ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۳۰، شماره ۵، آذر و دی (شماره پی در پی ۱۷۲)

بررسی میزان بیان ژن INF-β در بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوزیس همراه با مصرف پروبیوتیک

منصور نوری [۱]، فاطمه رستم خانی [۱*]، حسین شیروانی [۲]

[۱]گروه زیست شناسی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، [۲]مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج)، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۳/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به وجود شواهدی مبتنی بر ارتباط بین مصرف پروبیوتیک‌ها و بیماری کبد چرب غیر الکلی و هم‌چنین نقش مسیرهای التهابی در این زمینه، هدف از این مطالعه تعیین و بررسی میزان بیان ژن INF-β در بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوزیس همراه با مصرف پروبیوتیک بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۶ در انجام شد. ۳۲ سر موش آزمایشگاهی نژاد ویستار به طور تصادفی در ۴ گروه کنترل سالم، کنترل استئاتوزیس، پروبیوتیک سالم و پروبیوتیک استئاتوزیس(۸ سر) قرار گرفتند. برای مدل سازی کبد چرب از داروی تتراسایکلین به مدت ۷ روز به صورت گاواژ استفاده شد. هم‌چنین از گاواژ 10^9 CFU/ml لاکتوباسیلوس رامنسوس به صورت ۵ روز در هفته به مدت ۵ هفته به عنوان القای رپروبیوتیک استفاده شد. سطح سرمی اینترفرون بتا بعد از کشته شدن حیوانات جمع‌آوری شد و مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که شاخص اینترفرون بتا در گروه استئاتوزیس(میانگین ۷/۱±۸۶/۹۲) نسبت به گروه کنترل سالم(میانگین ۱/۰±۰۷/۰۳۱) به طور معنی‌داری بیشتر بود($p<0/001$). این یافته در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک نیز مشاهده شد، به طوری که سطح اینترفرون بتا در گروه پروبیوتیک استئاتوزیس(میانگین ۲/۱±۳۰/۰۹) در مقایسه با گروه کنترل استئاتوزیس(میانگین ۷/۱±۸۶/۹۲) کاهش معنی‌داری نشان داد($p<0/001$).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این مطالعه، مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوس باعث تعدیل شاخص التهابی اینترفرون بتا در موش‌های مبتلا به کبد چرب استئاتوزیس می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استئاتوزیس، اینترفرون بتا، پروبیوتیک‌ها، لاکتوباسیلوس رامنوس

* **نویسنده مسئول**: **فاطمه رستم خانی**، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، گروه زیست شناسی.
Email: Shirinrostamkhani@yahoo.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می شوند."

مقدمه

بیماری کبد چرب غیر الکلی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن کبدی و یکی از چالش برانگیزترین مشکلات بهداشتی و درمانی در یک قرن اخیر است(۱). به رغم تلاش‌های صورت گرفته و ظهور مارکرهای مولکولی متعدد، هیچ درمان مطمئنی برای کبد چرب غیرالکلی گزارش نشده است. به همین دلیل جست و جو برای استراتژی‌های جدید، یکی از اولویت‌های پژوهشی در این حوزه بوده که اخیراً روی نقش التهاب و مارکرهای التهابی و میکروبیولوژیکی متمرکز بوده‌اند(۲). بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که برخی ریسک فاکتورها مانند؛ دیابت، چاقی که با التهاب و مکانیسم های التهابی مرتبط هستند، با تغییر الگوی میکروبیوم روده کوچک می‌توانند زمینه‌ساز اختلال در متابولیسم چربی‌ها و کبد چرب شوند(۳). اگرچه ارتباط بین پاتولوژی کبد چرب غیر الکلی و میکروبیوم روده هنوز مشخص نیست، اما به نظر می‌رسد که نقش التهاب و پاسخ‌های التهابی کمرنگ نیست(۴). معمولاً سیستم گوارشی در مواجهه با پاتوژن‌های گوارشی، سایتوکاین‌های التهابی و پیش‌التهابی آزاد می کند(۵). هم‌چنین براساس بررسی‌های قبلی، القای استرس اکسیداتیو، پاسخ‌های التهابی و وضعیت پرولیپوژنیک در بروز کبد چرب غیرالکلی مؤثر بوده‌اند(۶).

