

تأثیر تمرین استقامتی و مکمل پروبیوتیک در بیان ژن MMP ۹ در بافت کبدی موش مبتلا به استئاتوزیس

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۸

خلاصه

مقدمه

بیماری کبد چرب مهم‌ترین دلیل برای بیماری‌های مزمن کبدی، از کبد چرب ساده تا مراحل پیشرفته مثل فیروز کبدی و سیروز و سرطان کبدی می‌باشد. در این پژوهش، تأثیر تمرین استقامتی با شدت متوسط و مصرف پروبیوتیک بر بیان ژن MMP-۹ در مدل حیوانی استئاتوزیس بررسی شد.

روش کار

این پژوهش یک مطالعه تجربی از نوع آزمایشگاهی است. ۳۲ سررت نر نژاد ویستار به ۴ گروه ۸ تایی گروه سالم، گروه کبد چرب، گروه کبد چرب + پروبیوتیک، گروه کبد چرب + پروبیوتیک + تمرین استقامتی با شدت متوسط تقسیم شدند و به مدت ۸ هفته مورد آزمایش قرار گرفتند. تمرین استقامتی به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته با شدت ۱۸ الی ۲۸ متر در دقیقه انجام شد. محاسبه آماری این مطالعه با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و نیز در صورت تفاوت معناداری از آزمون تعقیبی بونفرونی جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی با نرم افزار SPSS ۲۵ انجام گردید.

نتایج

تمرین استقامتی و مصرف پروبیوتیک بر بیان ژن MMP-۹ در مدل حیوانی کبد چرب تفاوت معنی داری دارد ($P=0/000$) و باعث کاهش بیان MMP-۹ می‌شود.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج مطالعه، به نظر می‌رسد تمرین استقامتی همراه با مصرف پروبیوتیک می‌تواند بیماران مبتلا به کبد چرب را در مقابل آسیبهای ناشی از این بیماری مقاوم می‌کند.

کلمات کلیدی

استئاتوزیس، تمرین استقامتی، پروبیوتیک، MMP-۹

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

عباس دوستدار روزبهانی^۱

شاهین ریاحی ملایری^{۲*}

محمد رمضان پور یوسفده^۳

آرزو کلهر^۳

سید محمد نصیری نیا^۳

^۱مدرس دانشگاه علوم و فنون فارابی، تهران، ایران

^۲استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم

ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی تهران،

ایران (نویسنده مسئول)

^۳کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی

و علوم ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی

تهران، ایران

Email: Dostdar_d@yahoo.com

مقدمه

استئاتوزیس تجمع چربی در بافت کبدی، بیماری سلول‌های کبد است که اخیراً به علت افزایش میزان چاقی در جوامع افزایش یافته است. اهمیت این بیماری به خاطر تخریب سلول‌های کبدی است (۱). کبد چرب غیر الکلی با شیوع رو به افزایش خود کودکان و بزرگسالان را درگیر نموده و منجر به مشکلات قابل توجهی شده است. این بیماری در دهه اخیر به یکی از علل اصلی بیماری‌های کبدی در کشورهای صنعتی تبدیل شده است. در سیر بیماری، چربی در کبد رسوب می‌کند (استئاتوزیس) که این واقعه ارتباطی به مصرف بیش از حد الکل ندارد، بلکه در رابطه با سندرم متابولیک (چاقی، هیپر لیپیدیمی، مقاومت به انسولین و فشار خون بالا) می‌باشد (۲-۵). کبد چرب غیر الکلی ممکن است نهایتاً منجر به سیروز کبدی و مرگ گردد. در حال حاضر درمان ثابت شده‌ای برای کبد چرب غیر الکلی وجود ندارد، با این حال طیف وسیعی از درمان‌های احتمالی پیشنهاد شده است. از جمله درمان‌های نسبتاً مؤثر و شناخته شده می‌توان به رژیم غذایی، کاهش وزن و تجویز دارویی اشاره کرد (۶). ایجاد آسیب کبدی باعث فعالیت سلول‌های ستاره‌ای و سلول‌های کوپفر می‌شود. ترشح ماتریکس متالوپروتئینازها ((Metalloproteinases (MMPs)) و مهار کننده‌های بافتی آنها پس از فعالیت دو سلول قید شده باعث می‌شود تا تصور شود سلول‌های ستاره‌ای MMP-۳ MMP-۲ و سلول‌های کوپفر احتمالاً MMP-۹ را ترشح می‌کنند (۷). از آنجایی که استرس اکسیداتیو و التهاب و در نتیجه آن افزایش بیان انواعی از ماتریکس متالوپروتئیناز به عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار بر آسیب سلولی محسوب می‌شوند (۸). از جمله مکمل‌هایی که می‌توانند بر شاخص‌های التهابی مؤثر باشند پروبیوتیک‌ها هستند. به کارگیری پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از بیماری‌ها و بهبود وضعیت سلامتی انسان پیشینه‌ای چندین هزار ساله دارد. پروبیوتیک به صورت مکمل غذایی میکروبی زنده تعریف شده است. در مطالعات جدید استفاده از پروبیوتیک‌ها را در درمان این بیماران توصیه می‌کنند (۹) پروبیوتیک‌ها میکرو ارگانیسم‌های زنده و مفیدی هستند که در صورت مصرف توسط انسان و یا

