و هیچ نفوذ ماکروفاژی در جزایر پانکراس وجود ندارد (۱۰).

علاوه بر این، حذف ترکیبی TLR4 و TLR2 در موش باعث افزایش تکثیر سلول‌های بتا شد، اما سلول‌های آلفا تولیدکننده گلوکاگون را افزایش نداد و تحمل گلوکز را در موش‌های چاق بهبود بخشید (۱۱). بنابراین TLR4 ممکن است یک هدف درمانی جالب و یک واسطه مهم برای مقاومت به انسولین، التهاب و شکست سلول‌های بتا باشد. از طرفی فعال شدن گیرنده شبه تول ۴ (TLR4) یک فرآیند مهم در درک چگونگی شروع التهاب توسط دیابت است و مسیر سیگنالینگ TLR4/NF- $\kappa$ B یکی از مهم‌ترین مسیرهای انتقال سیگنال در شروع و توسعه التهاب است (۱۲). سیگنالینگ با واسطه TLR4 منجر به فعال شدن فاکتور رونویسی هسته ای کاپای بی (NF- $\kappa$ B) و تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌شود (۱۳). ژو و همکاران نشان دادند که سطوح پروتئین‌های TNF- $\alpha$  و IL-1 $\beta$  از سایتوکاین‌های پیش التهابی فرودست مسیر سیگنالینگ TLR4 در نخاع موش‌های دیابتی القاء شده با استرپتوزوتوسین (streptozotocin-STZ) به طور معناداری افزایش می‌یابد و پیشنهاد کردند که TLR4 و مسیر سیگنالینگ آن در مدل‌های دیابتی مرتبط است (۱۴). چن و همکاران نشان دادند که مهار

گیرنده TLR4 سطح TNF- $\alpha$  را در موش‌های نوروپاتی دیابتی کاهش می‌دهد. بنابراین امکان دارد که یکی از راهکارهای مقابله با شرایط بیماری دیابت، مهار TLR4 به عنوان گیرنده القاء میانجی‌های التهابی باشد (۱۵). در مطالعات متعدد فواید و تاثیرات ضدالتهابی تمرینات ورزشی منظم نشان داده شده است. تمرینات هوازی منظم سبب کاهش ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی و همچنین تنظیم سایتوکاین‌های ضدالتهابی می‌شود (۱۷). لی و همکاران در پژوهشی عنوان داشتند که هشت هفته تمرین هوازی مسیر سیگنال دهی TLR4/MyD88/NF-kB و بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی، اختلال عملکرد سد مخاطی روده را در موش‌های دیابتی بهبود بخشید (۴۲). از طرفی دیگر محققان در پژوهشی بیان داشتند که تمرینات با شدت بالا می‌تواند سبب کاهش محتوا و فعالیت NF-kB در موش‌های صحرایی شود (۴۶). البته شایان ذکر است که شدت، مدت زمان و نوع تمرین نقش مهمی در میزان مزایای به دست آمده در این خصوص دارد، چرا که مطالعات گوناگون نتایج متفاوتی را گزارش نموده اند (۴۵). تاثیر اصلی ضد التهاب ورزش ممکن است به دلیل تاثیرات روی فعال سازی مسیر TLR باشد. تمرینات ورزشی می‌تواند سطوح در گردش لیگاند‌های TLR که در بیماری‌های متابولیک افزایش پیدا می‌کند، را کاهش دهد. فعالیت ورزشی، همچنین می‌تواند بیان و فعال سازی TLR4 را در بافت‌های مختلف و انواع سلول‌ها کاهش دهد (۱۸). چایلد و همکاران در تحقیقی به بررسی تاثیر تمرینات تناوبی با شدت بالا بر بیان TLR4 در افراد یا شاخص توده بدنی بالا پرداختند. نتایج تحقیق نشان داد که انجام تمرینات با شدت بالا به مدت ۲ هفته موجب افزایش معنادار بیان TLR4 در مونسیت‌های کلاسیک و پیش التهابی در مردان غیرفعال شده است (۱۹).

گیاه شیرین بیان گیاهی چند ساله از خانواده بقولات است که به واسطه داشتن ترکیبات دارویی و غذایی مهم در صنایع دارویی مورد توجه قرار گرفته است. به نظر می‌رسد گیاه شیرین بیان به علت حضور گلابرون (نوعی آنتی اکسیدان است) موجب مهار آنزیم