تغییر در سبک زندگی و رژیم غذایی می‌تواند یک عامل آغازگر تغییرات التهابی و در نهایت بروز علایم بیماری کبد چرب شود(۸ و۷). به عنوان مثال سطح سرمی بالای قندهای ساکاروز و فروکتوز می‌تواند زمینه‌ساز پاسخ‌های التهابی شود، زیرا بالا بودن بیشتر این فاکتورها در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی دیده شده است(۹).

پروبیوتیک‌ها در مقدار کافی برای سلامت سیستم گوارشی فرد ضروری است، زیرا این میکروارگانیسم در روده انسان به عنوان یک«همیار» زندگی می‌کنند(۱۰). پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده و بدون خطر، فوائد زیادی برای میزبان خود دارند و می‌توانند عملکرد سیستم ایمنی را بهبود بخشیده و نیز در کنترل اختلالات متابولیک مختلفی مانند دیابت ملیتوس(۱۱) و استئوپروز(۱۲)کاربرد دارند. بررسی‌های مختلف، نقش پروبیونیک‌هایی مانند لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها را در کنترل کبد چرب غیرالکلی ناشی از فروکتوز گزارش کرده‌اند(۱۳). لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوس با مهار پاتوژن‌های متصل به دیواره مجاری گوارشی، زمینه‌ساز کاهش سطح فاکتور ضد توموری آلفا شده‌اند که این یافته در مورد بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی قوی‌تر بوده است(۱۴). تأثیر پروبیوتیک‌ها روی برخی بیماری‌ها به فاکتورهای مختلفی مانند گونه میکروبی، غلظت پروبیوتیک‌ها، نحوه مصرف، سن و رژیم غذایی بستگی دارد(۱۵). خود میکروارگانیسم در این بین نقش اساسی دارد، زیرا نتایج پژوهش‌ها نشان داده که گونه‌های مختلف، نتایج متفاوت و گاهی متناقض همراه داشته‌اند(۱۶)، به

همین دلیل انتخاب بهترین پروبیوتیک با بیشترین بازدهی می‌تواند در بهبود طرح درمان بیماران مبتلا به کبد چرب کمک کننده باشد، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی میزان بیان ژن INF-β در بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوزیس همراه با مصرف پروبیوتیک بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۶ انجام شد، ۳۲ سر موش آزمایشگاهی نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای ۲۰±۲۲۰ گرمی، به طور تصادفی جهت شرکت در مطالعه انتخاب شدند، حیوانات در اتاق پرورش حیوانات و تحت شرایط محیطی مانند درجه حرارت ۲۰±۲ درجه سانتی‌گراد و با چرخه شبانه روزی ۱۲ ساعت نگه‌داری شدند. جهت ارتقای دقت آزمایش‌ها، قفس هر موش دو بار شست و شو و با اتانول ۹۶ درصد ضد عفونی می‌شد.

نمونه‌ها به طور تصادفی در ۴ گروه(هر گروه ۸ سر) شامل؛ کنترل سالم، کنترل مدل شده (استئاتوزیس)، پروبیوتیک سالم و پروبیوتیک مدل شده (استئاتوزیس) قرار گرفتند.

برای ایجاد مدل کبد چرب، داروی تتراسایکلین خوراکی با دوز ۱۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن(به صورت ۲ میلی‌لیتر آب) به مدت ۷ روز به موش‌ها به صورت گاواژ داده شد.

در گروه‌های سوم و چهارم جهت القای پروبیوتیک‌ها به مدت ۵ هفته و هر هفته ۵ روز (مجموعا ۲۵ روز) از 10^9 واحد کلونی به ازای هر میلی‌لیتر از باکتری لاکتوباسیلوس رامنسوس به صورت گاواژ استفاده شد(۱۷).

در پایان هفته پنجم موش‌های صحرایی مورد مطالعه در هر گروه با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و زایلوزین ۲ درصد با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. سپس بافت کبد موش‌ها جداسازی شده و بعد از شست و شو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب حاوی ۱/۸ مایع RNAlaterTM با نسبت ۲ به ۱ و ۲۰ درصد غوطه ور گردید.