حیوان با اثر بر فلور میکروبی بدن، باعث بروز اثرات مفیدی بر سلامتی میزبان می‌شود (۱۰). علاوه بر آن پروبیوتیک‌ها با تولید ترکیبات مهاری و ممانعت کننده، رقابت با عوامل پاتوژنی برای مواد شیمیایی و مکان‌های اتصال، تحریک و تنظیم فعالیت سیستم ایمنی اثرات سودمندی برای میزبان دارند (۱۱) بیشتر پروبیوتیک‌ها متعلق به گروه بزرگی از باکتری‌های اصلی فلور میکروبی روده انسان می‌باشند و در آنجا زندگی بی ضرری برای بدن دارند، بیشتر باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بی خطر تشخیص داده شده‌اند به جز (استرپتوکوکوس و انترکوکوس)، سایر باکتری‌های مولد اسید لاکتیک به ندرت برای انسان و حیوان بیماری زا هستند و کاربرد آنها از دیر باز در تهیه محصولات غذایی بدون ایجاد اثرات سوء به اثبات رسیده است (۱۲) تمرین استقامتی میزان چگالی سلول‌های کبدی بیماران مبتلا به کبد چرب را نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد. در واقع فعالیت ورزشی یا فعالیت بدنی منظم می‌تواند با کاهش محتوای چربی داخل کبدی، کاهش استرس اکسیداتیو کبدی پراکسیداز، بهبود التهاب کبدی از طریق مهار واسطه التهابی مانند فاکتور نکروز توموری آلفا و اینترلوکین ۱ بتا، راه درمانی مؤثری در خصوص بهبود عوارض کبد چرب باشد (۱۵-۱۳). با توجه به انجام تحقیقات گذشته که بیشتر بر روی اثر جنبه تمرینی فعالیت‌های هوازی و مقاومتی بر روی کبد چرب مطالعه کرده‌اند و با توجه به نقش MMP-۹ بر روی سیستم ایمنی در کبد چرب و اثبات تأثیر مصرف پروبیوتیک‌ها بر تقویت ایمنی بدن در مبارزه با التهاب‌های به وجود آمده ناشی از آسیب کبد چرب در مدل غیر الکلی آن، ترکیب تمرینات استقامتی و مصرف پروبیوتیک بر بیان ژن MMP-۹، از این رو، در این پژوهش، تأثیر تمرین استقامتی با شدت متوسط و مصرف پروبیوتیک بر بیان ژن MMP-۹ در مدل حیوانی کبد چرب بررسی شد.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع تحقیق تجربی است. طرح پژوهش پس‌آزمون با چهار گروه انجام گرفت. در این مطالعه ۳۲ عدد رت نر ویستار در ۲ مدل سالم و مبتلا به کبد چرب می‌باشند. رت‌ها با وزن ۲۰۰-۲۵۰ که به صورت تصادفی به ۴ گروه زیر

۲۴	۵۰	پنجم
۲۶	۵۰	ششم
۲۶	۶۰	هفتم
۲۸	۶۰	هشتم

ایجاد مدل کبد چرب (استئاتوزیس)

تتراسایکلین با دوز ۱۰۰mg/kg در حجم ۱,۵ cc به ازای هر موش روزانه به مدت دو هفته گاوژ شد. وزن موش‌ها به صورت میانگین ۳۰۰gr بود که ۱۰۰mg به ازای ۱kg برای ۳ موش استفاده شد، که ۱۰۰mg در مقدار ۴,۵cc حل و به هر موش ۱,۵ cc گاوژ شد (۱۰).

