Military Caring Sciences

Original Article

10.22034/12.1.66

OPEN ACCESS

The Effect of High Intensity Interval Training and Probiotic Consumption on TGF-β1 Gene Expression in Heart Tissue of Male Rats with Steatosis

Shahmohammadi. S[1]
*Ghazalian. F[1]
Shirvani. H[2]
Abednatanzi. H[3]

1- (*Corresponding Author) Physical Education Department, Science and Research Branch,Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: phdghazalian@gmail.com

2- Sports Physiology Research Center, Lifestyle Research Institute, Baqiatallah University of Medical Sciences (AJ), Tehran, Iran

3- Physical Education Department, Science and Research Branch,Islamic Azad University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Introduction: Given the increasing prevalence of fatty liver disease and its association with other conditions-such as cardiovascular diseases-effective treatment strategies are essential.

Objective: the aim of this study was to evaluate the effect of high-intensity interval training (HIIT) and Lactobacillus rhamnosus supplementation on the expression of the TGF-β1 gene in cardiac tissue of male Wistar rats with steatosis.

Materials and Methods: In this experimental trial, 40 male rats (weighing 200–250 grams) were. assigned to five groups (n=8 per group). To induce steatosis in groups two through five, rats received a daily oral gavage of a high-fat emulsion (10 mg/kg) for six weeks. Additionally, rats in groups four and five were administered Lactobacillus rhamnosus GG at a concentration of 10^9 CFU/mL via oral gavage for five weeks, five days per week. Fatty liver induction was confirmed by measuring serum levels of liver enzymes (AST, ALT, and ALP). Following anesthesia and heart tissue extraction, cardiac TGF-β1 gene expression was assessed using real-time PCR.

Results: the expression level of the TGF-β1 gene was significantly elevated in the steatosis group compared to the healthy control group (P=0.001). While all intervention groups showed reduced expression levels of TGF-β1, the most significant decrease was observed in the steatosis + HIIT+probiotic group when compared to the steatosis group alone (P=0.003).

Conclusion: Although five weeks of high-intensity interval training combined with probiotic supplementation significantly reduced TGF-β1 expression in rats, further research is needed before recommending this combined intervention in human populations.

Keywords: Exercise Training, Lactobacillus rhamnosus GG, Liver Disease, Probiotic, Non-Alcoholic Fatty

Cite this article:Shahmohammadi S, Ghazalian F, Shirvani H, Abednatanzi H. The Effect of High Intensity Interval Training and Probiotic Consumption on TGF-β1 Gene Expression in Heart Tissue of Male Rats with Steatosis. Military Caring Sciences. 2025; 12 (1): 66-76.

Received: 2023/08/22 Received in revised form: 2023/11/11 Accepted: 2023/11/27 Published: 2025/3/30

©The Author(s)

Publisher: Aja University of Medical Sciences

علوم مراقبتی نظامی

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف پروبیوتیک بر بیان ژن TGF-β1 بافت قلبی موش‌های صحرائی نر مبتلا به استئاتوزیس

سعید شاه محمدی[۱]
*فرشاد غزالیان[۱]
حسین شیروانی[۲]
حسین عابد نطنزی[۳]

۱ - گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (*نویسنده مسئول)، آدرس الکترونیک:

phdghazalian@gmail.com

۲ - مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیة الله (عج)، تهران، ایران

۳ - گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: درمان کبد چرب با توجه به افزایش شیوع و ارتباط آن با سایر بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی و عروقی ضروری است.

هدف: هدف از مطالعه حاضر تعیین اثر انجام تمرینات تناوبی شدید و مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنسوس بر بیان ژن TGF-β1 در بافت قلبی موش‌های صحرائی نر مبتلا به استئاتوزیس بود.

مواد و روش‌ها: در این کارآزمایی تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم به طور تصادفی در ۵ گروه ۸ رأسی قرار گرفتند. برای القای استئاتوزیس در موش‌های گروه‌های ۲ تا ۵، محلول امولسیون پرچرب را به میزان mg/kg ۱۰ روزانه به مدت ۶ هفته به آن‌ها گاواژ شد. همچنین به موش‌های گروه‌های ۴ و ۵ به مدت ۵ هفته و ۵ روز در هفته روزانه CFU/ ml۱۰۹ از باکتری لاکتوباسیلوس رامنسوس جی جی به صورت گاواژ خورانده شد. برای تائید کبد چرب در موش‌ها آنزیم‌های کبدی AST،ALT و ALP اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن TGF-β1 بافت قلبی موش‌ها پس از بیهوش کردن موش‌ها و جداسازی بافت قلب آن‌ها از روش Real Time PCR استفاده شد.

یافته‌ها: میزان بیان ژن TGF-β1 در گروه استئاتوزیس نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنادار داشت (P=۰/۰۰۱). با وجود کاهش بیان ژن TGF-β1 در گروه‌های مداخله، بیشترین کاهش معنادار در گروه استئاتوزیس+تمرین+پروبیوتیک نسبت به گروه استئاتوزیس مشاهده شد (P=۰/۰۰۳).

نتیجه‌گیری: اگر چه انجام ۵ هفته تمرینات تناوبی شدید به همراه مصرف پروبیوتیک در موش‌ها منجر به کاهش بیان ژن TGF-β1 شد، ولی پیشنهاد انجام تمرینات تناوبی شدید به همراه مصرف پروبیوتیک در جامعه انسانی، منوط به انجام تحقیقات بیشتر است.

کلمات کلیدی: بیماری کبد چرب غیر الکلی، پروبیوتیک، تمرین ورزشی، لاکتوباسیلوس رامنسوس جی جی

استناد: شاه محمدی سعید ، غزالیان فرشاد ، شیروانی حسین ، عابد نطنزی حسین.تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف پروبیوتیک بر بیان ژن ۱ -TGF بافت قلبی موش های صحرائی نر مبتلا به استئاتوزیس . ۱۴۰۴؛ ۱۲(۱): ۷۶- ۶۶.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۳۱ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۶ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۱/۱۰