استخراج RNA برای بررسی سطح بیان ژن INF-β انجام گرفت. بعد از استخراج و نگهداری RNA بررسی میزان بیان IF-β با استفاده از RT-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction) انجام گرفت.

پروبیوتیک باکتری لاکتوباسیلوس (PTCC ۱۶۳۷) به صورت لیوفیلیزه شده از ویال‌های استاندارد سازمان پژوهشی علمی و صنعتی ایران (تهران، ایران) خریداری شد. باکتری‌ها در محیط کشت MRS(زیستی گویا، تهران، ایران) غنی شده و با سیستئین HCL کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

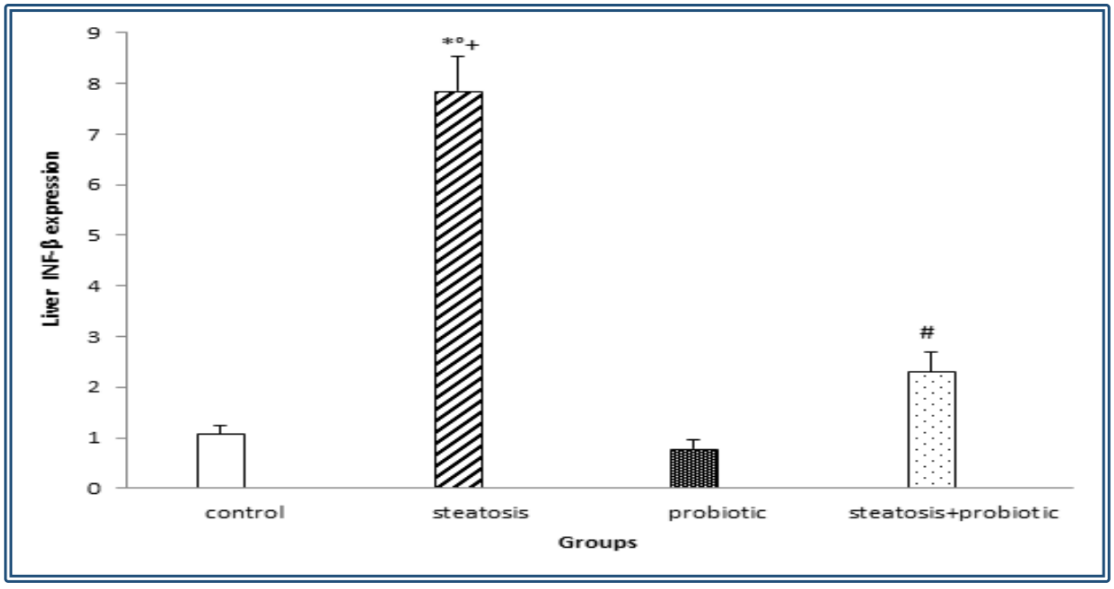
بر اساس نتایج آنالیز لیپیدی نمونه خون در مدل‌های القا شده با استئاتوزیس، سطح مارکرهای چربی خون مانند LDL، HDL، AST و ALT به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده بود(p<۰/۰۵).

نتایج مقایسه سطح اینترفرون بتا در چهار گروه با هم در جدول ۱ آمده است. نتایج آزمون One Way ANOVA نشان داد که سطح اینترفرون بتا در گروه‌ها با هم تفاوت معنی‌داری دارد(p<۰/۰۰۱، F=۶۵/۵۴۱)، نتایج مقایسه دو به دو با آزمون توکی نشان داد که سطح اینترفرون بتا در گروه عدم دریافت کننده پروبیوتیک که استئاتوزیس در آنها القا شده بود، به طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود(p<۰/۰۰۱)، اما در مورد سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری با هم دیده نشد(p>۰/۰۵).

در واقع در گروه دریافت کننده پروبیوتیک و القای مدل استئاتوزیس، سطح اینترفرون بتا به طور معنی‌داری نسبت به گروه عدم دریافت کننده پروبیوتیک‌ها کاهش پیدا کرده بود(p<۰/۰۵)(نمودار۱).