کشت باکتری لاکتوباسیلوس رامنسوس - پروبیوتیک

لاکتوباسیلوس رامنسوس به صورت لیوفلیزه در ویال‌های استاندارد از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (تهران، ایران) خریداری شد. باکتری‌ها در محیط کشت MRS (زیستی گویا، تهران، ایران) غنی شده با L-سیستین HCL کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌شوند. جهت بررسی تأثیر مصرف پروبیوتیک‌ها؛ گروه‌های مربوطه به مدت ۵ هفته و ۵ روز در هفته روزانه ۱۰^۹CFU/ml از باکتری لاکتوباسیلوس رامنسوس GG به صورت گاوژ دریافت کردند (۱۸).

بافت برداری و آنالیز بیوشیمیایی متغیرها

در پایان هفته هشتم رت‌ها به آزمایشگاه برده شدند جهت حذف اثر تمرین، نمونه برداری از حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام شد. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ mg/kg) و زایلازین (۳-۵ mg/kg) بی‌هوش و سپس کشته شدند. بافت کبد بلافاصله استخراج و در نیتروژن مایع منجمد شد. برای اندازه‌گیری بیان ۹-MMP از روش Real Time PCR استفاده شد. به این منظور، ابتدا استخراج RNA تام بوسیله کیت miRNeasy Mini Kit (Qiagen آلمان) و طبق دستورالعمل کیت انجام شد. از ژن خانه داری GAPDH برای کنترل داخلی و از فرمول دلتا سیتی برای کمی‌سازی داده‌ها استفاده شد.

تقسیم شدند. گروه سالم (۸)، گروه مدل شده (استئاتوزیس) (۸)، گروه استئاتوزیس + پروبیوتیک (۸)، گروه استئاتوزیس + پروبیوتیک + تمرین (۸). تقسیم شدند. همچنین این مطالعه دارای کد اخلاق از دانشگاه آزاد اسلامی تهران شرق به شماره ثبتی IR.IAU.SRB.REC.1399.019 است. تعداد ۳۲ رت نژاد ویستار نر در سن هشت هفتگی از موسسه انستیتو پاستور تهیه شد. رت‌ها در آزمایشگاه حیوانات بخش فیزیولوژی در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی شش صبح و شروع خاموشی شش عصر) دما (۲۲±۳ سانتی‌گراد)، و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. پس از سه روز آشناسازی با محیط نگهداری، حیوانات به مدت یک هفته روزانه به مدت ۱۰ دقیقه و پنج بار در هفته با تردمیل و چگونگی دویدن بر روی آن آشنا شدند. پس از ۴۸ ساعت استراحت از آخرین جلسه آشناسازی، از موش‌ها جهت اندازه‌گیری حداکثر سرعت آزمون وامانده ساز گرفته شد. حیوانات با سرعت ۵ متر در دقیقه به مدت ۵ دقیقه برنامه گرم کردن را اجرا و سپس آزمون را با سرعت ۹ متر در دقیقه شروع کردند. در ادامه آزمون، سرعت نوارگردان هر ۲ دقیقه ۲ متر در دقیقه افزوده شد تا حیوان به واماندگی برسد. معیار واماندگی حیوان عدم توانایی در بازگشت به دویدن روی نوارگردان در مدت زمان ۱۰ ثانیه بود (۱۶، ۱۷).

پروتکل تمرینی

تمرین شامل دویدن روی نوارگردان جوانگان به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته بدین صورت که رت‌ها قبل و بعد از تمرین گرم کردن و سرد کردن به مدت ۵ دقیقه پروتکل زیر انجام دادند.