ناشر: دانشگاه علوم پزشکی آجا

©نویسندگان

CC BY NC

مقدمه

تقریباً ۲۰ تا ۳۳ درصد از بزرگسالان در ایالات متحده به بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) (Non-AlcoholicF Liver Disease) مبتلا هستند که منجر به بار اقتصادی تخمینی سالانه ۱۰۳ میلیارد دلار در هزینه‌های مستقیم در جامعه می‌شود (۱). استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) (Non-Alcoholic Steatohepatitis) در واقع نشان دهنده مرحله‌ای در طیفی از بیماری بافتی کبد است که به‌عنوان بیماری کبد چرب غیرالکلی شناخته می‌شود (۲). پیشنهاد شده است که بروز بیماری‌های قلبی عروقی (CVDs) (Cardiovascular Diseases) در افراد مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی یا استئاتوهپاتیت غیرالکلی بیشتر از جمعیت عمومی است که اهمیت درمان این بیماری را نشان می‌دهد (۳). نشان داده شده است که یک ارتباط دو طرفه قوی بین بیماری کبد چرب و بیماری‌های قلبی و عروقی وجود دارد؛ هرچند مکانیسم دقیق آن به خوبی شناخته نشده است. از آنجایی که بیماری‌های قلبی و عروقی در کنار سندرم متابولیک و کبد چرب به عنوان یکی از دلایل اصلی ناتوانی و مرگ و میر در سراسر جهان محسوب می‌گردند و با توجه به ارتباط تنگاتنگ بین بیماری کبد چرب غیرالکلی و بیماری قلبی و عروقی، بررسی و پیشگیری عوامل خطر مرتبط با بیماری‌های کبد چرب و بیماری‌های قلبی و عروقی و همچنین درمان آن‌ها بسیار حائز اهمیت است (۴). فاکتور رشد تبدیل کننده بتا (TGF-β) (Transforming Growth Factor Beta) یک خانواده از پنج ایزوفرم مختلف است که در میان آن‌ها سه ایزوفرم به ترتیب (1،2،3TGF-β) در بافت‌های پستانداران بیان می‌شود. اگرچه این سه ایزوفرم دارای خواص متمایزی هستند، اما گیرنده یکسان و مکانیسم سیگنال دهی مشابهی دارند. فاکتور رشد تبدیل کننده بتا (TGF-β) یک سایتوکاین چند عملکردی است که می‌تواند توسط انواع مختلفی از سلول‌ها بیان شود. TGF-β در انواع مختلف بیماری از جمله اختلال عملکرد قلبی، فیبروز میوکارد، نارسایی قلبی، بازسازی بطن و هیپرتروفی قلب نقش دارد. با توجه به فیبروز قلبی، به نظر می‌رسد TGF-β در تمام مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با آن شرکت می‌کند. ثابت شده است که TGF-β نقش مرکزی در تحریک فیبروبلاست ها، ترویج تمایز آن‌ها به میوفیبروبلاست و همچنین افزایش آپوپتوز کاردیومیوسیت و هیپرتروفی قلب دارد. TGF-β می‌تواند به‌عنوان یک هدف درمانی در بیماری‌های قلبی و عروقی در نظر گرفته شود (۵). TGF-β1 در ایجاد و پیشرفت بیماری‌های کبدی نیز نقش دارد (۶).

میکروبیوتای روده به تریلیون‌ها میکروارگانیسم ساکن در روده اطلاق می‌شود که به نسبت معینی در روده قرار دارند. تعادل میکروبیوتای روده به راحتی با مصرف غذا، سبک زندگی و محیط به هم می‌خورد (۷). اختلالات اولیه در میکروبیوتای روده می‌تواند منجر به اختلال طولانی مدت فنوتیپ‌های متابولیک، از جمله کبد چرب غیر الکلی، چاقی و بیماری‌های قلبی و عروقی شود (۸). درمان هدفمند میکروبیوتای روده می‌تواند دیسبیوز (Dysbiosis) ناشی از تغییرات در فلور طبیعی روده را تغییر دهد (۹). اصطلاح دیسبیوز به اختلال در میکروبیوم طبیعی روده اشاره دارد که با آسیب شناسی در میزبان همراه است. دیسبیوز با چندین جنبه از سندرم متابولیک، از جمله کبد چرب غیر الکلی مرتبط است (۱۰). مطالعات انسانی که در افراد مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی انجام شده است، شواهدی مبتنی بر ارتباط کبد چرب غیر الکلی با دیسبیوز و رشد بیش از حد باکتری‌ها در روده را نشان می‌دهد (۱۱). دیسبیوز می‌تواند عدم تعادل هموستاتیک را تسریع کند که می‌تواند به ایجاد چندین بیماری از جمله چاقی، دیابت، بیماری‌های کبدی، انواع سرطان‌ها، اختلالات مغزی و همچنین بیماری قلبی و عروقی که از عوامل مهم مرگ و میر در سراسر جهان هستند کمک کند (۱۲). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که برای برقراری مجدد تعادل اکولوژیکی روده تجویز می‌شوند (۱۳). در حال حاضر، هیچ درمان دارویی مستقیمی برای درمان کبد چرب غیر الکلی وجود ندارد. تغییر سبک زندگی، کاهش وزن و استفاده از داروهای کاهش مقاومت به انسولین از جمله موارد دیگر برای درمان کبد چرب هستند. کاهش سموم، افزایش ایمنی بدن و مقاومت به عفونت‌ها، تولید ویتامین و مواد مغذی، تولید اسیدهای آلی، کاهش واکنش‌های آلرژیک و فعالیت آنتی اکسیدانی ازجمله اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها هستند. یافته‌هایی مبتنی بر ارتباط احتمالی بین تأثیر بالقوه پروبیوتیک‌ها بر روی هورمون‌ها در ورزشکاران وجود دارد، که باعث بهبود پاسخ به استرس‌های جسمی و روانی در طول فعالیت بدنی می‌شود (۱۴). اخیراً تمرینات HIIT (فعالیت بدنی تناوبی با شدت بسیار زیاد به همراه استراحت فعال با شدت پایین می‌باشد)، مورد توجه

محققین قرار گرفته است. این شیوه تمرینی از نظر زمانی، یک روش بسیار کارآمد بوده که موجب سازگاری‌های متابولیکی می‌شود. فعالیت بدنی از طریق اثرات ضد التهابی خود، نتایج سودمندی را در بیماری‌های متابولیکی، میانجی‌گری می‌کند. فعالیت بدنی بر میکروبیوتای روده، متابولیت‌های مدفوع مشتق از میکروبیوتای روده، عملکرد سد روده‌ای و متابولیسم لیپیدها تأثیر دارد (۱۵). فعالیت بدنی، تنوع، تعادل و غنای میکروبیوتای روده را افزایش می‌دهد و توزیع آن را تعدیل می‌کند (۱۶).