جدول ۱: مقایسه گروهی سطح اینترفرون بتا در موش‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین	انحراف معیار	مقایسه درون گروهی	مقایسه بین گروهی
کنترل سالم	۱/۰۷	۰/۴۳	۰/۰۰۱	A
کنترل استئاتوزیس	۷/۸۶	۱/۹۲		B
پروبیوتیک سالم	۰/۷۷	۰/۴۸		A
پروبیوتیک استئاتوزیس	۲/۳۰	۱/۰۹		A



شکل ۱: مقایسه درون گروهی سطح سرمی اینترفرون بتا

بحث

از آن جا استئاتوزیس به عنوان یک درجه خفیفی از بیماری کبد چرب (تجمع تری گلیسیرید در هپاتوسیت‌ها)شایع است و مهم‌ترین استراتژی‌های درمان برای این بیماری، تغییر سبک زندگی توأم با فعالیت جسمانی و تغذیه سالم است(۱)، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی میزان بیان ژن INF-β در بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوزیس همراه با مصرف پروبیوتیک بود.

در یک دهه اخیر، بررسی‌هایی روی پروبیوتیک‌ها، کانون توجه بسیاری از پژوهش‌ها بوده که دلیل آن نقش حفاظتی این ترکیب در بررسی‌های مختلف علیه کبد چرب غیرالکلی بوده است. نتایج یک مطالعه به وسیله داهای و همکاران نشان داد که پروبیوتیکی که حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی می‌باشد، پارامترهایی مانند گلوکز و تری گلیسرید خون را کاهش و سطح لیپوپروتئین با دانسیته ی بالا در سرم حیوانات مبتلا به سندروم متابولیک کاهش می‌دهد(۱۷). در این مطالعه به این دلیل از پروبیوتیک‌ها استفاده کردیم که جزء رژیم غذایی روزانه هستند و در لبنیات به فراوانی یافت می‌شوند. به عنوان مثال در طب سنتی از مصرف روزانه ماست در درمان برخی عوارض مانند استفراغ؛ بیماری کبد چرب و کاهش وزن استفاده شده است(۱۸). بیشتر مردم بر این باور هستند که لبنیات و رژیم غذایی مانند ماست و پنیر که حاوی پروبیوتیک‌ها هستند می‌توانند در پیشگیری از بیماری‌های داخلی موثر باشند و این دیدگاه تاکنون نیز پابرجا است(۱۹). بیشتر گونه پروبیوتیک‌ها را گونه ی میکروبی لاکتوباسیلوس تشکیل می‌دهند که در این مطالعه از لاکتوباسیلوس رامنوس به دلیل شرایط رشد با چالش کمتر و دقت بیشتر استفاده کردیم(۲۱-۲۰ و۱۲). گونه‌های لاکتوباسیلوس کاربرد فراوانی در جبران دیس بیوزیس گوارشی ناشی از اختلالات مانند کبد چرب غیرالکلی داشته اند و به همین دلیل می‌توانند به عنوان گزینه‌ای قابل توجه در درمان اختلالات لیپیدی خون استفاده شوند(۲۴-۲۲).

در این مطالعه از اندازه‌گیری سطح اینترفرون بتا به عنوان مارکر سنجش عملکرد ضد التهابی پروبیوتیک‌ها استفاده شد. یافته‌های حاضر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌ها در موش‌های صحرایی القا شده با پروبیوتیک‌ها باعث کاهش معنی‌دار سطح فاکتور اینترفرون بتا در موش‌های صحرایی شده است. این در حالی است که این تفاوت در مورد موش‌های مدل سازی نشده دیده نشده بود.

استرس اکسیداتیو یکی از مسیرهای مهم و اساسی در ایجاد کبد چرب غیرالکلی است(۲۵ و ۲۴) و نتایج مطالعه آذرنگ و همکاران(۲۶) نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌های گونه لاکتوباسیلوس گرفته شده از ماست محلی حوزه خلیج فارس، باعث کاهش معنی‌دار سطح مارکرهای استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی القا شده به کبد چرب غیراکلی

شده است(۲۷). استرس اکسیداتیو باعث تبدیل استئاتوهپاتیت به استئاتوزیس می‌شود(۱۸). در واقع استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد از فاکتورهای مؤثر در پاتولوژی های کبد و بافت چربی هستند(۲۹ و ۲۸).