جدول ۱. پروتکل تمرین استقامتی با شدت متوسط

زمان فعالیت (هفته)	زمان دویدن (دقیقه)	سرعت دویدن (متر در دقیقه)
اول	۱۰	۱۸
دوم	۲۰	۲۰
سوم	۳۰	۲۲
چهارم	۴۰	۲۲

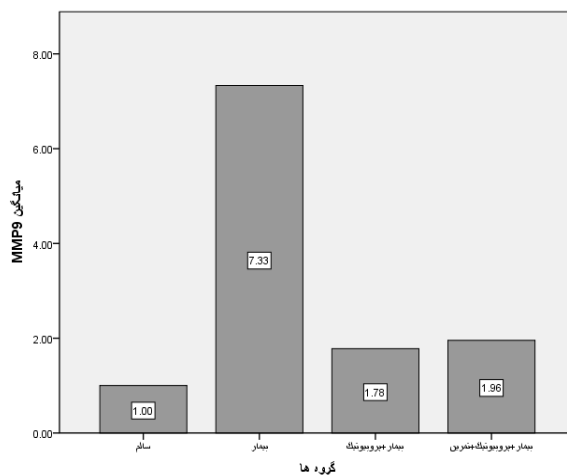
کبد چرب در رت‌ها، با افزایش معنی دار سطوح MMP-9 همراه بود که این تغییرات پس از مصرف پروبیوتیک در مقایسه با گروه کبد چرب کاهش معنی داری یافت. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌ها در پیشگیری و درمان بیماری‌های کبدی نقش مؤثری دارند. پروبیوتیک‌ها از طریق کاهش فعالیت اوره سبب کاهش آمونیاک در سیستم پورتال می‌شوند. افزایش آمونیاک خون در بعضی از بیماری‌های کبدی، نارسایی کبد، مسمومیت با اوره رخ می‌دهد و منجر به ضایعات عصبی در بیمار می‌شود. پروبیوتیک‌ها از جذب سموم جلوگیری کرده و با کاهش جذب آمونیاک و سموم سبب کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو شده در نتیجه به درمان و پیشگیری از بیماری‌های کبدی کمک می‌کند (۲۰). تانگ و همکاران (۲۰۱۹) یک مطالعه مروری در زمینه اثرات پروبیوتیک‌ها بر بیماری کبد چرب غیرالکلی انجام دادند. نتایج آنها نشان داد، پروبیوتیک‌ها می‌توانند باعث کاهش وزن و توده بدنی، بهبود عملکرد کبد، کاهش سطح چربی و گلوکز پلازما و فیروز کبدی شوند (۲۱). مطالعه دوزجا و همکاران (۲۰۱۹) بر تأثیر پروبیوتیک چند مرحله‌ای با قدرت بالا در بیماری کبد چرب غیرالکلی حاکی از آن است که اصلاحات در شیوه زندگی همراه با آماده سازی پروبیوتیک چند مرحله‌ای به طور قابل توجهی آسیب بافتی کبد را در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بهبود می‌بخشد. علاوه بر این، بیماران در گروه پروبیوتیک کاهش بیشتری در ALT سرم و بهبود مشخصات سایتوکین در مقایسه با بیمارانی که دارو مصرف می‌کردند، نشان داد. (۲۲). که هر دو مطالعه‌ها با نتایج این پژوهش همسو می‌باشد.

همچنین نتایج نشان داد هشت هفته تمرین استقامتی توام با مصرف پروبیوتیک در مطالعه حاضر، سبب کاهش معنی داری در سطوح MMP-9 در مقایسه با گروه کبد چرب شد. علاوه بر این، مقایسه بین دو گروه پروبیوتیک و پروبیوتیک + تمرین نیز نشان داد که میزان کاهش سطوح MMP-9 در آزمودنی‌های گروه پروبیوتیک نسبت به آزمودنی‌های گروه پروبیوتیک + تمرین بیشتر بود. اما، این اختلاف معنادار نبود. همسو با نتایج حاضر، سعادت موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۸ در مطالعه‌ای

اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS ۲۵ در سطح معناداری $p \leq 0,05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و نیز در صورت تفاوت معناداری از آزمون تعقیبی بونفرونی جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه با سطح معنی داری بزرگتر از ۰/۰۵ نشان داد که تفاوت معنی داری بین متغیر ژن MMP-9 در چهار گروه پژوهش وجود دارد ($P = 0,000$). (شکل ۱). بنابراین هشت هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف پروبیوتیک بر بیان ژن MMP-9 در رت‌های مبتلا به استئاتوزیس تأثیر معناداری دارد و موجب کاهش آن می‌شود. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که گروه سالم با گروه بیمار و گروه بیمار با گروه پروبیوتیک + گروه تمرین + پروبیوتیک به طور معنی داری تفاوت بین این گروه‌ها وجود دارد.



نمودار ۱. مقایسه میانگین‌های MMP-9 در چهار گروه پژوهش

بحث

کبد چرب با تجمع چربی در سلول‌های کبدی و استئاتوزیس آغاز می‌شود و در نهایت می‌تواند به استئاتوهپاتیت و آسیب بافت کبد منجر شود. استئاتوز کبدی می‌تواند ناشی از اختلال در مسیرهای متابولیسم لیپیدها باشد و به دلیل عدم تعادل در تولید و تجزیه لیپیدها ایجاد شود (۱۹). براساس یافته‌های پژوهش، القای

لوپرسی و همکاران در پژوهشی در سال ۲۰۱۷ به بررسی مطالعات انسانی در زمینه نقش ژلاتینازها و مهارکننده‌هایشان در پاسخ عضلات اسکلتی به تمرین ورزشی پرداختند. این محققان گزارش دادند که در مطالعات انجام شده بر روی بافت‌های بیوسی عضلانی، تمرینات ورزشی حاد سبب تحریک بیان ژن MMP-9 می‌گردد، در حالی که تکرار منظم تمرینات ورزشی در طول زمان بیان MMP-9 و TIMP را تحریک می‌کنند. در مطالعات بر سطح پلاسمایی ژلاتیناز و مهارکننده‌های آنها، آزادسازی و انتشار زودهنگام MMP-9 بعد از تمرین حاد با شدت کافی مشاهده شد، در حالی که داده‌ها روی MMP-9 و TIMP متفاوت بودند (۲۷). با توجه به نتایج مطالعه حاضر که تأثیر تمرین استقامتی و مصرف پروبیوتیک بر بیان ژن MMP-9 بود برای پژوهش‌های آینده پیشنهاد می‌شود، ترکیبات پروبیوتیک‌ها برای تشخیص و درمان مراحل مختلف بیماری کبد چرب همراه با تمرین استقامتی مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه هشت هفته تمرین استقامتی توأم با مصرف پروبیوتیک، سبب کاهش معنی‌داری در سطوح MMP-9 در کبد چرب شد، به نظر می‌رسد تمرین استقامتی همراه با مصرف پروبیوتیک می‌تواند بیماران مبتلا به کبدچرب را در مقابل آسیب‌های ناشی از این بیماری مقاوم می‌کند.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر حاصل یافته‌های پایان نامه کارشناسی ارشد، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق می‌باشد. همچنین پژوهشگرها مراتب قدردانی و تشکر خود را از مسئولان محترم آزمایشگاه که در این طرح ما را یاری فرمودند، اعلام می‌دارند.

به تأثیر مداوم تمرین استقامتی بر بیان mRNA گاما اینترفرون و MMP-9 در موش‌های صحرایی نر بالغ پرداختند. یافته‌های مطالعه آنها نشان داد که شش هفته تمرین استقامتی مداوم اثر معنی‌داری روی بیان mRNA ماتریکس متالوپروتیناز ۹ دارد. همچنین این پروتکل تمرینی تأثیر معناداری روی بیان ژن mRNA گاما اینترفرون ندارد و نیز این محققان گزارش دادند که تمرین استقامتی مداوم سبب کاهش التهاب قلبی ناشی از پیری موش‌ها می‌شود (۲۳). چن و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ورزش هوازی در درازمدت بیان ژن SIRT1 را که یک ژن افزایش طول عمر است، تسهیل می‌کند که این ژن، به نوبه خود می‌تواند مسیر سیگنالینگ فاکتور هسته‌ای کاپا (NF-κB) را مهار کند و التهاب سیستمیک را سرکوب نماید (۲۴). NF-κB فعال وارد هسته شده و رونویسی و ترجمه عوامل پایین دستی مانند TNFα، IL-1β و ژنهای مربوط به آپوپتوز را تقویت می‌کند. SIRT1 با تنظیم مستقیم مسیر سیگنالینگ NF-κB یا مسیر LXR-NF-κB بیان متالو-پروتینازهای ماتریکس (MMPs) را سرکوب می‌کند (۲۵). در این زمینه، نتایج آزمایش ونگ و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که تمرینات ورزشی سبب بیان SIRT1 در بالاترین میزان و سیتوکین‌های التهابی مانند IL-1β، TNFα، MMP-2 و MMP-9 در کمترین میزان می‌شود. نتایج آنها بیشتر تأیید کرد که ورزش شنا به همراه کنترل رژیم غذایی بیان SIRT1 را افزایش می‌دهد و بیان TNFα و MMP-9 را به طور قابل توجهی سرکوب می‌کند. این نشان می‌دهد که ورزش شنا به همراه کنترل رژیم غذایی باعث سرکوب التهاب محیطی می‌شود که با فعال‌سازی بیان SIRT1 و مهار فعالسازی NF-κB مرتبط است (۲۶). با توجه به نتایج همسو و مکانیسم احتمالی در کاهش MMP-9 در پژوهش حاضر هم تمرین استقامتی و مصرف پروبیوتیک به کاهش التهاب کبدی منجر شد.

References

- Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*. 2010 Feb;51(2):679-89. doi: 10.1002/hep.23280. PMID: 20041406; PMCID: PMC3575093.
- Pouwels S, Sakran N, Graham Y, Leal A, Pintar T, Yang W, Kassir R, Singhal R, Mahawar K, Ramnarain D. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *BMC Endocr Disord*. 2022 Mar 14;22(1):63. doi: 10.1186/s12902-022-00980-1. PMID: 35287643; PMCID: PMC8919523.