سیکلوآکسیژناز شده که خود این آنزیم موجب مهار اسیدآراشیدونیک و عدم تبدیل آن به هیستامین، سروتونین و پروستاگلاندین می‌گردد و با عدم تولید ترکیبات ذکر شده التهاب القا شده در پای حیوان، کاهش معنادار پیدا می‌کند (۲۰). فلاونوئیدها موجود در گیاه شیرین بیان به علت حضور ترکیبات فنولیک دارای خاصیت ضد سرطانی، ضد تشنج، ضد اسپاسم و ضد التهاب می‌باشند (۲۱). ژانگ و همکاران عنوان داشتند که عصاره شیرین بیان، افزایش قند خون را از طریق تغییر شکل ساختار میکروبیوتای روده و مهار مسیر سیگنالینگ TLR4/NF-kB در موش‌های دیابتی نوع ۲ بهبود می‌بخشد (۴۱). بررسی اثر آنتی اکسیدانی گلابریدین که موجب کاهش التهاب با مهار اثر برادی کینین و پروستاگلاندین شده و موجب کاهش تورم و قرمزی پوست می‌گردد. به نظر می‌رسد گیاه شیرین بیان به علت دارا بودن چنین آنتی اکسیدانی اثرات مشابه با آن را ایفا می‌کند (۲۱). با توجه به اینکه گزارشی در خصوص تاثیر همزمان عصاره گیاه شیرین بیان و تمرینات شنا بر مسیر سیگنالی مرتبط با التهاب در بیماران دیابتی ارائه نشده است و از طرفی عوامل غیر دارویی و استفاده از فعالیت و داروهای گیاهی می‌تواند از طریق تعدیل عوامل التهابی در بیماری دیابت، به عنوان ابزار درمانی مطرح شود. لذا، تحقیق حاضر به دنبال پاسخ به این سوال است که عصاره لیکورایز و تمرین منتخب شنا بر بیان ژن مسیر سیگنالی TLR4/NF-kB در بافت روده موش‌های صحرایی نر دیابتی چه تاثیری دارد؟

### روش کار

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با دامنه وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم که از محل تکثیر و پرورش دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله خریداری شدند، تشکیل می‌دادند که ۳۰ سر به طور تصادفی به ۶ گروه ۵ تایی شامل گروه کنترل سالم، شش دیابتی، دیابتی سالین، دیابتی + مکمل، دیابتی + تمرین، دیابتی + تمرین + مکمل تقسیم شدند. حیوانات در آزمایشگاه با درجه حرارت ۲۳-۲۰ درجه سانتی

گردد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعت و در رطوبت نسبی ۵۰ درصد با آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. پروتکل های آزمایشی تحقیق حاضر توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد ساری (کد اخلاق: IR.IAU.SARI.REC.1401.236) تایید شد.

جهت القای دیابت یک هفته قبل از شروع تمرین، از تک دوز استرپتوزوتوسین به میزان ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن و به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شد (۲۲). ۴۸ ساعت بعد از تزریق جهت اطمینان از ایجاد دیابت در موش های ویستار، از ورید دمی خون گرفته شد و میزان قند خون توسط دستگاه گلوکومتر تعیین شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی گرم / دسی لیتر به عنوان شاخص ابتلا به دیابت در نظر گرفته شد. در پژوهش حاضر جهت اطمینان به صورت دو هفته یک بار مقدار قند خون کنترل می شد (۲۳).

جهت تهیه عصاره لیکورایز ابتدا ریشه گیاه شیرین بیان از مرکز جهاد کشاورزی شهرستان مرودشت که مورد تایید این مرکز و اصالت آن تایید شده باشد، تهیه شد. در ادامه مقدار ۱۰۰ گرم از پودر تهیه شده با ۲۰۰ میلی لیتر متانول ترکیب شد و به مدت ۴ روز در اتاق با دمای معمولی نگهداری شد. سپس برای عصاره گیری محلول صاف شده متانول + لیکورایز (شیرین بیان) با استفاده از دستگاه تقطیر در تانک خلاء استفاده شد تا به غلظت مناسب برسد. در ادامه این دارو با استفاده از روتاری در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد خشک شده و به پودر تبدیل شد. سپس برای آماده سازی و تزریق روزانه ۵۰۰ میلی گرم از پودر تهیه شده با ۶ میلی لیتر نرمال سالین رقیق شد و به صورت صفاقی به موش های صحرایی تزریق شد (۴۳). قبل از شروع پروتکل اصلی، به منظور آشنایی موش ها با آب، حیوانات پنج روز و به مدت پنج دقیقه در هر روز، تمرین داده شد. برنامه تمرینی اصلی شامل شنا کردن در تانکر ویژه جوندگان مخزن آب ویژه شنا به ابعاد ۷۰\*۹۰ به ۱۵۰ سانتی متر از جنس پلاستیک به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته بود که در هفته اول با ۵ دقیقه تمرین شروع شد و با افزایش تدریجی زمان شنا به ۳۰ دقیقه در ابتدای هفته چهارم رسید و

تا هفته هشتم ادامه یافت. پروتکل تمرینی شنا در ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح اجرا شد و پس از اتمام تمرینات شنا در هر جلسه، حیوانات پس از قرار گرفتن در معرض جریان هوای گرم هیتر مخصوص جوندگان با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد خشک شد.