نتایج مطالعه یان و همکاران نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌های حاوی گونه‌های بیفیدوباکتریوم آنیمالیس باعث کاهش معنی‌دار مارکرهای التهابی مانند Toll-like receptorها و فعال شدن مسیر ضد التهابی NF-kB در موش‌های صحرایی مدل‌سازی شده با کبد چرب شده است(۳۰)، لذا می‌توان نتیجه گرفت که پروبیوتیک‌ها از مسیرهای مختلف اثرات ضد التهابی خود را اعمال می‌کنند.

نتایج مطالعه لیانگ و همکاران نیز نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌های دو گونه لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم باعث کاهش معنی‌دار روند التهاب در مدل‌های موش القا شده با کبد چرب شده است، این اثر ضدالتهابی با کاهش سطح مارکرهای اینترلوکین ۱ بتا و اینترلوکین ۱۸ صورت گرفته است(۳۱). در واقع می‌توان نتیجه گرفت که از دیگر مکانیسم های اثر پروبیوتیک‌ها، کاهش سطح اینترلوکین‌ها و به تبع آن اثرات ضد التهابی در مدل‌های کبد چرب می‌باشد.

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که بیشتر اثرات پروبیوتیک‌ها در کنترل فاکتورهای لیپیدی خون و جلوگیری از پاتولوژی های کبدی، اثر ضدالتهابی این ترکیبات به واسطه مهار سایتوکاین‌های التهابی یا تحریک سایتوکاین های پیش التهابی می باشد.

از جمله محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم بررسی همزمان سایر مارکرهای التهابی مانند اینترلوکین‌ها و فاکتور نکروز تومور آلفا اشاره کرد. همچنین عدم امکان بررسی اثرات وابسته به دوز پروبیوتیک و مدت زمان طولانی‌تر مصرف، از دیگر محدودیت‌ها بود، لذا پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده، اثر پروبیوتیک در دوزها و بازه‌های زمانی مختلف بر روی طیف وسیع‌تری از سایتوکاین‌های التهابی و آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گیرد. هم چنین انجام بررسی‌های بالینی در این زمینه می‌تواند دیدگاه روشن‌تری در مورد کارایی پروبیوتیک‌ها در بیماران مبتلا به کبد چرب ارایه دهد

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه نشان داد که مصرف پروبیوتیک الکتوباسیلوس رامنسوس به مدت ۵ هفته در موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوزیس ناشی از تتراسایکلین، منجر به کاهش معنی‌دار سطح سرمی اینترفرون بتا می‌شود. این یافته حاکی از اثر تعدیل‌کنندگی ایمنی این پروبیوتیک و نقش بالقوه آن در کاهش التهاب مرتبط با بیماری کبد چرب غیرالکلی است. بنابراین، الکتوباسیلوس رامنسوس می‌تواند به عنوان یک استراتژی مکمل در کنار سایر روش‌های درمانی برای مدیریت عوارض التهابی کبد چرب مورد توجه قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج) و مراکز حیوانات علوم آزمایشگاهی و فیزیولوژی ورزش این دانشگاه، بابت اجرای بخش مداخله‌ایی پروژه، تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچگونه تعارض منافعی در خصوص این مقاله وجود ندارد.

حمایت مالی

تمام هزینه‌های این بخش از پروژه به وسیله فاطمه رستم‌خانی و منصور نوری تأمین گردید.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه برگرفته از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد از دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره)شهرری با همکاری دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج) و با کد اخلاق IR.BMSU.REC.1396.632 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

طراحی ایده و روش کار به وسیله فاطمه رستم خانی و حسین شیروانی، جمع آوری داده و تجزیه و تحلیل داده به و سیله فاطمه رستم‌خانی و منصور نوری، مدیریت پروژه تحت نظر حسین شیروانی، نگارش(پیش نویس) به وسیله منصور نوری و نگارش و ویرایش نهایی به وسیله فاطمه رستم‌خانی انجام شد.