3. Hosseini M, Eftekhari B, Riyahi Malayeri S. Effect of Interval Training with Curcumin Consumption on Some Adipokines in Menopausal Obese Rats. *JRUMS*. 2017; 16 (6) :505-516 URL: <http://journal.rums.ac.ir/article-1-3644-en.html>.
4. Hedayati S, Riyahi Malayeri S, Hoseini M. The Effect of Eight Weeks of High and Moderate Intensity Interval Training Along with Aloe Vera Consumption on Serum Levels of Chemerin, Glucose and Insulin in Streptozotocin-induced Diabetic Rats: An Experimental Study. *JRUMS*. 2018; 17 (9) :801-814. URL: <http://journal.rums.ac.ir/article-1-4209-en.html>.
5. Asgari Hazaveh D, Riyahi Malayeri S, Babaei S. Effect of Eight Weeks High Intensity Interval Training and Medium Intensity Interval Training and Aloe vera Intake on Serum Vaspilin and Insulin Resistance in Diabetic Male Rats. *J Arak Uni Med Sci*. 2018; 20 (11) :67-75 URL: <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5406-en.html>.
6. Maurice J, Manousou P. Non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Med (Lond)*. 2018 Jun;18(3):245-250. doi: 10.7861/clinmedicine.18-3-245. PMID: 29858436; PMCID: PMC6334080.
7. Zhang CY, Yuan WG, He P, Lei JH, Wang CX. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: Etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets. *World J Gastroenterol*. 2016 Dec 28;22(48):10512-10522. doi: 10.3748/wjg.v22.i48.10512. PMID: 28082803; PMCID: PMC5192262.
8. Wang WM, Xu XS, Miao CM. Kupffer Cell-Derived TNF- α Triggers the Apoptosis of Hepatic Stellate Cells through TNF-R1/Caspase 8 due to ER Stress. *Biomed Res Int*. 2020 Aug 2;2020:8035671. doi: 10.1155/2020/8035671. PMID: 32802876; PMCID: PMC7421237.
9. Zommiti M, Feuilloley MGJ, Connil N. Update of Probiotics in Human World: A Nonstop Source of Benefactions till the End of Time. *Microorganisms*. 2020 Nov 30;8(12):1907. doi: 10.3390/microorganisms8121907. PMID: 33266303; PMCID: PMC7760123.
10. Mohammadi, S., Rostamkhani, F., Riyahi Malayeri, S. et al. High-intensity interval training with probiotic supplementation decreases gene expression of NF- κ B and CXCL2 in small intestine of rats with steatosis. *Sport Sci Health* 18, 491–497 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11332-021-00829-5>.
11. Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of Action of Probiotics. *Adv Nutr*. 2019 Jan 1;10(suppl_1):S49-S66. doi: 10.1093/advances/nmy063. Erratum in: *Adv Nutr*. 2020 Jul 1;11(4):1054. PMID: 30721959; PMCID: PMC6363529.
12. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int J Environ Res Public Health*. 2014 May 5;11(5):4745-67. doi: 10.3390/ijerph110504745. PMID: 24859749; PMCID: PMC4053917.
13. van der Windt DJ, Sud V, Zhang H, Tsung A, Huang H. The Effects of Physical Exercise on Fatty Liver Disease. *Gene Expr*. 2018 May 18;18(2):89-101. doi: 10.3727/105221617X15124844266408. Epub 2017 Dec 6. PMID: 29212576; PMCID: PMC5954622.
14. Riyahi Malayeri S, Azadnia A, Rasaei M J. Effect of eight-week High intensity interval training and resveratrol intake on serum adiponectin and resistin in type 2 diabetic rats. *Ijdd* 2019; 18 (1) :8-1. URL: <http://ijdd.tums.ac.ir/article-1-5708-en.html>.
15. Mirea AM, Tack CJ, Chavakis T, Joosten LAB, Toonen EJM. IL-1 Family Cytokine Pathways Underlying NAFLD: Towards New Treatment Strategies. *Trends Mol Med*. 2018 May;24(5):458-471. doi: 10.1016/j.molmed.2018.03.005. Epub 2018 Apr 14. PMID: 29665983; PMCID: PMC5939989.
16. Farazandeh N, Hosseini M, Riyahi Malayeri S, Daneshjoo A. Effect of Eight Weeks of Swimming Training with Garlic Intake on Serum Levels of IL-10 and TNF- α in Obese Male Rats. *Jundishapur Scientific Medical Journal*, 2018; 16(6): 665-671. doi: 10.22118/jsmj.2018.57830.
17. Riyahi Malayeri S, Abdolhay S, Behdari R, Hoseini M. The combined effect of resveratrol supplement and endurance training on IL-10 and TNF- α in type 2 diabetic rats. *RJMS*. 2019; 25 (12) :140-149. URL: <http://ijdd.tums.ac.ir/article-1-5708-en.html>.
18. Wang Y, Kirpich I, Liu Y, Ma Z, Barve S, McClain CJ, Feng W. Lactobacillus rhamnosus GG treatment potentiates intestinal hypoxia-inducible factor, promotes intestinal integrity and ameliorates alcohol-induced liver injury. *Am J Pathol*. 2011 Dec;179(6):2866-75. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.08.039. Erratum in: *Am J Pathol*. 2012 Jan;180(1):429-30. PMID: 22093263; PMCID: PMC3260853.
19. Ipsen DH, Lykkesfeldt J, Tveden-Nyborg P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Cell Mol Life Sci*. 2018 Sep;75(18):3313-3327. doi: 10.1007/s00018-018-2860-6. Epub 2018 Jun 23. PMID: 29936596; PMCID: PMC6105174.
20. Rai R, Saraswat VA, Dhiman RK. Gut microbiota: its role in hepatic encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol*. 2015 Mar;5(Suppl 1):S29-36. doi: 10.1016/j.jceh.2014.12.003. Epub 2014 Dec 16. PMID: 26041954; PMCID: PMC4442863.
21. Tang Y, Huang J, Zhang WY, Qin S, Yang YX, Ren H, Yang QB, Hu H. Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Therap Adv Gastroenterol*. 2019 Sep 25;12:1756284819878046. doi: 10.1177/1756284819878046. PMID: 31598135; PMCID: PMC6764034.

22. Duseja A, Acharya SK, Mehta M, Chhabra S; Shalimar, Rana S, Das A, Dattagupta S, Dhiman RK, Chawla YK. High potency multistrain probiotic improves liver histology in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a randomised, double-blind, proof of concept study. *BMJ Open Gastroenterol.* 2019 Aug 7;6(1):e000315. doi: 10.1136/bmjgast-2019-000315. PMID: 31423319; PMCID: PMC6688701.
23. Elham Sadat Mousavi, Mohammad Reza Asad, Ali Barzegari, Mahbobeh Gholizadeh Ahangari. Effect of Continuous Endurance Training on mRNA Expression of Interferon Gamma and Matrix Metalloproteinase-9 in Male Elder Rats. *Hormozgan medical journal.* 2018;22(3): e87214. doi: 10.5812/hmj.87214.
24. Chen WK, Tsai YL, Shibu MA, Shen CY, Chang-Lee SN, Chen RJ, Yao CH, Ban B, Kuo WW, Huang CY. Exercise training augments Sirt1-signaling and attenuates cardiac inflammation in D-galactose induced-aging rats. *Aging (Albany NY).* 2018 Dec 23;10(12):4166-4174. doi: 10.18632/aging.101714. PMID: 30582744; PMCID: PMC6326662.
25. de Gregorio E, Colell A, Morales A, Marí M. Relevance of SIRT1-NF- κ B Axis as Therapeutic Target to Ameliorate Inflammation in Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2020 May 29;21(11):3858. doi: 10.3390/ijms21113858. PMID: 32485811; PMCID: PMC7312021.
26. Wang X, Yang J, Lu T, Zhan Z, Wei W, Lyu X, Jiang Y, Xue X. The effect of swimming exercise and diet on the hypothalamic inflammation of ApoE^{-/-} mice based on SIRT1-NF- κ B-GnRH expression. *Aging (Albany NY).* 2020 Jun 9;12(11):11085-11099. doi: 10.18632/aging.103323. Epub 2020 Jun 9. PMID: 32518216; PMCID: PMC7346084.
27. Lo Presti R, Hopps E, Caimi G. Gelatinases and physical exercise: A systematic review of evidence from human studies. *Medicine (Baltimore).* 2017 Sep;96(37):e8072. doi: 10.1097/MD.00000000000008072. PMID: 28906407; PMCID: PMC5604676.

Original Article

The effect of endurance training and probiotic supplementation on MMP9 gene expression in the liver tissue of steatosis rats

Received: 16/07/2021 - Accepted: 17/02/2022

Abbas Dostdar Rozbahani¹
Shahin Riyahi Malayeri^{2*}
Mohammad Ramezanpour Yousefdeh³
Arezoo Kalhor³
Seyed Mohammad Nassirinia³

¹ Lecturer at Farabi University of Science and Arts, Tehran, Iran

² Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. (Corresponding Author)

³ MSc in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: Dostdar_d@yahoo.com

Abstract

Introduction: Fatty liver disease is the most important reason for chronic liver diseases, from simple fatty liver to advanced stages such as liver fibrosis, cirrhosis and liver cancer. In this study, the effect of moderate intensity endurance exercise and probiotic consumption on MMP 9 gene expression in an animal model of steatosis was investigated.

Method: This study is an experimental study of laboratory type. 32 male Wistar rats were divided into 4 groups of 8: healthy group, fatty liver group, fatty liver + probiotic group, fatty liver + probiotic group + moderate intensity endurance exercise and were tested for 8 weeks. Endurance training was done for 8 weeks, 5 days a week, at 18-28 meters per minute. The statistical calculation of this study was done using the one-way analysis of variance test and, in case of a significant difference, the Bonferroni post hoc test to determine the location of the difference between groups was done with SPSS 25 software.

Results: Endurance training and probiotic consumption have a significant difference on the expression of the MMP-9 gene in the animal model of fatty liver ($P=0.000$) and decrease the expression of MMP-9.

Conclusion: According to the results of the study, it seems that endurance training along with probiotic consumption can make patients with fatty liver resistant to the damage caused by this disease.

Keywords: Endurance Training, MMP-9, Probiotics, Steatosis

conflict of interest: There is no conflict of interest.