تحقیق حاضر با رعایت قوانین بین المللی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (پس از یک شب ناشتایی حدود ۱۰ تا ۱۲ ساعت)، موش های مورد مطالعه در هر گروه به واسطه تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۲ درصد و با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند و به دنبال آن استخراج بافت روده انجام گرفت. در ادامه بافت موش ها، توسط متخصصین کارآموزده، نمونه برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب های ۱/۸ حاوی مایع RNA Stabilization reagent (50) RNAlater™ (با نسبت ۲۰ درصد غوطه ور گردید و جهت انجام آزمایش های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. به منظور استخراج RNA، ۵۰ میلی گرم از بافت با اضافه کردن ۱ میلی لیتر معرف RNX Plus (سینا ژن، ایران) هموزن گردید. سپس مراحل مختلف طبق دستورالعمل کیت استخراج RNA تا مرحله نهایی و تهیه RNA خالص انجام شد. محلول RNA استخراج شده با آنزیم DNase 1 از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم های تخریب کننده RNA پاکسازی شد. به منظور سنتز cDNA، ۵ میکروگرم از RNA استخراج شده با استفاده از دستورالعمل کیت First standard cDNA synthesis (تاکارا، ژاپن) و به پرایمرهای Oligo-dT به cDNA تبدیل گردید. ۴۰ سیکل برای هر چرخه PCR Time-Real در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نسبت بیان ژن های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قرار دادن داده ها

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده متغیرهای مورد مطالعه

Genes		Primer sequence	Product size
TLR4	Forward	TATCGGTGGTCAGTGTGCTT	127 bp
	Reverse	CTCGTTTCTCACCCAGTCCT	
NF-κB	Forward	CGCCAAAATGGAAACGCAGA	174 bp
	Reverse	TGCTTCCATCTCGGCAACT	
GAPDH	Forward	CAAGTTCAAGGGCACAGTC A	104 bp
	Reverse	CCCCATTTGATGTTAGCGGG	

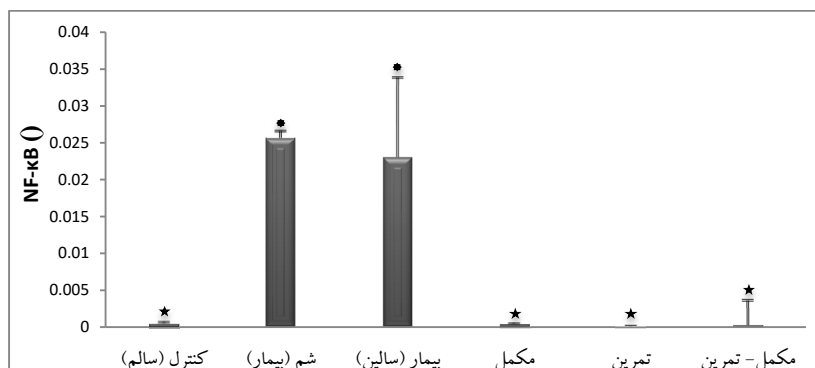
تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS23 در سطح معناداری  $P < 0/05$  صورت گرفت.

### یافته‌ها

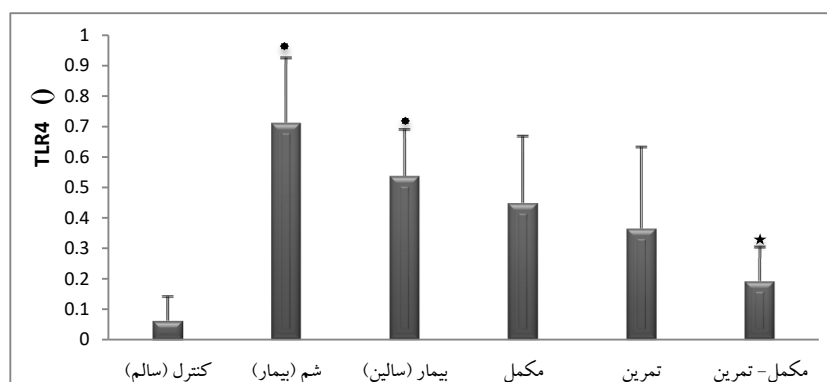
همان طور که در نمودار ۱ و ۲ مشاهده می‌شود سطح بیان ژن NF-κB و TLR4 در گروه شم و سالیین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری یافت (به

در  $R = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$  میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و در نظر گرفته شد. ضمن اینکه از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. واکنش PCR با توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ذکر شده است.

پس از جمع‌آوری داده‌های خام، به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک و برای بررسی فرض برابری واریانس‌ها، از آزمون لون استفاده شد. پس از مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده‌ها و برقراری فرض برابری واریانس‌ها، به منظور تجزیه و



نمودار ۱- میانگین و انحراف معیار بیان ژن NF-κB در گروه‌های مختلف تحقیق؛ تفاوت با گروه کنترل سالم، تفاوت با گروه شم (بیمار)



نمودار ۲- میانگین و انحراف معیار بیان ژن TLR4 در گروه‌های مختلف تحقیق؛ تفاوت با گروه کنترل سالم، تفاوت با گروه شم (بیمار) ( $p=0/05$ )

**جدول ۲-** تاثیر شش هفته عصاره لیکورایز و تمرین شنا بر پروفایل لیپیدی موش های دیابتی

گروه	کلسترول تام (میلی گرم بر دسی لیتر)	تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	لیپوپروتئین با چگالی کم (میلی گرم بر دسی لیتر)	لیپوپروتئین با چگالی کم (میلی گرم بر دسی لیتر)
کنترل	۸۶/۲۸±۵/۹۸	۱۲۳/۱±۱۰/۷۶	۳۴/۲۲±۵/۹۹	۵۰/۱۶±۴/۶۷
دیابتی (شم)	۱۹۴/۲۸±۵/۲۱	۲۵۵/۱۸±۱۸/۳۶	۱۰۲/۸۶±۸/۰۴	۳۱/۷۴±۳/۲۸
دیابتی (سالین)	۱۹۳/۰۲±۶/۲۸	۲۶۳/۱۸±۵/۳۷	۱۰۴/۸۴±۸/۳	۳۳/۰۶±۲/۴
عصاره	۱۳۶/۱۲±۵/۸۱	۲۰۰/۶±۷/۷۹	۶۶/۵۴±۷/۶۳	۴۲/۱۶±۱/۹۶
تمرین	۱۲۰/۲۶±۶/۴۹	۱۸۰/۴۲±۹/۷۴	۵۳/۹۸±۶/۳۲	۴۳/۸±۳/۶۷
تمرین+عصاره	۱۰۵/۲۶±۶/۰۱	۱۵۳/۲۲±۵/۹	۴۵/۹۴±۴/۵۴	۴۶/۶±۴/۰۷

لوزالمعده شده و افزایش قند، کاهش سطح انسولین و همچنین هایپرلیپیدمی مزمن را به همراه دارد. این عوامل منجر به آزاد شدن گونه های فعال اکسیژن، افزایش سطح P38MAPK و فسفوریله شدن پروتئین کیناز C و همچنین فعال شدن فاکتور NF-κB می شوند که در نتیجه فعال شدن این عوامل تجمع اضافی عوامل التهابی را به همراه دارد (۲۴).

تحقیقات نشان می دهند که یکی از اعضای خانواده گیرنده های شبه تول به نام TLR4 در نتیجه افزایش قند خون بیان می شود. TLR4 به عنوان واسطه واکنش های التهابی، نقش بسیار مهمی در پاتوژنز دیابت دارد (۲۴). چن و همکاران از مهار کننده TAK-242 برای مسدود کردن مسیر پیام رسانی TLR4 استفاده کردند. همچنین می زوا و همکاران از دولوکستین برای مهار پیام رسانی TLR4 از طریق مسیر وابسته به پروتئین تطبیق دهنده MyD88 به عنوان راهکاری جهت کاهش التهاب استفاده کردند. نتایج این دو تحقیق حاکی از آن بود که سایتوکاین های پیش التهابی نظیر TNF-α و IL-1β در موش های دیابتی شده با STZ کاهش یافته بود. براساس نتایج تحقیقات یاد شده شاید بتوان گفت که مهار TLR4 به عنوان میانجی پاسخ التهابی و آسیب بافتی بتواند به عنوان یکی از اهداف درمانی در دیابت باشد (۱۵و۲۵).

بسیاری از تحقیقات اذعان داشتند که فعالیت های ورزشی منظم احتمال دارد به عنوان راهکار درمانی غیردارویی مناسب در جهت کاهش عوامل التهابی موثر باشد (۲۶). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین

ترتیب ۰/۱۲، p=۰/۰۲۳؛ در حالی که بیان ژن NF-κB در گروه های تمرین و مکمل در مقایسه با گروه شام به طور معناداری کاهش یافت (به ترتیب ۰/۱۲، p=۰/۰۱۱). همچنین سطح بیان ژن TLR4 در گروه شام و سالین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری یافت (به ترتیب ۰/۰۰۱، p<۰/۰۰۶). سطح بیان TLR4 در گروه های تجربی در مقایسه با گروه شام کاهش یافت، که این روند کاهش فقط در گروه ترکیبی معنادار بود (۰/۰۰۲، p=۰/۰۰۲). با این وجود مقادیر بیان ژن TLR4 در گروه های تجربی در مقایسه با گروه شاهد هنوز در سطح بالاتری قرار داشت.

در تحقیق حاضر القای دیابت موجب روند منفی در پروفایل لیپیدی شد. نتایج نشان داد که دیابت موجب افزایش سطوح کلسترول تام، تری گلیسرید و لیپوپروتئین با چگالی کم و همچنین کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالا در شام و سالین شد. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین هوازی و مصرف عصاره شیرین بیان موجب روند مثبت در پروفایل لیپیدی شد.

### بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که القای دیابت موجب افزایش معنادار TLR4 و NF-κB در گروه بیمار (شام و سالین) در مقایسه با گروه کنترل سالم شد. در برخی تحقیقات به بررسی تاثیر راهکارهای دارویی برای کنترل و اثبات نقش TLR4 در شرایط پاتولوژیکی دیابت پرداختند. نتایج مطالعات مختلف حاکی از آن است که القای دیابت منجر به مرگ سلول های بتای

آمده است که غلظت سایتوکاین‌های ضد التهابی در گردش خون بعد از فعالیت افزایش می‌یابد (۳۰). احتمال دارد که یکی از عوامل مهم در مهار و کاهش بیان TLR4، افزایش احتمالی بیان سایتوکاین‌های ضدالتهابی ناشی از تمرین باشد.

از طرفی دیگر افزایش هورمون‌های استرسی نظیر گلوکوکورتیکوئیدها ناشی از تمرین می‌توانند نقش مهمی در تعدیل و تنظیم سیستم ایمنی داشته باشد (۳۱). احتمال دارد در نتیجه فعالیت‌های ورزشی سطوح گلوکوکورتیکوئیدها روند افزایشی داشته باشد و از طریق مهار P38MAPK سطوح عوامل التهابی را کاهش دهد. همچنین کاهش سطوح پروتئین‌های شوک گرمایی که همراه با بیماری دیابت ایجاد می‌شود یکی دیگر از عوامل موثر افزایش سایتوکاین‌های پیش التهابی باشد (۳۲). چن و همکاران نشان دادند که فعالیت‌های هوازی موجب افزایش سطح HSP70 شده که مهار فعال سازی P38MAPK که محرک عوامل التهابی است، را به همراه دارد (۳۳). TLR4 از طریق فعال شدن به واسطه لیگاند‌های درونی و بیرونی، مانند اسیدهای چرب رژیم غذایی و اسیدهای چرب آزاد، در ایجاد التهاب مزمن نقش دارد. TLR4 ممکن است از طریق فعال کردن NF-κB پاسخ‌های التهابی را افزایش دهد. همچنین هایپرلیپیدمی که به همراه دیابت اتفاق می‌افتد، احتمال دارد از طریق فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ التهابی با واسطه NF-κB، تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی را در پی داشته باشد.

NF-κB به عنوان اولین فاکتور رونویسی جهت تنظیم مسیر تولید سایتوکاین در زمان التهاب شناخته شده است (۱۳). در تحقیق حاضر القای دیابت موجب روند منفی در پروفایل لیپیدی شد. نتایج نشان داد که دیابت موجب افزایش سطوح کلسترول تام، تری گلیسرید و لیپوپروتئین با چگالی کم و همچنین کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالا در شم و سالین شد. این احتمال وجود دارد هایپرلیپیدمی که به واسطه دیابت اتفاق می‌افتد، موجب افزایش بیان TLR4 و NF-κB در گروه‌های دیابتی باشد و منجر به روند

شنا موجب روند کاهش در بیان ژن TLR4 و NF-κB در موش‌های دیابتی شد. همسو با نتایج تحقیق حاضر، کاکي و همکاران در پژوهشی به بررسی تاثیر تمرین هوازی بر بیان ژن گیرنده شبه تول ۴ و میانجی‌های التهابی در موش‌های صحرایی دیابتی پرداختند. نتایج نشان داد که تمرین هوازی می‌تولند میزان بیان ژن TLR4 را کاهش دهد (۲۷). همچنین کوانیشی و همکاران نشان دادند شانزده هفته تمرین هوازی موجب کاهش بیان ژن TLR4 در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب شد (۱۷). همچنین مارتا و همکاران در پژوهشی به بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن TLR4 در افراد با شاخص توده بدنی بالا پرداختند. نتایج نشان داد که ۲ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا موجب افزایش معنادار بیان ژن TLR4 در مونوسیت‌ها در مردان غیرفعال شده است که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی ندارد. علت ناهمسانی مطالعه حاضر با تحقیق مارتا و همکاران می‌تولند به نوع و شدت تمرین و همچنین آزمودنی‌ها مربوط باشد. در تحقیق حاضر از تمرین هوازی شنا در آزمودنی‌های حیوانی استفاده شده است؛ در حالی که در تحقیق مارتا و همکاران تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا در آزمودنی‌های انسانی صورت گرفته است.

در تحقیقات نشان داده شده است که تمرینات ورزشی بلندمدت و منظم می‌تواند تولید سایتوکاین‌های التهابی و همچنین بیان TLR4 و NF-κB در سطح مونوسیت‌ها را کاهش دهد. مکانیسم درگیر در کاهش بیان TLR4 و NF-κB در نتیجه انجام تمرینات می‌تواند به نقش فعالیت هوازی در افزایش سطوح سایتوکاین‌های ضدالتهابی، پروتئین‌های شوک گرمایی و گلوکوکورتیکوئیدها مربوط باشد که این عوامل می‌توانند موجب مهار TLR4 و NF-κB شوند (۲۸ و ۲۹). هر چند در تحقیق حاضر سطوح سایتوکاین‌های پیش التهابی اندازه‌گیری نشد؛ ولی کاهش بیان ژن TLR4 و NF-κB در گروه‌های تمرینی احتمال دارد موجب کاهش سطوح عوامل التهابی شود. TLR4 به عنوان عامل محرک سایتوکاین‌های التهابی شناخته شده است (۲۸). در بررسی مطالعات مختلف

التهاب می شود. ترکیبات فنولی موجود در ریشه گیاه لیکورایز با تنظیم بیان سیکلواکسیژناز، نیتریک اکساید سنتاز و فاکتور نکروز تومور ( $\text{TNF-}\alpha$ ) و اینترلوکین ۶ به عنوان عوامل ضدالتهابی موجب کاهش رادیکال آزاد در فضای سلولی و کاهش روند التهاب می گردد (۳۸). همچنین لیکوفلانون یک فلاونوئید است که با اثر بر روی NF- $\kappa$ B و فسفوریلاسیون MAP کیناز موجب کاهش التهاب می گردد. این ماده با اثر بر روی آنزیم سیکلواکسیژناز از تبدیل اسید آراشیدونیک به پروستاگلاندین E2 و اینترلوکین C4 و ترومبوکسان B2 جلوگیری کرده و موجب کاهش روند التهاب می گردد (۳۹).

لیکورایز با داشتن ترکیبات ضد التهابی مثل آتوکسی گلیسریریک، اسید لاکتیک، ساپونین G ۲ بر روی مسیر سیگنالینگ MAP کیناز اثر گذاشته و پس از فسفوریله کردن آن موجب مهار فاکتور هسته ای کاپا NF- $\kappa$ B که طی آن با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز از تبدیل اسید آراشیدونیک به پیش ساز پروستاگلاندین جلوگیری کرده و به عنوان یک آنتی اکسیدان از تشکیل رادیکال آزاد و افزایش آسیب سلولی می کاهد و از سطح التهاب می کاهد (۴۰).

### نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که القای دیابت موجب فعال شدن مسیر سیگنالی TLR4/NF- $\kappa$ B و تنظیم افزایشی فاکتورها در گروه دیابت در مقایسه با کنترل سالم شد. همچنین عصاره لیکورایز همراه با تمرینات استقامتی موجب ایجاد روند کاهش در بیان ژن TLR4 و NF- $\kappa$ B در گروه های تجربی در مقایسه با گروه دیابتی شد.

با توجه به نتایج تحقیق، احتمال دارد مصرف عصاره لیکورایز همراه با تمرینات استقامتی بتواند از طریق تنظیم منفی مسیر سیگنالی TLR4/NF- $\kappa$ B در کاهش روند التهابی تاثیرگذار باشد. عصاره لیکورایز همراه با تمرینات استقامتی شنا توانست پروفایل لیپیدی را بهبود بخشد و موجب تنظیم کاهشی TLR4/NF- $\kappa$ B در موش های صحرایی مبتلا به دیابت شد. می توان

التهاب شود (۱۳). همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین هوازی و مصرف عصاره شیرین بیان موجب روند مثبت در پروفایل لیپیدی شد. افزایش مصرف انرژی از طریق فعالیت بدنی منظم موجب بهبود در نیمرخ لیپیدی می شود. فعالیت سبب کاهش پروتئین استیل کوآ کربوکسیلاز (Acetyl-ACC CoA carboxylase) می شود که احتمال دارد از طریق کاهش مالونیل کوآ، موجب گرایش اسیدهای چرب به سمت اکسیداسیون شده و سوبسترای مورد نیاز برای آنزیم اسید چرب سنتاز جهت تولید و سنتز اسیدهای چرب در دسترس نباشد (۳۴). فعال شدن AMPK از طریق تنظیم متابولیسم انرژی می تواند با غیرفعال کردن ACC و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب مانع سنتز لیپید شود (۳۵).

در تحقیق حاضر سطوح NF- $\kappa$ B در گروه عصاره و ترکیبی روند کاهشی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی نشان داد که فقط در گروه ترکیبی به سطح معناداری رسید. بسیاری از گیاهان به دلیل فواید دارویی مختلف در طول قرن ها به عنوان دارو مورد استفاده قرار می گیرند. این گیاهان به دلیل اینکه منبع غنی از چندین ترکیب زیست فعال هستند، دارای خواص عملکردی بسیاری هستند (۳۶). گیاه لیکورایز دارای ترکیبات گلیسریرین، لیکوریسیدین، ساپونین، گلیسریریک اسید، آتوکسی گلیسریریک، اسید لاکتیک و لکوریتی است. تحقیقات زیادی بر روی این ترکیبات صورت گرفته و مشخص شده که ماده فنولی به نام گلیسریرین که از ترکیبات اصلی گیاه لیکورایز می باشد، بر روی التهاب در موش های صحرایی اثر مثبت داشته و موجب درمان نسبی آن گردیده است. این امر از تغییر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه مذکور صورت گرفته است که از طریق مهار پروتئین کیناز C و فسفولیپاز A و فسفودی استراز و نیز عوامل التهابی دیگر مثل پروستاگلاندین و هیستامین می شود که خود این عوامل موجب افزایش کلسیم و رادیکال آزاد می گردد (۳۷). گلیسریرین طی فرآیندی به اسید آراشیدونیک تبدیل شده و آنزیم سیکلواکسیژناز موجب تبدیل آن به پیش ساز پروستاگلاندین و این عوامل موجب

associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017;9(6):7204-18.

8. Jialal I, Kaur H, Devaraj S. Toll-like receptor status in obesity and metabolic syndrome: a translational perspective. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(1):39-48.

9. Dasu MR, Devaraj S, Park S, Jialal I. Increased toll-like receptor (TLR) activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2010;33(4):861-8.

10. Li J, Chen L, Zhang Y, Zhang WJ, Xu W, Qin Y, et al. TLR4 is required for the obesity-induced pancreatic beta cell dysfunction. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2013;45(12):1030-8.

11. Ji Y, Sun S, Shrestha N, Darragh LB, Shirakawa J, Xing Y, et al. Toll-like receptors TLR2 and TLR4 block the replication of pancreatic beta cells in diet-induced obesity. *Nat Immunol*. 2019;20(6):677-86.

12. Liang Y, Zhou Y, Shen P. NF-kappaB and its regulation on the immune system. *Cell Mol Immunol*. 2004;1(5):343-50.

13. Shirvani H, Mirnejad R, Soleimani M, Arabzadeh E. Swimming exercise improves gene expression of PPAR-gamma and downregulates the overexpression of TLR4, MyD88, IL-6, and TNF-alpha after high-fat diet in rat skeletal muscle cells. *Gene*. 2021;775:145441.

14. Zhu T, Meng Q, Ji J, Lou X, Zhang L. Toll-like receptor 4 and tumor necrosis factor-alpha as diagnostic biomarkers for diabetic peripheral neuropathy. *Neurosci Lett*. 2015;585:28-32.

15. Chen T, Li H, Yin Y, Zhang Y, Liu Z, Liu H. Interactions of Notch1 and TLR4 signaling pathways in DRG neurons of in vivo and in vitro models of diabetic neuropathy. *Sci Rep*. 2017;7(1):14923.

16. Jurga AM, Rojewska E, Piotrowska A, Makuch W, Pilat D, Przewlocka B, et al. Blockade of toll-like receptors (TLR2, TLR4) attenuates pain and potentiates buprenorphine analgesia in a rat neuropathic pain model. *Neural Plast*. 2016;2016:5238730.

17. Kawanishi N, Yano H, Yokogawa Y, Suzuki K. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. *Exerc Immunol Rev*. 2010;16:105-18.

18. Fernandez-Gonzalo R, De Paz JA, Rodriguez-Miguel P, Cuevas MJ, Gonzalez-Gallego J. TLR4-mediated blunting of inflammatory responses to eccentric exercise in young women. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:479395.

19. Child M, Leggate M, Gleeson M. Effects of two weeks of high-intensity interval training (HIIT) on monocyte TLR2 and TLR4 expression in high BMI

اظهار داشت که استفاده همزمان از عصاره و تمرین می تواند بخشی از برنامه کنترل پزشکی مبتلایان به دیابت نوع ۲ به عنوان راهکار غیردارویی امیدوارکننده باشد.

### ملاحظات اخلاقی

پروتکل‌های آزمایشی تحقیق حاضر توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد ساری (کد اخلاق: IR.IAU.SARI.REC.1401.236) تایید شد.

### مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در طراحی مطالعه، بررسی منابع، تجزیه، تحلیل و تفسیر داده‌ها، نگارش مقاله و ویرایش آن مشارکت داشته و نسخه نهایی را تأیید نموده‌اند.

### References

1. Yang G, Wei J, Liu P, Zhang Q, Tian Y, Hou G, et al. Role of the gut microbiota in type 2 diabetes and related diseases. *Metabolism*. 2021;117:154712.
2. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019;157:107843.
3. Michalovich D, Rodriguez-Perez N, Smolinska S, Pirozynski M, Mayhew D, Uddin S, et al. Obesity and disease severity magnify disturbed microbiome-immune interactions in asthma patients. *Nat Commun*. 2019;10(1):5711.
4. Ortega MA, Fraile-Martinez O, Naya I, Garcia-Honduvilla N, Alvarez-Mon M, Bujan J, et al. Type 2 diabetes mellitus associated with obesity (diabesity). The central role of gut microbiota and its translational applications. *Nutrients*. 2020;12(9):2749.
5. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500(7464):541-6.
6. Zhou W, Sailani MR, Contrepolis K, Zhou Y, Ahadi S, Leopold SR, et al. Longitudinal multi-omics of host-microbe dynamics in prediabetes. *Nature*. 2019;569(7758):663-71.
7. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-

sedentary men. *Int J Exerc Sci.* 2013;6(1):81-90.

20. Bernardi A, Zilberstein AC, Jager E, Campos MM, Morrone FB, Calixto JB, et al. Effects of indomethacin-loaded nanocapsules in experimental models of inflammation in rats. *Br J Pharmacol.* 2009;158(4):1104-11.

21. Gunawardena D, Karunaweera N, Lee S, van der Kooy F, Harman DG, Raju R, et al. Anti-inflammatory activity of cinnamon (*C. zeylanicum* and *C. cassia*) extracts - identification of E-cinnamaldehyde and o-methoxy cinnamaldehyde as the most potent bioactive compounds. *Food Funct.* 2015;6(3):910-9.

22. Rajasekar R, Manokaran K, Rajasekaran N, Duraisamy G, Kanakasabapathi D. Effect of *Alpinia calcarata* on glucose uptake in diabetic rats-an in vitro and in vivo model. *J Diabetes Metab Disord.* 2014;13(1):33.

23. Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *Methods Mol Med.* 2004;99:55-65.

24. Lee JY, Choi HY, Park CS, Pyo MK, Yune TY, Kim GW, et al. GS-KG9 ameliorates diabetic neuropathic pain induced by streptozotocin in rats. *J Ginseng Res.* 2019;43(1):58-67.

25. Zhou DM, Zhuang Y, Chen WJ, Li W, Miao B. Effects of duloxetine on the Toll-like receptor 4 signaling pathway in spinal dorsal horn in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Pain Med.* 2018;19(3):580-8.

26. Thakur V, Gonzalez M, Pennington K, Nargis S, Chattopadhyay M. Effect of exercise on neurogenic inflammation in spinal cord of type 1 diabetic rats. *Brain Res.* 2016;1642:87-94.

27. Habibi A, Taheri A, Habibi S. Attenuation of some inflammatory markers by endurance training in the spinal cord of rats with diabetic neuropathic pain. *Contrast Media Mol Imaging.* 2022;2022:6551358.

28. Gleeson M, McFarlin B, Flynn M. Exercise and Toll-like receptors. *Exerc Immunol Rev.* 2006;12:34-53.

29. Cavalcante PAM, Gregnani MF, Henrique JS, Ornellas FH, Araujo RC. Aerobic but not resistance exercise can induce inflammatory pathways via Toll-like 2 and 4: a systematic review. *Sports Med Open.* 2017;3(1):42.

30. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2005;98(4):1154-62.

31. Pedersen BK, Bruunsgaard H, Klokke M, Kappel M, MacLean DA, Nielsen HB, et al. Exercise-induced immunomodulation - possible roles of neuroendocrine and metabolic factors. *Int J Sports Med.* 1997;18 Suppl 1:S2-7.

32. Padmalayam I. The heat shock response: its role in pathogenesis of type 2 diabetes and its complications, and implications for therapeutic intervention. *Discov Med.* 2014;18(97):29-39.

33. Chen YW, Hsieh PL, Chen YC, Hung CH, Cheng JT. Physical exercise induces excess hsp72 expression and delays the development of hyperalgesia and allodynia in painful diabetic neuropathy rats. *Anesth Analg.* 2013;116(2):482-90.

34. Rector RS, Thyfault JP, Morris RT, Laye MJ, Borengasser SJ, Booth FW, et al. Daily exercise increases hepatic fatty acid oxidation and prevents steatosis in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008;294(3):G619-26.

35. Yin W, Mu J, Birnbaum MJ. Role of AMP-activated protein kinase in cyclic AMP-dependent lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem.* 2003;278(44):43074-80.

36. Dogan SC, Baylan M, Erdogan Z, Kucukgul A, Bulancak A. The effects of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) root on performance, some serum parameters and antioxidant capacity of laying hens. *Braz J Poult Sci.* 2018;20(4):699-706.

37. Memariani Z, Hajimahmoodi M, Minaee B, Khodagholi F, Yans A, Rahimi R, et al. Protective effect of a polyherbal traditional formula consisting of *Rosa damascena* Mill., *Glycyrrhiza glabra* L. and *Nardostachys jatamansi* DC. against ethanol-induced gastric ulcer. *Iran J Pharm Res.* 2017;16(2):694-707.

38. Franceschelli S, Pesce M, Vinciguerra I, Ferrone A, Riccioni G, Patruno A, et al. Licocalchone-C extracted from *Glycyrrhiza glabra* inhibits lipopolysaccharide-interferon-gamma inflammation by improving antioxidant conditions and regulating inducible nitric oxide synthase expression. *Molecules.* 2011;16(7):5720-34.

39. Yang Y, Wang S, Bao YR, Li TJ, Yang GL, Chang X, et al. Anti-ulcer effect and potential mechanism of licoflavone by regulating inflammation mediators and amino acid metabolism. *J Ethnopharmacol.* 2017;199:175-82.

40. Tao J, Nie Y, Hou Y, Ma X, Ding G, Gao J, et al. Chemomics-integrated proteomics analysis of Jie-Geng-Tang to ameliorate lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2016;2016:7379146.

41. Zhang Y, Xu Y, Zhang L, Chen Y, Wu T, Liu R, et al. Licorice extract ameliorates hyperglycemia through reshaping gut microbiota structure and inhibiting TLR4/NF-kappaB signaling pathway in type 2 diabetic mice. *Food Res Int.* 2022;153:110945.

42. Li J, Liu X, Wu Y, Ji W, Tian Q, Li S. Aerobic exercise improves intestinal mucosal barrier dysfunction through TLR4/MyD88/NF-kappaB signaling pathway in diabetic rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022;634:75-82.

43. Eidi A, Nateghi Z, Mortazavi P, Zarringhalam Moghadam J. Effects of ethanol extracts in licorice root (*Glycyrrhiza glabra* L.) on activity of liver enzymes in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Iran South Med J.* 2016;19(4):526-35. [Persian].

44. Khademi Y, Azarbayjani M, Hosseini H. Simultaneous effect of high-intensity interval training (HIIT) and consumption of flaxseed on serum levels of TNF-alpha and IL1beta in rats. Intern Med Today. 2017;23(4):257-63. [Persian].

45. Khakdan S, Delfan M, Heydarpour Meymeh M, Kazerouni F, Ghaedi H, Shanaki M, et al. High-intensity interval training (HIIT) effectively enhances heart function via miR-195 dependent cardiomyopathy reduction in high-fat high-fructose diet-induced diabetic rats. Arch Physiol Biochem. 2020;126(3):250-7.