REFERENCES

1.Stefan N, Häring HU, Cusi K. Non-alcoholic fatty liver disease: causes, diagnosis, cardiometabolic consequences, and treatment strategies. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2019; 7(4): 313–24.
2.Schnabl B, Brenner DA. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology* 2014; 146(6): 1513–24.
3.Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature 2012;* 490(7418): 55–60.
4. Chen P, Schnabl B. Host-microbiome interactions in alcoholic liver disease. *Gut and Liver* 2014; 8(3): 237–41.
5.Bai AP, Ouyang Q, Zhang W, Wang CH, Li SF. Probiotics inhibit TNF-*α*-induced interleukin-8 secretion of HT29 cells. *World Journal of Gastroenterology* 2004; 10(3): 455–7.
6.Valenzuela R, Videla LA. The importance of the long-chain polyunsaturated fatty acid n-6/n-3 ratio in development of non-alcoholic fatty liver associated with obesity. *Food & Function* 2011; 2(11): 644–8.
7.Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2010; 7(5): 251–64.
8.Gholami A, Dabbaghmanesh MH, Ghasemi Y, Montazeri-Najafabadi N. *Probiotics Ameliorate Pioglitazone-Associated Bone Loss in Diabetic Rats Preprint (Version 2)* 2020.
9.Hernandez-Rodas MC, Valenzuela R, Videla LA. Relevant aspects of nutritional and dietary interventions in non-alcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Sciences* 2015; 16(10): 25168–98.
10.Shenderov BA. Probiotic (symbiotic) bacterial languages. *Anaerobe* 2011; 17(6): 490–5.
11.Caesar R. Pharmacologic and nonpharmacologic therapies for the gut microbiota in type 2 diabetes. *Canadian Journal of Diabetes* 2019; 43(3): 224–31.
12.Montazeri-Najafabady N, Ghasemi Y, Dabbaghmanesh MH, Talezadeh P, Koohpeyma F, Gholami A. Supportive role of probiotic strains in protecting rats from ovariectomy-induced cortical bone loss. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 2019; 11(4): 1145–1154.
13.Wagnerberger S, Spruss A, Kanuri G, Stahl C, Schröder M, Vetter W, Bischoff S, et al. *Lactobacillus casei* Shirota protects from fructose-induced liver steatosis: a mouse model. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2013; 24(3): 531–8.
14.Ma J, Zhou Q, Li H. Gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: insights on mechanisms and therapy. *Nutrients* 2017; 9(10): 1124.
15.Ozdemir O. Various effects of different probiotic strains in allergic disorders: an update from laboratory and clinical data. *Clinical and Experimental Immunology* 2010; 160(3): 295–304.
16.McFarland LV, Evans CT, Goldstein EJC. Strain-specificity and disease-specificity of probiotic efficacy: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Medicine* 2018; 5: 124.
17.Yadav H, Jain S, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition* 2007; 23(1): 62–8.
18.Salehi M, Abolhasanzadeh Z, Kazemi A, Gholami A, Mohagheghzadeh A. Study of pathogen and probiotic microorganisms in Persian medicine drug combinations. *Journal of Islmic and Iranian Traditional Medicine* 2019; 9(4): 277–86.
19.Gholami A, Ghasemi Firoozabadi S, Ghasemi Y, Mohkam M. Mahvieh, an amazing nutraceutical bridge between traditional and modern diet. *Trends in Pharmaceutical Sciences* 2019; 5(2): 73–80.
20.Mohkam M, Rasoul-Amini S, Shokri D, Berenjian A, Rahimi F, Sadighi A., Ghasemi Y, et al. Characterization and *in vitro* probiotic assessment of potential indigenous *Bacillus* strains isolated from soil rhizosphere. *Minerva Biotechnologica.* 2016;28(1):19–28.
21.Mohkam M, Nezafat N, Berenjian A, Mobasher MA, Ghasemi Y, et al. Multifaceted toxin profile of *Bacillus* probiotic in newly isolated *Bacillus* spp. from soil rhizosphere. *Biologia* 2020; 75(2): 309–15.
22.Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouri R, Baker RD, Gill SR.,et al. Characterization of gut microbiomes in non-alcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology* 2013; 57(2): 601–9.
23.Mencarelli A, Cipriani S, Renga B, Bruno A, D'Amore C, Distrutti E, Fiorucci S, et al. VSL# 3 resets insulin signaling and protects against NASH and atherosclerosis in a model of genetic dyslipidemia and intestinal inflammation. *PLoS One* 2012; 7(9): e45425.