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته به نظر می‌رسد در رابطه با ارتباط بیماری کبد چرب غیر الکلی با بیماری‌های قلبی و عروقی از جمله فیبروز قلبی و مسیرهای سیگنالینگ درگیر در ایجاد این بیماری‌ها و همچنین راهکارهایی که می‌تواند به درمان این قبیل بیماری‌ها کمک کند خلأهایی وجود دارد که این مطالعه می‌خواهد به بخش کوچکی از آن‌ها پاسخ دهد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی و بنیادی است. ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزنی در حدود ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در آزمایشگاه بیمارستان بقیه الله به عنوان نمونه پژوهش انتخاب و به کار گرفته شدند. این تحقیق به مدت پنج هفته و هر هفته پنج روز انجام شد و موش‌ها به صورت تصادفی در هر یک از پنج گروه هشت رأسی به ترتیب شامل گروه یک (کنترل سالم)، گروه دو (استئاتوزیس)، گروه سه (استئاتوزیس + تمرین)، گروه چهار (استئاتوزیس + پروبیوتیک) و گروه پنج (استئاتوزیس + پروبیوتیک + تمرین) قرار گرفتند.

القای استئاتوزیس

برای القای استئاتوزیس کبدی، از امولسیون پر چرب طبق روش ارائه شده توسط زو (Zou) و همکاران که ترکیبات آن در جدول زیر آمده است استفاده شد. به طور خلاصه، موش‌های صحرائی گروه‌های ۲ تا ۵ امولسیون پرچرب را به میزان ۱۰mg/kg، روزانه رأس ساعت ۸ صبح به مدت ۶ هفته از طریق گاواژ قبل از شروع پروتکل تمرین و مصرف پروبیوتیک دریافت کردند و به موش‌های صحرائی گروه کنترل سالم نیز همزمان و به همان مقدار (۱۰mg/kg) نرمال سالین به صورت گاواژ خورانده شد (۱۷).

جدول ۱- ترکیب امولسیون پرچرب جهت گاواژ به موش‌ها

ترکیب	مقدار مصرف
روغن ذرت	۴۰۰ گرم
ساکاروز	۱۵۰ گرم
پودر کامل شیر	۸۰ گرم
کلسترول	۱۰۰ گرم
سدیم دی اکسی کولات	۱۰ گرم
توئین ۸۰	۳۶/۴ گرم
پروپیلین گلیکول	۳۱/۱ گرم
مولتی ویتامین	۲/۵ گرم
نمک	۱۰ گرم
مواد معدنی مخلوط	۱/۵ گرم
آب مقطر	۳۰۰ میلی‌لیتر

کشت باکتری و نحوه مصرف پروبیوتیک (کشت باکتری لاکتوباسیلوس رامنسوس GG)

لاکتوباسیلوس رامنسوس GG (PTCC1637) به صورت لیوفلیزه در ویال‌های استاندارد از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (تهران، ایران) خریداری شدند و به شرح زیر مورد استفاده قرار گرفتند. باکتری‌ها در محیط کشت MRS (زیستی گویا، تهران، ایران) غنی شده با ال - سیستئین هیدروکلراید کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. جهت بررسی تأثیر مصرف پروبیوتیک‌ها؛ به گروه‌های ۴ و ۵ به مدت پنج هفته و پنج روز در هفته روزانه ۱۰۹ CFU/ml از باکتری لاکتوباسیلوس رامنسوس GG به صورت گاواژ خورانده شد (۱۸).

پروتکل تمرین تناوبی شدید

پروتکل تمرینی موش‌ها مطابق روش کلاکی و همکاران انجام شد. موش‌های صحرائی به منظور آشنایی با تردمیل و فضای آزمایشگاه قبل از اجرای پروتکل تحقیق یک هفته به مدت ۵ روز و هر روز به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه و با سرعت۵ m/min تا ۱۰m/ min به وسیله تردمیل خودکار ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان به تمرین پرداختند. همچنین موش‌ها صحرائی در هفته اول سرعت گرم کردن و سرد کردن شان ۴ m/min بود و در هفته پنجم به ۸m/min رسید. تمرین موش‌های صحرائی در

روز اول هفته اول با پنج تناوب دو دقیقه‌ای سریع با سرعت m/min ۱۶ و پنج تناوب یک دقیق ای آهسته با سرعت ۱۰m/min شروع کردند و در روز آخر تمرینات هفته پنجم با پنج تناوب دو دقیقه‌ای سریع با سرعت۴۰ m/min و پنج تناوب یک دقیقه‌ای آهسته با سرعت ۱۴m/min تمرینات خود را به اتمام رساندند (۱۹).

تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۸ و اکسل ۲۰۲۲ در سطح P≤۰/۰۵ انجام شد. برای بررسی طبیعی بودن و توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیرو - ویلک استفاده گردید. برای بررسی اینکه بین گروه‌ها تفاوت وجود دارد یا خیر از آزمون ناپارامتریک کورسکال - والیس و برای یافتن تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تصحیح بونفرونی استفاده گردید.

موش‌ها به صورت نامحدود به آب و غذا دسترسی داشتند. آب در ظرف‌های ۵۰۰ میلی لیتری در قفس‌ها قرار داشت. دمای مطلوب نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ درصد تا ۶۰ درصد بود. چرخه روشنایی هر ۱۲ ساعت یک‌بار توسط تنظیم کننده نور محل نگهداری موش‌های صحرائی رعایت و انجام شد. تمامی اصول مراقبت و کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با بیانیه هلسینکی انجام گردید. این پژوهش دارای کد اخلاق به نشانی IR.IAU.SRB.REC.۱۴۰۲.۱۲۰ می‌باشد (۲۰).

تائید کبد چرب

برای تائید کبد چرب آنزیم‌های کبدی AST (Aspartate Aminotransferase)، ALT (Alanine Transaminase) و ALP (Alkaline Phosphatase) به روش فتومتریک با استفاده از کیت‌های پارس آزمون (حساسیت ۲ تا ۴ واحد بین المللی) اندازه‌گیری شد و با توجه به بالا بودن سطح آنزیم‌ها در موش‌های صحرائی که امولوسیون پر چرب مصرف کرده بودند نسبت به موش‌های کنترل سالم، ایجاد استئاتوزیس تائید گردید.

گروه / بیان ژن (IU/L)	کنترل	استئاتوزیس	استئاتوزیس+ تمرین	استئاتوزیس + پروبیوتیک	استئاتوزیس+ تمرین+ پروبیوتیک
AST	۳±۱۲۰/۹۶	۳۵۰ ± ۱۴/۱۶	۱۴۶±۹/۴۱	۱۴۳/۳۷±۹/۵۴	۱۳۶/۱۲±۷/۱۱
ALT	۸۵/۱۲±۳/۵۳	۲۵۰±۱۱/۹۳	۹۵/۸۱±۶/۲۵	۹۵/۴۸±۳/۱۶	۹۳/۴۴±۲/۶۷
ALP	۲۱۶/۱۲±۱۴/۱۱	۶۴۶/۱۲±۲۴/۰۲	۳۲۰/۶۲±۲۲/۹۷	۲۲۷±۱۰/۱۱	۲۰۰/۲۵±۲۲/۹۹

اندازه‌گیری بیان ژن TGF-β1

به منظور جمع‌آوری اطلاعات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، موش‌های صحرائی مورد مطالعه در هر گروه به واسطه تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ mg/kg و زایلوزین ۲ درصد و با دوز mg/kg ۱۰ بیهوش شدند. سپس بافت قلب موش‌ها نمونه‌برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردیده و جهت انجام آزمایش‌های مربوطه به آزمایشگاه انتقال داده شد. استخراج RNA با استفاده از Qiazol (کیت QIAGEN) با توجه به راهنمایی شرکت سازنده انجام شد. برای طراحی پرایمرها ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن TGF-β1 با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم‌افزار کامپیوتری Allel ID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲). پرایمرها توسط شرکت سیناژن ساخته شد و از ژن GAPDH به عنوان کنترل درون ژنی استفاده شد. هر واکنش PCR با استفاده از (PCR master mix Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه (Applied Biosystems, Sequence) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. ۴۰ سیکل برای هر دوره Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. برای ژن مورد مطالعه نیز از ژن رفرنس GAPDH جهت به دست آوردن دمای مناسب Anneling گرادیان دمایی استفاده گردید. همچنین جهت بررسی Efficiency پرایمرها، منحنی

استاندارد اختصاصی هر ژن (سری‌های رقیق شد DNA) رسم گردید. نمودار Melting نیز جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول‌های ΔΔCT و ΔΔCT۲ میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمال سازی شد.

جدول ۲- الگوی ژن‌ها

ردیف	Genes name	Primer sequences	Accession number
1	Rattus norvegicus transforming growth factor, beta 1 (TGF-β1)	Forward: GCCTGGGTTGGAAGTGGAT Reverse: GGGTTGTGTTGGTTGTAGAG	NM_21578.2
2	Rattus norvegicus glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)	Forward: CAAGTTCAACGGCACAGTCA Reverse: CCCCATTTGATGTTAGCGGG	NM_017008.4

یافته‌ها

در این بخش به تجزیه و تحلیل داده‌ها و تغییرات بیان ژن TGF-β1 در هر یک از گروه‌های مورد بررسی در این مطالعه می‌پردازیم. ابتدا برای یافتن اینکه داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار هستند یا خیر از آزمون شاپیرو - ویلک استفاده کردیم و از آنجا که داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار نبودند، از آزمون‌های ناپارامتریک کورسکال – والیس و آزمون تعقیبی تصحیح بونفرونی استفاده کردیم. خلاصه‌ای از میانگین بیان ژن TGF-β1 در هر گروه در جدول شماره ۳ آمده است.

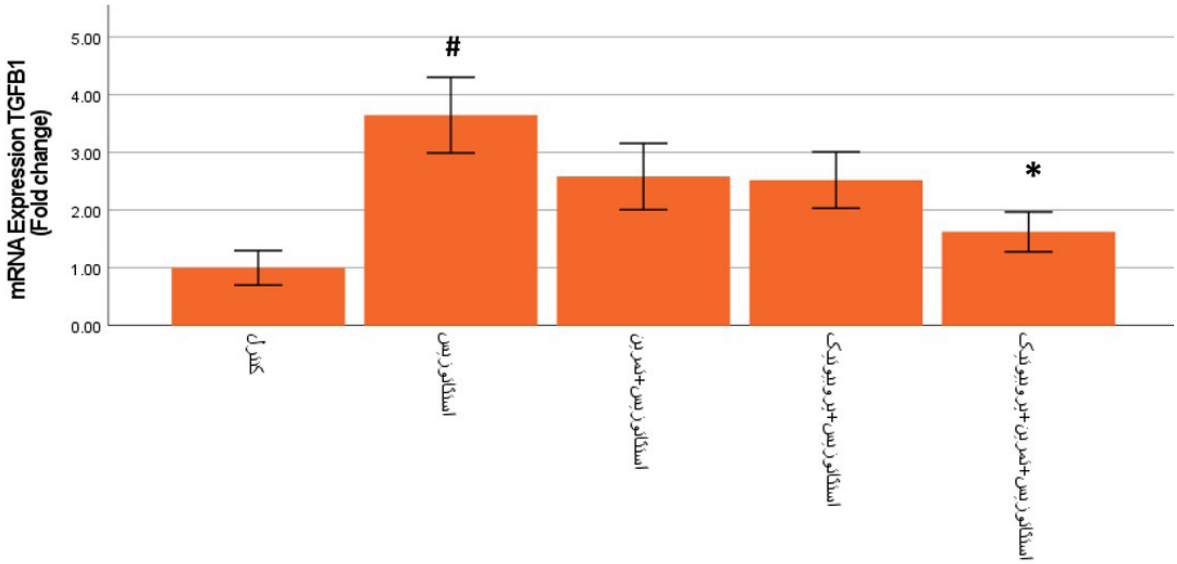
جدول ۳-داده‌ها (میانگین و انحراف معیار) و آزمون‌ها

گروه / بیان ژن(Fold change)	کنترل	استئاتوزیس	استئاتوزیس+ تمرین	استئاتوزیس + پروبیوتیک	استئاتوزیس+ تمرین+ پروبیوتیک
TGF-β1	۰±۱/۳۵	۳/ ۶۵± ۰/۷۸	۲/۵۸±۰/۶۹	۲/۵۲±۰/۵۸	۱/۶۲±۰/۴۱

با توجه به معنادار شدن آزمون کورسکال والیس برای یافته تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تصحیح بونفرونی استفاده کردیم که نتایج آن در جدول شماره ۴ و نمودار شماره ۱ آمده است. نتایج حاکی از آن بود که میزان بیان ژن TGF-β1 در گروه استئاتوزیس نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنادار داشت (P= ۰/۰۰۱)، ولی در گروه‌های استئاتوزیس+تمرین (P =۱) و استئاتوزیس+پروبیوتیک (P= ۱) با وجود کاهشی که داشته است نسبت به گروه استئاتوزیس معنادار نشد. کاهش معنادار و بیشتری نسبت به دو گروه استئاتوزیس+تمرین و استئاتوزیس+پروبیوتیک در گروه استئاتوزیس+تمرین+پروبیوتیک نسبت به گروه استئاتوزیس مشاهده گردید (P= ۰/۰۰۳) که می‌تواند نشان از مؤثر بودن مداخله ما باشد.

جدول ۴-نتایج آزمون کورسکال والیس و تصحیح بونفرونی

ترکیب	سطح معناداری آزمون کورسکال والیس	سطح معناداری تصحیح بونفرونی
کنترل-استئاتوزیس	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
استئاتوزیس-استئاتوزیس+تمرین		۱
استئاتوزیس-استئاتوزیس+پروبیوتیک		۱
استئاتوزیس-استئاتوزیس+تمرین+پروبیوتیک		۰/۰۰۳



نمودار ۱ -مقایسه میانگین مقادیر بیان ژن در هر گروه TGF-β1 (* به معنای تفاوت با گروه استئاتوزیس و # به معنای تفاوت با گروه کنترل سالم)

با توجه به جداول و نمودار بالا می‌توان دریافت که انجام ۵ هفته تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنسوس بر میزان بیان ژن TGF-β1 تأثیر معنادار دارد و باعث کاهش مؤثر میزان بیان ژن TGF-β1 می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه تعیین ارتباط بین بیماری کبد چرب و فیبروز قلب از طریق بیان ژن TGF-β1 بود. داده‌های آماری نشان داد میزان بیان این ژن TGF-β1 در گروهی که مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنسوس و تمرینات تناوبی شدید به مدت ۵ هفته داشتند کاهش معناداری نسبت به گروه مبتلا به استئاتوزیس داشتند که در ادامه چند مطالعه مرتبط در این زمینه آورده شده و سپس به بحث و نتیجه‌گیری پرداخته شده است.

در مطالعه کشتمند و همکاران مصرف پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس بر بیان ژن TGF-β1 بافت کلیه اثر کاهشی در موش‌های صحرائی داشت که با مطالعه حاضر همسو است (۲۱). در مطالعه لومباردی (Lombardi) و همکاران مصرف پروبیوتیک استرپتوکوک ترموفیلوس اثرات ضد فیبروتیک خود را با غیر فعال کردن TGF-β1 نشان داد که با مطالعه حاضر همسو است (۲۲). در مطالعه مولودی (Moludi) و همکاران مصرف مکمل پروبیوتیک

باعث کاهش TGF-β1 سرمی بافت قلب شد که با مطالعه حاضر همسو است (۲۳). در مطالعه چن (Chen) و همکاران در موش‌ها بیان ژن TGF-β به دنبال استفاده از یک مهارکننده که مسیر سیگنال دهی کیناز MAP را مسدود می‌کند (PD 98059) افزایش یافت که با مطالعه حاضر همسو نیست (۲۴). از دلایل ناهمسویی مطالعات می‌توان به نوع پروبیوتیک و دوز آن و همچنین مدت زمان مکمل یاری اشاره کرد.

در مطالعه گل باشی و همکاران انجام یک دوره تمرینات تناوبی شدید باعث کاهش میزان بیان ژن TGF-β1 بافت قلبی شد که با مطالعه حاضر همسو است (۲۵). در مطالعه گودرزی و همکاران مشاهده شد که تمرین هوازی بر مسیر پیام‌رسانی ایجاد کننده فیبروز قلبی موش صحرایی سالمند باعث کاهش بیان ژن TGF-β1 می‌شود که با مطالعه حاضر همسو است (۲۶). در مطالعه خسروی و همکاران انجام ۸ هفته تمرین منظم شنا مانع از افزایش بیان ژن TGF-β1 در بافت قلبی رت های دیابتی شد که با مطالعه حاضر همسو است (۲۷). در مطالعه حبیبیان و همکاران انجام تمرین شنا مانع از بیان ژن TGF-β1 در بافت قلبی موش‌های صحرائی پیر شد که با مطالعه حاضر همسو است (۲۸). در مطالعه محمد نژاد و همکاران میزان بیان ژن TGF-β1 در تاندون عضلات تند و کند انقباض بعد از ۶ هفته تمرینات مقاومتی افزایش یافت که با مطالعه ما همسو نیست (۲۹). از دلایل ناهمسویی مطالعات می‌توان به نوع، شدت و مدت فعالیت بدنی و بافت مورد مطالعه توجه داشت.

فعالیت بدنی، از جمله تمرینات هوازی و تمرینات مقاومتی، یکی از بهترین اصلاحات سبک زندگی است و ثابت شده است که از کبد چرب غیر الکلی و استئوهپاتیت غیر الکلی پیشگیری یا حتی روند ایجاد آن‌ها را معکوس می‌کند. افراد مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی در صورتی که فعالیت بدنی نداشته باشند، پیشرفت بیماری کبد چرب غیر الکلی افزایش میابد، بنابراین فعالیت بدنی باعث ایجاد تغییراتی در ترکیب میکروبیوتای روده در پاسخ به فعالیت بدنی می‌شود (۳۰). فعالیت بدنی می‌تواند به کاهش استئاتوز کبدی و جلوگیری از پیشرفت آن کمک کند و به سلامت قلب و عروق و بهبود حساسیت به انسولین که از دلایل مهم مرگ و میر در این بیماران است کمک نیز کند. ساز و کارهای مختلفی برای تأثیرگذاری فعالیت بدنی بر کبد چرب غیر الکلی پیشنهاد شده است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان کاهش مقاومت به انسولین، کاهش ذخایر چربی احشایی و محیطی و افزایش برداشت اسیدهای چرب را نام برد (۳۱). TGF-β نقش کلیدی در بازسازی هیپرتروفیک و فیبروتیک قلب با واسطه رشد کاردیومیوسیت، فعال شدن فیبروبلاست و رسوب ماتریکس خارج سلولی ایفا می‌کند (۳۲). انواع مختلفی از مولکول‌ها به‌عنوان فعال کننده‌های TGF-β توصیف شده‌اند. پروتئازها از جمله پلاسمین، ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ و ۹ قادر به فعال کردن TGF-β هستند که به وسیله جفت شدن تجزیه ماتریکس خارج سلولی با فعال شدن مکانیسم‌های مولکولی که نقش اصلی در حفظ یکپارچگی و پایداری ماتریکس خارج سلولی دارد این کار را انجام می‌دهند. ترومبوسپوندین-۱ (TSP-1) یک فعال کننده کلیدی TGF-β است که با برهم زدن برهم‌کنش‌های غیرکووالانسی بین پپتید مرتبط با زمان تأخیر (LAP) و مولکول TGF-β عمل می‌کند. تولید گونه‌های فعال اکسیژن و یک محیط اسیدی ملایم نیز قادر به القای فعال‌سازی TGF-β هستند (۳۳). سیستم رنین-آنژیوتانسین (RAS) به طور قابل توجهی در پاسخ به اضافه بار همودینامیک فعال می‌شود و تولید موضعی آنژیوتانسین II به طور مستقیم از طریق پاسخ‌های سلولی در سلول‌های قلب و سلول‌های بینابینی تحریک می‌شود. آنژیوتانسین II از طریق فعل و انفعالاتی که گیرنده آنژیوتانسین نوع I (AT1) را در بر می‌گیرد، اثرات محرک رشد را بر روی کاردیومیوسیت‌ها اعمال می‌کند و تکثیر فیبروبلاست و بیان پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی را تحریک می‌کند. شواهد گسترده حاکی از ارتباط مستقیم عملکردی بین سیستم RAS و مسیر TGF-β است که نشان می‌دهد TGF-β1 در پایین دست آنژیوتانسین II عمل می‌کند. تحریک آنژیوتانسین II بیان mRNA و پروتئین TGF-β1 را توسط کاردیومیوسیت‌ها و فیبروبلاست‌های قلبی القا می‌کند. علاوه بر این، آنژیوتانسین II بیان اندوگلین را در فیبروبلاست‌های قلبی و پاسخ آن‌ها را به واسطه اعمال فیبروژنیک TGF-β افزایش می‌دهد. درمان با مهارکننده‌های آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین یا مسدودکننده‌های گیرنده AT1 به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش سطح TGF-β1 در قلب هیپرتروفی و انفارکتوس شده می‌شود که نشان دهنده القای TGF-β در میوکارد بازسازی‌شده است و حداقل تا حدی از طریق سیگنال‌های آنژیوتانسین II

میانجی‌گری می‌شود (۳۴).

مسیر سیگنالینگ Apelin / APJ /TGF-β1/CTGF در این بررسی نقش ویژه‌ای دارد. از آنجایی که پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنسوس خواص ضد التهابی دارد، با بهبود میکروبیوتای طبیعی روده و کاهش متابولیت‌های ناشی از آن (SCFAs ،TMAO،LPS) به کاهش التهاب و کاهش آنزیم‌های کبدی کمک کرده و از پیشرفت استئاتوزیس جلوگیری می‌کند. همچنین با تولید پپتایدهای مهار کننده فعالیت آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE) از فعالیت سیستم رنین-آنژیوتانسین جلوگیری به عمل می‌آورد و از فیبروز قلبی جلوگیری می‌کند (۳۵). فعالیت بدنی تناوبی شدید (HIIT) باعث کاهش التهاب، استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد می‌گردد. همچنین فعالیت بدنی تناوبی شدید باعث کاهش مقاومت به انسولین می‌شود. فعالیت بدنی تناوبی شدید میزان برداشت از ذخایر چربی را افزایش داده و باعث بهبود پروفایل لیپیدی، افزایش بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب، بهبود متابولیسم انرژی و کاهش سطح آنزیم‌های کبدی می‌گردد. خود این تمرینات با افزایش مصرف اسیدهای چرب ناشی از میکروبیوتای روده به بهبود آن کمک می‌کند. همچنین فعالیت بدنی با کاهش آنژیوتانسین II باعث تنظیم فعالیت سیستم RAS، تنظیم تولید نیتریک اکساید (NO)، فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز القایی (eNOS) می‌شود و مانع از هترودیمرازیسیون AT1 با گیرنده آپلین (APJ) شده و از بیان مسیر TGF-β1 جلوگیری می‌کند (۳۶). یکی از مسیرهای سیگنالینگ درگیر در بحث استئاتوزیس و فیبروز قلبی مسیر سیگنالینگ Apelin / APJ /TGF-β1 CTGF / است که ارتباط تنگاتنگی با سیستم RAS دارد. فعالیت بدنی HIIT باعث کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش رادیکال‌های آزاد، بهبود پروفایل لیپیدی، کاهش حساسیت به انسولین، کاهش آسیب به سلول‌های قلبی و کاهش فشار خون می‌شود. از سوی دیگر مصرف پروبیوتیک ها با کاهش سطح رادیکال‌های آزاد، کاهش التهاب، کاهش استرس اکسیداتیو و تولید مهارکننده آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE) مانع از هترودیمرازیسیون AT1 با APJ می‌شود، در نتیجه مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنسوس جی جی به همراه تمرینات تناوبی شدید از بیان این مسیر جلوگیری کرده و مانع از فیبروز شدن سلول‌های قلبی می‌شود (۳۷).

محدودیت‌هایی نیز در مطالعه‌ی حاضر وجود داشت که ازجمله می‌توان به عدم بررسی سایر ژن‌های درگیر در مسیر سیگنال دهی از جمله CTGF و عوامل التهاب قلبی مانند تروپونین و پروتئین واکنشگر سی (CRP) اشاره کرد. از نتایج این تحقیق می‌توان به استفاده از آن در صنعت داروسازی و کمک به فیزیولوژیست‌های ورزشی در شناخت این مسیر سیگنالینگ و کمک به افراد جامعه و ورزشکاران در درمان این قبیل بیماری‌ها اشاره کرد. برای شناخت بهتر اثرات پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنسوس و تمرینات HIIT بهتر است از دوزهای متفاوت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس و مدت زمان‌های کمتر تمرین نیز برای پژوهش‌های بعدی استفاده شود. اگر چه انجام تمرینات تناوبی شدید به همراه مصرف پروبیوتیک در موش‌ها منجر به کاهش بیان ژن TGF-β1 شد، ولی پیشنهاد انجام تمرینات تناوبی شدید به همراه مصرف پروبیوتیک در جامعه انسانی، منوط به انجام تحقیقات بیشتر است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل استخراج از رساله نویسنده اول بوده که در تاریخ ۲۵ بهمن ۱۴۰۰ به شماره ۱۶۲۵۶۱۵۸۶ تصویب شده است و از تمامی نویسندگان و همکاران در نوشتن این مقاله تشکر می‌شود.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این مطالعه هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Youngster I, Sauk J, Pindar C, Wilson RG, Kaplan JL, Smith MB, et al. Fecal microbiota transplant for relapsing clostridium difficile infection using a frozen inoculum from unrelated donors: A randomized, open-label, controlled pilot study. Clinical Infectious Diseases. 2014; 58(11): 1515-22. DOI:10.1093/cid/ciu135
2. Vagvala SH, O'Connor SD. Imaging of abnormal liver function tests. Clinical liver disease. 2018; 11(5): 128-34. DOI: 10.1002/cld.704
3. Koseki M. Nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease. Cardio-Hepatology: Elsevier; 2023. 11-6. DOI:10.1016/B978-0-12-817394-7.00011-5
4. Chaudhury CS, Purdy JB, Liu CY, Morse CG, Stanley TL, Kleiner D, Hadigan C. Unanticipated increases in hepatic steatosis among human immunodeficiency virus patients receiving mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone for non-alcoholic fatty liver disease. Liver International. 2018; 38(5): 797-802. DOI:10.1111/liv.13734
5. Biernacka A, Dobaczewski M, Frangogiannis NG. TGF-β signaling in fibrosis. Growth Factors. 2011; 29(5): 196-202. DOI:10.3109/08977194.2011.595714
6. Liu D, Wang K, Li K, Xu R, Chang X, Zhu Y, et al. Ets-1 deficiency alleviates nonalcoholic steatohepatitis via weakening TGF-β1 signaling-mediated hepatocyte apoptosis. Cell Death & Disease. 2019; 10(6): 458. DOI:10.1038/s41419-019-1672-4
7. Kuzu N, Metin K, Dagli AF, Akdemir F, Orhan C, Yalniz M, et al. Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. Mediators of Inflammation. 2007; 2007. DOI:10.1155/2007/36381
8. Tang WW, Li DY, Hazen SL. Dietary metabolism, the gut microbiome, and heart failure. Nature Reviews Cardiology. 2019; 16(3): 137-54. DOI:10.1038/s41569-018-0108-7
9. Jin L, Shi X, Yang J, Zhao Y, Xue L, Xu L, Cai J. Gut microbes in cardiovascular diseases and their potential therapeutic applications. Protein & Cell. 2021; 12(5): 346-59. DOI:10.1007/s13238-020-00785-9
10. Le Roy T, Llopis M, Lepage P, Bruneau A, Rabot S, Bevilacqua C, et al. Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. Gut. 2013; 62(12): 1787-94. DOI:10.1136/gutjnl-2012-303816
11. Henao-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, et al. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. Nature. 2012; 482(7384): 179-85. DOI:10.1038/nature10809
12. Tang WW, Wang Z, Kennedy DJ, Wu Y, Buffa JA, Agatisa-Boyle B, et al. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide (TMAO) pathway contributes to both development of renal insufficiency and mortality risk in chronic kidney disease. Circulation Research. 2015; 116(3): 448-55. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.116.305360
13. García-Castillo V, Sanhueza E, McNerney E, Onate SA, García A. Microbiota dysbiosis: A new piece in the understanding of the carcinogenesis puzzle. Journal of Medical Microbiology. 2016; 65(12): 1347-62. DOI:10.1099/jmm.0.000371
14. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American association for the study of liver diseases. Hepatology. 2018; 67(1): 328-57. DOI:10.1002/hep.29367
15. Bacchi E, Negri C, Targher G, Faccioli N, Lanza M, Zoppini G, et al. Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease (the RAED2 Randomized Trial). Hepatology. 2013; 58(4): 1287-95. DOI:10.1002/hep.26393
16. Kallio KE, Hätönen KA, Lehto M, Salomaa V, Männisto S, Pussinen PJ. Endotoxemia, nutrition, and cardiometabolic disorders. Acta Diabetologica. 2015; 52: 395-404. DOi:10.1007/s00592-014-0662-3
17. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sciences. 2006; 79(11): 1100-7. DOI:10.1016/j.lfs.2006.03.021
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. The American Journal of Pathology. 2011; 179(6): 2866-75. DOI:10.1016/j.ajpath.2011.08.039
19. Kalaki-Jouybari F, Shanaki M, Delfan M, Gorgani-Firouzjae S, Khakdan S. High-intensity interval training (HIIT) alleviated NAFLD feature via miR-122 induction in liver of high-fat high-fructose diet induced diabetic rats. Archives of Physiology and Biochemistry. 2020; 126(3): 242-9. DOI:10.1080/13813455.2018.1510968
20. Deutsch E. The declaration of helsinki revised by the world medical organisation, Edinburgh 2000. Victoria University of Wellington Law Review. 2001; 32(3): 633-72. DOI: 10.26686/vuwlr.v32i3.5881
21. Kishtmand, Zahra, Alizadeh, Ghazaleh. The effect of lactobacillus casei and bifidobacterium lactis probiotics on expression of RAGE and TGFβ genes in kidney tissue of diabetic rats. Journal of Developmental Biology. 2022; 14(1): 1-8. DOI: 10.30495/jdb.2022.689251
22. Lombardi F, Augello FR, Artone S, Bahiti B, Sheldon JM, Giuliani M, et al. Efficacy of probiotic Streptococcus thermophilus in counteracting TGF-β1-induced fibrotic response in normal human dermal fibroblasts. J Inflamm (Lond). 2022; 19(1):27. DOI:10.1186/s12950-022-00324-9
23. Moludi J, Saiedi S, Ebrahimi B, Alizadeh M, Khajebishak Y, Ghadimi SS. Probiotics supplementation on cardiac remodeling following myocardial infarction: A single-center double-blind clinical study. J Cardiovasc Transl Res. 2021; 14(2): 299-307. DOI: 10.1007/s12265-020-10052-1
24. Chen MM, Lam A, Abraham JA, Schreiner GF, Joly AH. CTGF expression is induced by TGF-β in cardiac fibroblasts and cardiac myocytes: A potential role in heart fibrosis. J Mol Cell Cardiol. 2000; 32(10): 1805-19. DOI:10.1006/jmcc.2000.1215
25. Golbashi R, Gaini A, Kordi M R, Abutaleb N, Qardashi Afosi A. Effect of one period of high-intensity interval training on

myocardial collagen-1 and TGF-Î²1 and cardiac function in post ischemia-reperfusion rats. 2018; 26(2): 65-74. URL: https://daneshvarmed.shahed.ac.ir/article_1836.html?lang=en

26. Godarzi F, Nikbakht H, Abednatanzi H, Ebrahim K, Ghazalian F. Comparison the effect of aerobic and resistance training on some oxidative parameters and TGF-β in cardiac tissue of elderly rats. RJMS 2020; 27(3): 93-100. URL: http://rjms.iums.ac.ir/article-1-6109-en.html
27. Habibian M, Khosravi M. The effect of 8 weeks regular swimming exercise on the cardiac levels of matrix mettaloproteinase-2 and transforming growth factor-B1 in diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism. 2016; 15(2): 67-74. URL: http://ijdld.tums.ac.ir/article-1-5342-en.html
28. Habibian M, Asadi M A. The combined effects of regular swimming exercise and garlic extract on the some of the mediator growth factors on the cardiac angiogenesis and fibrosis in aged Rats. Pars Journal of Medical Sciences. 2015; 13(4): 39-49. URL: https://jmj.jums.ac.ir/article_701723.html?lang=en
29. Mohammadnezhad G, Matin Homaee H, Ghazalian F. Effect of 6 weeks of aerobic training on TGF-B1, myostatin and matrix metalloproteinase 9 genes expression in the tendon of fast- and slow-twitch muscles of male wistar rats. J Arak Uni Med Sci 2020; 23(3): 278-91. DOI:10.32598/jams.23.3.5849.2
30. Vallianou N, Stratigou T, Christodoulatos GS, Dalamaga M. Understanding the role of the gut microbiome and microbial metabolites in obesity and obesity-associated metabolic disorders: current evidence and perspectives. Curr Obes Rep. 2019; 8(3): 317-32. DOI: 10.1007/s13679-019-00352-2
31. Papagianni M, Sofogianni A, Tziomalos K. Non-invasive methods for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. World J Hepatol. 2015; 7(4): 638–48. DOI: 10.4254/wjh.v7.i4.638
32. Li Y, Fan W, Link F, Wang S, Dooley S. Transforming growth factor β latency: A mechanism of cytokine storage and signalling regulation in liver homeostasis and disease. JHEP Rep. 2021; 4(2): 100397. DOI:10.1016/j.jhepr.2021.100397
33. Murphy-Ullrich JE, Poczatek M. Activation of latent TGF-beta by thrombospondin-1: mechanisms and physiology. Cytokine Growth Factor Rev. 2000; 11(1-2): 59-69. DOI:10.1016/S1359-6101(99)00029-5
34. Bujak M, Frangogiannis NG. The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling. Cardiovasc Res. 2007; 74(2): 184-95. DOI:10.1016/j.cardiores.2006.10.002
35. Lancaster GI, Febbraio MA. The immunomodulating role of exercise in metabolic disease. Trends Immunol. 2014; 35(6): 262-9. DOI:10.1016/j.it.2014.02.008
36. Fealy CE, Haus JM, Solomon TP, Pagadala M, Flask CA, McCullough AJ, Kirwan JP. Short-term exercise reduces markers of hepatocyte apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease. J Appl Physiol (1985). 2012; 113(1):1-6. DOI:10.1152/japplphysiol.00127.2012
37. Zhong J-C, Zhang Z-Z, Wang W, McKinnie SM, Vederas JC, Oudit GY. Targeting the apelin pathway as a novel therapeutic approach for cardiovascular diseases. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2017; 1863(8): 1942-50. DOI:10.1016/j.bbadis.2016.11.007

Military Caring Sciences **Original Article**

OPEN ACCESS

Design and Psychometric properties of the happy and stable marriage questionair

Jamalnik. M[1]
Falsafinejad. M R[2]
Khodabakhshi-Koolaee. A[3]

1- Counseling Department, School of Humanities and Social Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Assessment and Measurement Department, School of Psychology and Educational Sciences, Allameh Tabataba'i University, Tehran, Iran, email: falsafinejad@atu.ac.ir

3- Psychology and Education Sciences Department, School of Humanities, Khatam University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Introduction: The growth and development of any society are closely tied to the well-being and stability of its families—an outcome that hinges on informed and intentional marriages.

Objective: This study aimed to design and evaluate the psychometric properties of the "Sustainable and Fulfilling Marriage Questionnaire."

Materials and Methods: This mixed-methods research was conducted in 2017 on 280 couples from Qom province, Iran, over three phases. In the first phase, using a narrative inquiry approach and purposive sampling, in-depth interviews were conducted with 13 satisfied couples. In the second phase, thematic analysis was employed to extract key themes and generate an initial item pool. In the third phase, the psychometric properties of the questionnaire—including face validity, content validity, construct validity, and reliability—were assessed. Construct validity was evaluated through exploratory and confirmatory factor analyses, as well as concurrent criterion validity. Reliability was examined using Cronbach's alpha, split-half reliability, and inter-item correlations between odd and even items.

Results: Six key themes emerged from the qualitative phase: "individual characteristics," "marital expectations," "communication factors," "family background," "religious compatibility," and "conflict resolution." These formed the basis for a preliminary 150-item questionnaire. After psychometric evaluation and refinement, the final version comprised 55 items. Factor analysis supported a six-factor structure, accounting for 68.82% of the total variance. Cronbach's alpha for the full questionnaire was 0.89, with subscale values ranging from 0.68 to 0.89. The Spearman-Brown split-half coefficient was 0.87 for the total scale and ranged from 0.64 to 0.83 for individual subscales.

Conclusion: The Sustainable and Fulfilling Marriage Questionnaire demonstrated strong psychometric properties and is a practical tool for use in family and marital studies, with straightforward scoring and interpretation.

Keywords: Couple relationship, Marriage, Psychometric, Questionnaire

Cite this article: Jamalnik M, Falsafinejad. M R, Khodabakhshi-Koolaee A. Design and Psychometrics Questionnaire of Happy and Stable Marriage. Military Caring Sciences. 2025; 12 (1):77-93.

Received: 2023/08/06 Received in revised form: 2023/12/18 Accepted: 2023/12/13 Published: 2025/03/30

©The Author(s)

Publisher: Aja University of Medical Sciences