24.Mencarelli A, Distrutti E, Renga B, Cipriani S, Palladino G, Fiorucci S, et al. Probiotics modulate intestinal expression of nuclear receptor and provide counter-regulatory signals to inflammation-driven adipose tissue activation. *PLoS One* 2011; 6(7): e22978.
25.Sanches SCL, Ramalho LNZ, Augusto MJ, da Silva DM, Ramalho FS. Nonalcoholic steatohepatitis: a search for factual animal models. *BioMed Research International* 2015;574832: 13.
26.Tu LN, Showalter M R, Cajka T, Fan S, Pillai VV, Fiehn O, Selvaraj V, et al.. Metabolomic characteristics of cholesterol-induced non-obese non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Scientific Reports* 2017; 7(1): 6120
27.Azarang A, Farshad O, Ommati MM, Jamshidzadeh A, Heydari R, Abootalebi SN, Gholami A. Protective Role of Probiotic Supplements in Hepatic Steatosis: A Rat Model Study. Biomed Res Int 2020; 5487659.
28.Muriel P. Role of free radicals in liver diseases. *Hepatology International* 2009; 3(4): 526–36.
29.Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, French SW, Morimoto M, Nordmann R. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 1997; 25(2): 351–5.
30.Yan Y, Liu C, Zhao S, Wang X, Wang J, Zhang H, et al. Probiotic *Bifidobacterium lactis* V9 attenuates hepatic steatosis and inflammation in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *AMB Expr 2020;* 10: 101.
31.Liang Y, Lin C, Zhang Y, Deng Y, Liu C, Yang Q et al. Probiotic mixture of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* alleviates systemic adiposity and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease rats through Gpr109a and the commensal metabolite butyrate. *Inflammopharmacol* 2018; 26: 1051–5.

Effect of Probiotic (*Lacticaseibacillus rhamnosus*) on Hepatic INF-β Gene Expression in a Rat Model of Steatosis

Mansour Nouri[1], Fatemeh Rostamkhani[1*], Hossein Shirvani[2]

[1]Department of Biology YI.C, Islamic Azad University, Tehran, Iran, [2]Exercise Physiology Research Center, life Style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received Date: 10 Apr 2024 Accepted Date: 17 Sep 2025

Abstract

Background & aim: Given the evidence based on the association between probiotic consumption and non-alcoholic fatty liver disease, as well as the role of inflammatory pathways in this context, the aim of the present study was to determine and investigate the expression level of INF-β gene in the liver tissue of rats with steatosis along with probiotic consumption.

Methods: In the present experimental study conducted in 2017, thirty-two male Wistar rats were randomly divided into four groups (n=8 per group): healthy control, steatosis control, healthy probiotic, and steatosis probiotic. Hepatic steatosis was induced by oral administration of tetracycline (140 mg/kg) via gavage for seven days. The probiotic groups received *L. rhamnosus* (10^{9} CFU/ml) by gavage five days per week for five weeks. Liver *INF-β* gene expression levels were measured using real-time PCR. Data were analyzed using one-way ANOVA.

Results: The results indicated that the interferon beta index in the steatosis group (mean 7.86±1.92) was significantly higher than in the healthy control group (mean 1.07±0.031) ($p<0.001$). This finding was also observed in the groups receiving probiotics; so that the level of interferon beta in the probiotic steatosis group (mean 2.30±1.09) indicated a significant decrease compared to the steatosis control group (mean 7.86±1.92) ($p<0.001$).

Conclusion: Based on the findings of this study, consumption of the probiotic Lactobacillus rhamnosus modulates the inflammatory marker interferon beta in mice with fatty liver steatosis.

Keywords: Non-alcoholic Fatty Liver Disease, Steatosis, Interferon-beta, Probiotics, Lacticaseibacillus rhamnosus.

***Corresponding author: Rostamkhani F,** Department of Biology, YI.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Email: Shirinrostamkhani@yahoo.com

Please cite this article as follows: Effect of Probiotic (*Lacticaseibacillus rhamnosus*) on Hepatic INF-β Gene Expression in a Rat Model of Steatosis. Armaghane-danesh 2025; 30(5): 650- 659.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal