

The Effect of High- and Moderate-Intensity Aerobic Interventions on Gut Microbiome Diversity and Function: Investigation of Changes in Lactobacillus, Bifidobacterium, and Escherichia coli in Aged Mice

Arezoo. Kalantari¹, Saeed. Keshavarz^{2*}, Allahyar Arabmomeni¹, Leila. Sarrami¹

¹ Department of Sports Sciences, Na.C., Islamic Azad University, NajafAbad, Iran

² Department of Sports Sciences, Kho.C., Islamic Azad University, Khomeinishahr, Iran

* Corresponding author email address: saeed.keshavarz@iau.ac.ir

Article Info

Article type:

Original Research

How to cite this article:

Kalantari, A., Keshavarz, S., Arabmomeni, A., & Sarrami, L. (2025). The Effect of High- and Moderate-Intensity Aerobic Interventions on Gut Microbiome Diversity and Function: Investigation of Changes in Lactobacillus, Bifidobacterium, and Escherichia coli in Aged Mice. *Longevity*, 3(2), 1-15.

<https://doi.org/10.61838/kman.longevity.65>



© 2025 the authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0) License.

ABSTRACT

This study aimed to examine the effects of high-intensity (85–100% VO₂max) and moderate-intensity (70–75% VO₂max) aerobic training on microbial diversity (Shannon and Simpson indices) and populations of Lactobacillus, Bifidobacterium, and E. coli in aged mice with dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis. In this experimental, randomized controlled design, 32 male Wistar mice (18 months old) were divided into four groups (healthy control, colitis control, high-intensity exercise, and moderate-intensity exercise). Colitis was induced using DSS (2–3%) for 7 days. Aerobic training was performed for 8 weeks (five sessions per week) on a treadmill. Microbial diversity was evaluated using 16S rRNA sequencing, quantitative polymerase chain reaction (qPCR), and selective culture for Lactobacillus, Bifidobacterium, and E. coli. Data were analyzed using two-way ANOVA and independent t-tests ($p \leq .05$). Colitis led to a reduction in Shannon (2.5 ± 0.3) and Simpson (0.7 ± 0.1) indices, a decrease in Lactobacillus and Bifidobacterium, and an increase in E. coli ($p < .001$). Both high- and moderate-intensity aerobic exercise improved microbial diversity (Shannon: 3.2 ± 0.2 and 3.0 ± 0.2 , respectively), increased Lactobacillus and Bifidobacterium, and reduced E. coli ($p < .001$). High-intensity exercise demonstrated stronger effects ($p = .04$ for Lactobacillus). Aerobic training, particularly at high intensity, enhances gut microbiome diversity and bacterial balance in aged mice and may serve as a non-pharmacological strategy for managing intestinal inflammation.

Keywords: gut microbiome, aerobic exercise, colitis, aging, probiotic bacteria

Introduction

The gut microbiome is a complex community of microorganisms that plays a crucial role in human health, influencing digestion, immune regulation, and metabolism. Dysbiosis, an imbalance in the gut microbial ecosystem, is closely associated with chronic conditions such as obesity, type 2 diabetes, and inflammatory bowel diseases, affecting more than 30% of the elderly population (Shanahan et al., 2021). With aging, microbial diversity declines, beneficial bacteria such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* decrease, and potentially pathogenic species like *Escherichia coli* proliferate, exacerbating risks of age-related diseases (Vijay & Valdes, 2022). Aerobic exercise has emerged as a non-pharmacological intervention to improve gut health, yet the impact of varying intensities on the aging gut microbiome remains insufficiently explored (Aya et al., 2023; De Vos et al., 2022).

From a biological perspective, *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* contribute to the production of short-chain fatty acids such as butyrate, strengthening the intestinal barrier and promoting anti-inflammatory responses essential for healthy aging. Conversely, overgrowth of *E. coli* can trigger intestinal inflammation via lipopolysaccharide production and disrupt immune balance (Bolte et al., 2021; Huynh & Zastrow, 2023). Although prior studies have suggested exercise-induced benefits on gut microbiota, inconsistencies in methodology, including variability in exercise protocols and limited research using aged animal models, hinder clear understanding. Previous research has shown mixed outcomes: Yazdan Nasab et al. (2023) reported increased microbial diversity with exercise in older adults but did not analyze exercise intensity (Yazdan Nasab et al., 2023); Aya et al. (2023) confirmed improved microbial composition with physical activity but focused on humans rather than aged animal models (Aya et al., 2023); Conley et al. (2016) examined age-related microbial changes in mice without exercise (Conley et al., 2016); and Varghese et al. (2024) observed *Lactobacillus* enhancement with training in humans but not in elderly animal models (Varghese et al., 2024). Similarly, Zhong et al. (2021) found improved diversity in older women but did not investigate *E. coli* (Zhong et al., 2021), and Clauss et al. (2021) linked exercise to gut barrier function without an aging focus (Clauss et al., 2021). These gaps highlight the need for controlled studies to explore the dose–response relationship of aerobic exercise intensity on the gut microbiome in aging.

This study addressed these knowledge gaps by investigating the effects of high- (85–100% VO_2max) and moderate-intensity (70–75% VO_2max) aerobic training on microbial diversity and key bacterial populations (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *E. coli*) in aged mice with dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis. By focusing on an aging model and intensity-dependent responses, the research provides novel insights into how aerobic exercise can modulate gut health in older populations and informs non-pharmacological strategies for managing intestinal inflammation and promoting healthy aging (Shanahan et al., 2021).

Methods and Materials

This experimental, randomized controlled study used 32 aged male Wistar rats (18 months old, $\sim 500 \pm 50$ g) divided into four groups: healthy control, colitis control, high-intensity aerobic exercise, and moderate-intensity aerobic exercise. Colitis was induced in 24 rats by providing 2–3% dextran sulfate sodium (DSS) in drinking water for seven days, while the healthy control group received normal water. Aerobic exercise was performed on a treadmill for eight weeks, five sessions per week. High-intensity

training involved running at 85–100% VO_2max for 15–25 minutes per session, while moderate intensity consisted of 70–75% VO_2max for 30 minutes per session. All exercise programs included warm-up and cool-down phases to equalize total running distance.

After 48 hours from the last training session, fecal and intestinal samples were collected. Microbial diversity was analyzed using 16S rRNA sequencing (Illumina MiSeq), and the relative abundance of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *E. coli* was quantified via qPCR and selective culturing (MRS agar for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, MacConkey agar for *E. coli*). Statistical analyses included Shapiro–Wilk and Levene tests for normality and homogeneity of variance, followed by two-way ANOVA with Tukey’s post hoc comparisons and independent t-tests ($p \leq 0.05$).

Findings

DSS administration successfully induced colitis, evidenced by clinical symptoms such as weight loss, reduced food intake, and altered stool consistency. The colitis control group exhibited significant decreases in microbial diversity compared to healthy controls. Shannon diversity index dropped from 3.5 ± 0.2 in healthy controls to 2.5 ± 0.3 in colitis controls, while Simpson index decreased from 0.9 ± 0.1 to 0.7 ± 0.1 . Both exercise groups demonstrated recovery of diversity: high-intensity training raised Shannon to 3.2 ± 0.2 and Simpson to 0.85 ± 0.1 ; moderate intensity improved Shannon to 3.0 ± 0.2 and Simpson to 0.8 ± 0.1 .

Analysis of bacterial populations showed pronounced dysbiosis in colitis controls, with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* significantly reduced (7.0 ± 0.3 and $6.7 \pm 0.4 \log_{10}$ copies/g, respectively) and *E. coli* elevated ($7.0 \pm 0.3 \log_{10}$ copies/g). Aerobic training reversed these trends. High-intensity exercise increased *Lactobacillus* to 7.9 ± 0.2 and *Bifidobacterium* to $7.6 \pm 0.3 \log_{10}$ copies/g while reducing *E. coli* to 6.3 ± 0.2 . Moderate training produced similar but slightly smaller effects (*Lactobacillus* 7.7 ± 0.2 , *Bifidobacterium* 7.4 ± 0.3 , *E. coli* 6.5 ± 0.2). ANOVA confirmed significant differences among groups ($p < 0.001$). Direct comparison between exercise intensities revealed that high intensity had stronger effects on *Lactobacillus* ($p = 0.04$) and Shannon diversity ($p = 0.05$), while differences in *Bifidobacterium*, *E. coli*, and Simpson index were not statistically significant ($p > 0.05$).

Discussion and Conclusion

This study demonstrated that aerobic exercise, particularly at high intensity, substantially improved gut microbial diversity and restored the balance of beneficial and harmful bacteria in aged mice with colitis. Both high- and moderate-intensity training reversed DSS-induced dysbiosis, but high intensity produced superior improvements in Shannon diversity and *Lactobacillus* abundance. These results support the hypothesis that structured aerobic exercise can be a potent non-pharmacological approach for mitigating gut inflammation and age-related microbial decline ([Aya et al., 2023](#)).

The findings align with previous research linking physical activity to increased microbial diversity and enhanced intestinal barrier function ([Allen et al., 2018](#); [Aya et al., 2023](#); [Huynh & Zastrow, 2023](#)). By showing that high-intensity exercise exerts greater microbial benefits, this work clarifies previously inconsistent results regarding exercise dose–response relationships. It also fills critical gaps identified in earlier studies, which often focused on younger models ([Conley et al., 2016](#)) or failed to examine *E. coli* and specific probiotic species ([Varghese et al., 2024](#); [Zhong et al., 2021](#)). Mechanistically, improved diversity may stem from enhanced gut perfusion, reduced oxidative stress, and stimulation of short-chain fatty acid

production by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. Lower *E. coli* levels likely result from competitive exclusion and pH changes favorable to beneficial taxa.

Clinically, these findings suggest that aerobic exercise protocols can be integrated into preventive and therapeutic strategies for elderly individuals at risk of or suffering from inflammatory bowel conditions. High-intensity aerobic training, when safely monitored, may maximize microbiome resilience and reduce inflammation. The study also highlights the potential for personalized exercise prescriptions aimed at optimizing gut health during aging.

In summary, this research shows that both high- and moderate-intensity aerobic exercise counteract colitis-associated dysbiosis in aged mice, with high intensity offering superior benefits. These insights advance understanding of how exercise modulates the aging gut microbiome and provide a foundation for non-pharmacological interventions to improve gastrointestinal and overall health in elderly populations.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest in conducting the present study.

Acknowledgments

We sincerely thank all the elderly participants who, despite the numerous challenges we faced, supported us in completing this research.

Authors' Contributions

All authors played an equal role in writing this article.

Ethical Considerations

This study was conducted in compliance with all ethical principles in human research.

Data Transparency

The data and sources used in this study will be made available upon request from the corresponding author, in compliance with copyright regulations.

Funding

The authors declare that no financial support was received for the research and/or publication of this article.

تأثیر مداخلات هوازی با شدت بالا و متوسط بر تنوع و عملکرد میکروبیوم روده: بررسی تغییرات *Lactobacillus*، *Bifidobacterium* و *Escherichia coli* در موش‌های مسن

آرزو کلانتری^۱، سعید کشاورز^{۲*}، الله یار عرب مومنی^۱، لیلا صرامی^۱

۱. گروه علوم ورزشی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران
۲. گروه علوم ورزشی، واحد خمینی شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، خمینی شهر، ایران

*ایمیل نویسنده مسئول: saeed.keshavarz@iau.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله

پژوهشی/اصیل

نحوه استناد به این مقاله:

کلانتری، آرزو، کشاورز، سعید، عرب مومنی، الله یار، و صرامی، لیلا. (۱۴۰۴). تأثیر مداخلات هوازی با شدت بالا و متوسط بر تنوع و عملکرد میکروبیوم روده: بررسی تغییرات *Lactobacillus*، *Bifidobacterium* و *Escherichia coli* در موش‌های مسن. *فصلنامه طول عمر*، ۳(۲)، ۱-۱۵.



© ۱۴۰۴ تمامی حقوق انتشار این مقاله متعلق به نویسنده است. انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با گواهی (CC BY-NC 4.0) صورت گرفته است.

این مطالعه با هدف بررسی اثرات تمرینات هوازی با شدت بالا (۷۵٪ VO_{2max} تا ۸۵٪ VO_{2max}) و متوسط (۷۰٪ VO_{2max}) بر تنوع میکروبی (شاخص‌های شانون و سیمپسون) و جمعیت *Lactobacillus*، *Bifidobacterium* و *E. coli* در موش‌های مسن با کولیت القاشده با دکستران سولفات سدیم (DSS) انجام شد. در این مطالعه تجربی با طراحی تصادفی کنترل‌شده، ۳۲ موش نر ویستار (سن ۱۸ ماه) به چهار گروه (کنترل سالم، کنترل کولیت، ورزش شدت بالا، و ورزش شدت متوسط) تقسیم شدند. کولیت با DSS (۲-۳٪) به مدت ۷ روز القا شد. تمرینات هوازی ۸ هفته (۵ جلسه در هفته) روی تردمیل اجرا شد. تنوع میکروبی با توالی‌یابی ۱۶S rRNA و qPCR و کشت انتخابی برای *Lactobacillus*، *Bifidobacterium* و *E. coli* ارزیابی شد. داده‌ها با ANOVA دوطرفه و آزمون t مستقل تحلیل شدند ($p \leq 0.05$). کولیت باعث کاهش شاخص‌های شانون (2.5 ± 0.3) و سیمپسون (0.7 ± 0.1)، کاهش *Lactobacillus* و *Bifidobacterium*، و افزایش *E. coli* شد ($p < 0.001$). ورزش شدت بالا و متوسط تنوع را بهبود بخشید (شانون: 3.2 ± 0.2 و 3.0 ± 0.2) و *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* را افزایش و *E. coli* را کاهش داد ($p < 0.001$). شدت بالا اثرات قوی‌تری داشت ($p = 0.04$ برای *Lactobacillus*). تمرینات هوازی، به‌ویژه با شدت بالا، تنوع میکروبیوم و تعادل باکتریایی را در موش‌های مسن بهبود می‌بخشند و می‌توانند استراتژی غیر دارویی برای مدیریت التهاب روده باشند.

کلیدواژگان: میکروبیوم روده، ورزش هوازی، کولیت، سالمندی، باکتری‌های پروبیوتیک

مقدمه

میکروبیوم روده، شبکه‌ای پیچیده از میکروارگانیسم‌ها، نقش محوری در سلامت انسان ایفا می‌کند و بر فرآیندهای هضم، تنظیم ایمنی و متابولیسم تأثیر می‌گذارد. دیسبیوز یا عدم تعادل میکروبیوم با بیماری‌های مزمن مانند چاقی، دیابت نوع دوم و بیماری‌های التهابی روده مرتبط است و بیش از ۳۰ درصد سالمندان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Shanahan et al., 2021). با افزایش سن، تنوع میکروبی کاهش یافته و باکتری‌های مفید مانند *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* کم شده، در حالی که باکتری‌های بالقوه مضر مانند *Escherichia coli* افزایش می‌یابند، که خطر بیماری‌های مرتبط با پیری را تشدید می‌کند (Vijay & Valdes, 2022). ورزش هوازی به‌عنوان مداخله‌ای غیر دارویی برای بهبود سلامت روده مطرح شده است، اما تأثیر شدت‌های مختلف آن بر میکروبیوم در مدل‌های پیر کمتر بررسی شده است (Aya et al., 2023; De Vos et al., 2022).

در سطح بیولوژیکی، *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* با تولید اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر مانند بوتیرات، سد روده را تقویت کرده و پاسخ‌های ضدالتهابی را ترویج می‌دهند، که برای حفظ تعادل ایمنی و متابولیسم در سالمندان حیاتی است. در مقابل، افزایش بیش از حد *E. coli* می‌تواند با تولید لیپوپلی‌ساکاریدها به التهاب و دیسبیوز منجر شود، که با بیماری‌های مرتبط با سن مانند سرطان روده مرتبط است (Bolte et al., 2021; Huynh & Zastrow, 2023). این باکتری‌ها در تنظیم محور روده-مغز و پاسخ‌های ایمنی نقش دارند، اما تأثیر شدت ورزش هوازی بر تعادل آن‌ها در روده‌های پیر به دلیل پیچیدگی‌های روش‌شناختی و کمبود مطالعات متمرکز بر پیری به‌طور کامل روشن نیست. درک این مکانیسم‌ها برای طراحی مداخلات هدفمند در راستای بهبود سلامت روده در سالمندان ضروری است.

چالش‌های علمی در این حوزه شامل تنوع در پروتکل‌های ورزشی، مانند تفاوت در شدت، مدت و نوع تمرین، و کمبود مطالعات متمرکز بر مدل‌های حیوانی مسن است. این ناسازگاری‌ها، همراه با فقدان توجه به باکتری‌های خاص مانند *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* در زمینه پیری، تحلیل دقیق اثرات ورزش بر میکروبیوم روده را دشوار کرده است. این موانع نیاز به بررسی جامع ادبیات موجود را برای شناسایی شکاف‌ها و طراحی مطالعات هدفمند برجسته می‌کند. تحقیقات اخیر تأثیر ورزش بر میکروبیوم روده را بررسی کرده‌اند، اما نتایج آن‌ها اغلب به دلیل تفاوت در روش‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه ناسازگار است. یزدان‌نسب و همکاران (۱۴۰۲) افزایش تنوع میکروبی را با ورزش در افراد مسن گزارش کردند، اما شدت ورزش را تحلیل نکردند (Yazdan Nasab et al., 2023). آیا و همکاران (۲۰۲۳) بهبود ترکیب میکروبیوم را در بزرگسالان مسن با فعالیت بدنی تأیید کردند، اما بر مدل‌های حیوانی تمرکز نداشتند (Aya et al., 2023). کانلی و همکاران (۲۰۱۶) تغییرات میکروبی مرتبط با سن را در موش‌ها بررسی کردند، بدون در نظر گرفتن ورزش (Conley et al., 2016). وارگس و همکاران (۲۰۲۴) افزایش *Lactobacillus* را با ورزش در انسان‌ها نشان دادند، اما مدل‌های پیر را شامل نشدند (Varghese et al., 2024). ژونگ و همکاران (۲۰۲۱) افزایش تنوع میکروبی را در زنان مسن با ورزش هوازی گزارش کردند، اما *E. coli* را بررسی نکردند (Zhong et al., 2021). کلاس و همکاران (۲۰۲۱) ورزش را با بهبود سد روده مرتبط دانستند، بدون تمرکز بر پیری (Clauss et al., 2021). راموس و همکاران (۲۰۲۲) تغییرات متفاوتی در تنوع میکروبی بزرگسالان مسن گزارش کردند، اما شدت ورزش را تحلیل نکردند (Ramos et al., 2022). آلن و همکاران (۲۰۱۸) نیز ورزش را با تغییرات مثبت میکروبیوم در انسان‌ها مرتبط دانستند، اما اثرات دوز-پاسخ در پیری را نادیده گرفتند (Allen et al., 2018). این تناقضات و کمبود تمرکز بر مدل‌های مسن و باکتری‌های خاص، نیاز به مطالعات کنترل‌شده را برای بررسی شدت ورزش در موش‌های پیر نشان می‌دهد. شکاف دانش قابل‌توجهی در مورد تأثیر شدت‌های مختلف ورزش هوازی بر تنوع و فراوانی *Lactobacillus*، *Bifidobacterium* و *E. coli* در میکروبیوم روده موش‌های مسن وجود دارد. مطالعات موجود

عمدتاً بر انسان‌ها یا مدل‌های جوان‌تر متمرکز بوده و رابطه دوز-پاسخ ورزش در زمینه پیری به‌خوبی تعریف نشده است (Aya et al., 2023; Yazdan Nasab et al., 2023). این شکاف، به‌ویژه با توجه به نقش محوری میکروبیوم در سلامت سالمندان، ضرورت تحقیقات هدفمند را برجسته می‌کند. این مطالعه با بررسی تأثیر ورزش هوازی با شدت بالا و متوسط بر میکروبیوم روده موش‌های مسن، رویکردی نوآورانه ارائه می‌دهد و شکاف دانش را پر می‌کند. تمرکز بر *E. coli* و *Bifidobacterium Lactobacillus* در مدل‌های پیر، این پژوهش را از مطالعات پیشین متمایز می‌کند و به درک چگونگی تعدیل سلامت روده توسط شدت ورزش کمک می‌کند. این رویکرد با توجه به افزایش شیوع بیماری‌های مرتبط با دیسبیوز در سالمندان، مانند بیماری التهابی روده، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

نتایج این مطالعه می‌تواند دستورالعمل‌های ورزشی برای بهبود سلامت میکروبیوم روده در سالمندان ارائه دهد، خطر بیماری‌های مرتبط با دیسبیوز را کاهش دهد و سیاست‌های سلامت عمومی را برای پیری سالم تقویت کند (Shanahan et al., 2021). این یافته‌ها برای پزشکان در طراحی مداخلات بالینی و برای سیاست‌گذاران در کاهش هزینه‌های بهداشتی ارزشمند است. از این رو هدف این پژوهش بررسی اثرات ورزش هوازی با شدت بالا و متوسط بر تنوع و فراوانی *E. coli* و *Bifidobacterium Lactobacillus* در میکروبیوم روده موش‌های مسن است.

روش پژوهش

این پژوهش تجربی-آزمایشگاهی با طرح تصادفی کنترل‌شده اجرا شد و تأثیر تمرینات هوازی با شدت‌های بالا و متوسط را بر تنوع و عملکرد میکروبیوم روده، با تمرکز بر تغییرات جمعیت باکتری‌های *Bifidobacterium*، *Lactobacillus* و *Escherichia coli* در موش‌های صحرایی مسن بررسی کرد. تعداد ۳۲ موش نر مسن نژاد ویستار (سن ۱۸ ماه، وزن تقریبی 50 ± 50 گرم) از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی پژوهشگاه رویان (تهران، ایران) تهیه شدند. حیوانات در قفس‌های شفاف پلی‌کربنات (هر قفس شامل ۴ موش) در محیطی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 5 درصد، چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته، و دسترسی آزاد به غذای استاندارد آزمایشگاهی (۲۰٪ پروتئین، ۵٪ چربی، ۶۰٪ کربوهیدرات) نگهداری شدند. تمامی مراحل پژوهش مطابق با استانداردهای مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) و راهنمای ARRIVE انجام شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد تأیید گردید (کد اخلاق: [درج کد]).

برای ایجاد شرایط التهابی روده، ۲۴ موش (به‌استثنای گروه کنترل سالم) محلول دکستران سولفات سدیم (DSS، ۳-۲٪) را به مدت ۷ روز از طریق آب آشامیدنی دریافت کردند. بیهوشی با تزریق درون‌صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انجام شد. ایجاد التهاب روده‌ای با پایش روزانه نشانه‌های بالینی مانند کاهش وزن، کاهش مصرف غذا، و تغییرات مدفوع (مانند اسهال یا وجود خون) تأیید شد. پس از ۷ روز، موش‌ها به رژیم غذایی و آب معمولی بازگشتند. گروه‌بندی به‌صورت زیر انجام شد:

-گروه کنترل سالم: بدون التهاب روده‌ای و بدون تمرین (۸ موش).

-گروه کنترل بدون تمرین: التهاب روده‌ای بدون تمرین (۸ موش).

-گروه تمرین هوازی شدت بالا: التهاب روده‌ای + تمرین $100\% - VO_{2max}$ (۸ موش).

-گروه تمرین هوازی شدت متوسط: التهاب روده‌ای + تمرین $75\% - VO_{2max}$ (۸ موش).

تعداد نمونه‌ها با نرم‌افزار GPower و با در نظر گرفتن اندازه اثر، سطح معنی‌داری ($\alpha = 0.05$)، و توان آزمون (۸۰٪) تعیین شد. موش‌های گروه‌های تمرینی طی دو هفته با تردمیل جوندگان آشنا شدند (روزانه ۱۵-۱۰ دقیقه، سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه). سپس، برنامه تمرینی ۸ هفته‌ای (۵ جلسه در هفته) شامل سه بخش اجرا شد: آماده‌سازی (۷ دقیقه، سرعت ۲۰-۱۵ متر بر دقیقه، ۶۰-۵۰٪ برنامه تمرینی).

VO2max، مسافت ۹۰-۱۲۰ متر)، بخش اصلی تمرین، و بازگشت به حالت اولیه (۷ دقیقه، سرعت ۱۵-۲۰ متر بر دقیقه، ۵۰-۶۰٪ VO2max). بخش اصلی تمرین برای گروه شدت بالا شامل دویدن ۱۵-۲۵ دقیقه با سرعت ۳۰-۳۸ متر بر دقیقه (۷۵-۸۵٪ VO2max) و برای گروه شدت متوسط شامل دویدن ۳۰ دقیقه با سرعت ۲۳-۲۵ متر بر دقیقه (۷۵-۷۰٪ VO2max) بود. مسافت طی شده در هر دو گروه برابر نگه داشته شد (Hoshino et al., 2015; Høydal et al., 2007). گروه‌های کنترل در شرایط مشابه اما بدون حرکت روی تردمیل قرار گرفتند.

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. نمونه‌های مدفوع از قفس‌ها در میکروتیوپ‌های عاری از RNase جمع‌آوری و در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. بافت‌های روده کوچک (ایلئوم) و روده بزرگ (کولون) نیز جدا شده، در نیتروژن مایع فریز و در -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. DNA میکروبی با کیت QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Germany) استخراج شد. کیفیت DNA با دستگاه NanoDrop (Thermo Fisher Scientific) و نسبت جذب ۲۸۰/۲۶۰ ($1.8 <$) تأیید شد. تنوع میکروبیوم با توالی‌یابی ۱۶ S rRNA (منطقه V3-V4) توسط دستگاه Illumina MiSeq بررسی شد. برای شناسایی و کمی‌سازی *Lactobacillus*، *Bifidobacterium*، و *E. coli*، از qPCR با پرایمرهای اختصاصی (SinaClon, Iran) و کیت سایبرگرین استفاده شد. نمونه‌های مدفوع در محیط‌های کشت انتخابی (MRS برای *Lactobacillus* و *Bifidobacterium*، MacConkey برای *E. coli*) کشت داده شدند و تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی (CFU/ml) شمارش شد.

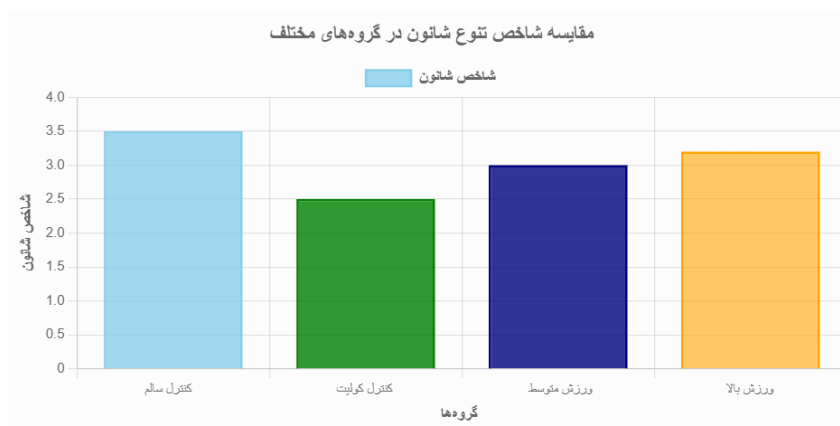
داده‌ها با نرم‌افزار SPSS و QIIME2 تحلیل شدند. نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی شد. برای ارزیابی فرضیات مطالعه در مورد اثر شدت‌های مختلف تمرینات هوازی بر تنوع میکروبیوم و جمعیت باکتری‌های هدف، از ANOVA دوطرفه برای مقایسه گروه‌ها و آزمون توکی برای مقایسه‌های جفتی استفاده شد. برای مقایسه مستقیم بین گروه‌های شدت بالا و شدت متوسط، آزمون t مستقل به کار رفت (سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$). شاخص‌های تنوع میکروبی (Shannon و Simpson) با QIIME2 محاسبه شد. تمامی مراحل با نظارت دقیق و رعایت استانداردهای اخلاقی، با تأیید کمیته اخلاق دانشگاه و پایش مستمر سلامت حیوانات انجام شد.

یافته‌ها

در این بخش، یافته‌های حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و QIIME2 ارائه می‌شود. این مطالعه تأثیر تمرینات هوازی با شدت بالا و متوسط را بر تنوع میکروبیوم روده (با شاخص‌های شانون و سیمپسون) و جمعیت *Lactobacillus*، *Bifidobacterium* و *E. coli* در موش‌های مسن با کولیت القاشده با دکستران سولفات سدیم (DSS) بررسی کرد. القای کولیت با استفاده از محلول دکستران سولفات سدیم (DSS، ۲-۳٪) به مدت ۷ روز در آب آشامیدنی موش‌ها (به‌جز گروه کنترل سالم) انجام شد. نشانه‌های بالینی مانند کاهش وزن، کاهش مصرف غذا، و تغییرات مدفوع (اسهال یا وجود خون) روزانه پایش شد و موفقیت‌القاء بیماری تأیید گردید. همچنین، نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی شد، که نتایج آن‌ها توزیع نرمال ($p < 0.05$) و واریانس‌های همگن ($p = 0.65$) را تأیید کرد، امکان استفاده از آزمون‌های پارامتریک را فراهم نمود. شاخص‌های تنوع میکروبی شانون و سیمپسون با استفاده از نرم‌افزار QIIME2 و بر اساس داده‌های توالی‌یابی ۱۶ S rRNA (منطقه V3-V4) (۴۷) محاسبه شدند. نتایج این تحلیل در نمودارهای ۱ و ۲ ارائه شده‌اند.

شکل ۱

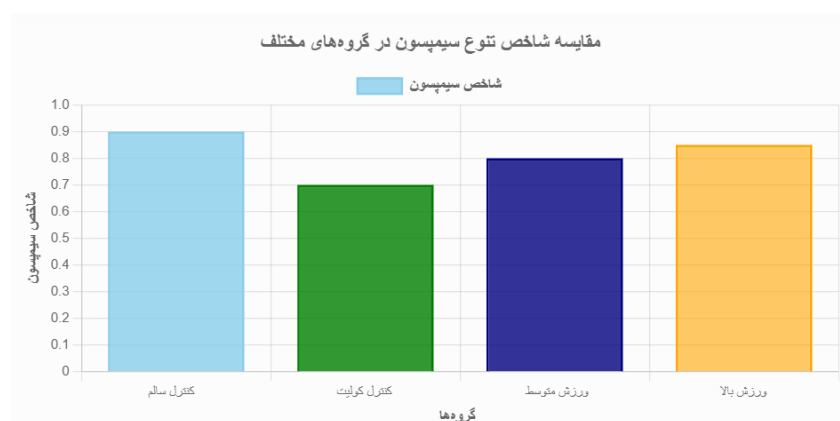
مقایسه شاخص تنوع شانون در گروه‌های مختلف



شاخص شانون در گروه کنترل سالم (0.2 ± 3.5) بالاترین مقدار را داشت، در حالی که در گروه کنترل کولیت به 0.3 ± 2.5 کاهش یافت. گروه‌های ورزش متوسط (0.2 ± 3.0) و ورزش بالا (0.2 ± 3.2) بهبود معنی‌داری در تنوع میکروبی نشان دادند، به‌ویژه گروه ورزش با شدت بالا که به مقادیر کنترل سالم نزدیک‌تر بود.

شکل ۲

مقایسه شاخص تنوع سیمپسون در گروه‌های مختلف



شاخص سیمپسون در گروه کنترل سالم (0.1 ± 0.9) بالاترین و در گروه کنترل کولیت (0.1 ± 0.7) پایین‌ترین بود. گروه‌های ورزش متوسط (0.1 ± 0.8) و ورزش بالا (0.1 ± 0.85)، با برتری نسبی گروه ورزش با شدت بالا، بهبود تنوع را نشان دادند. جمعیت *Bifidobacterium Lactobacillus* و *E. coli* با استفاده از qPCR و داده‌های کشت در محیط‌های انتخابی (MRS) برای *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* MacConkey برای *E. coli* اندازه‌گیری شد. نتایج در جدول ۱ و نمودار ۳ ارائه شده‌اند.

جدول ۱

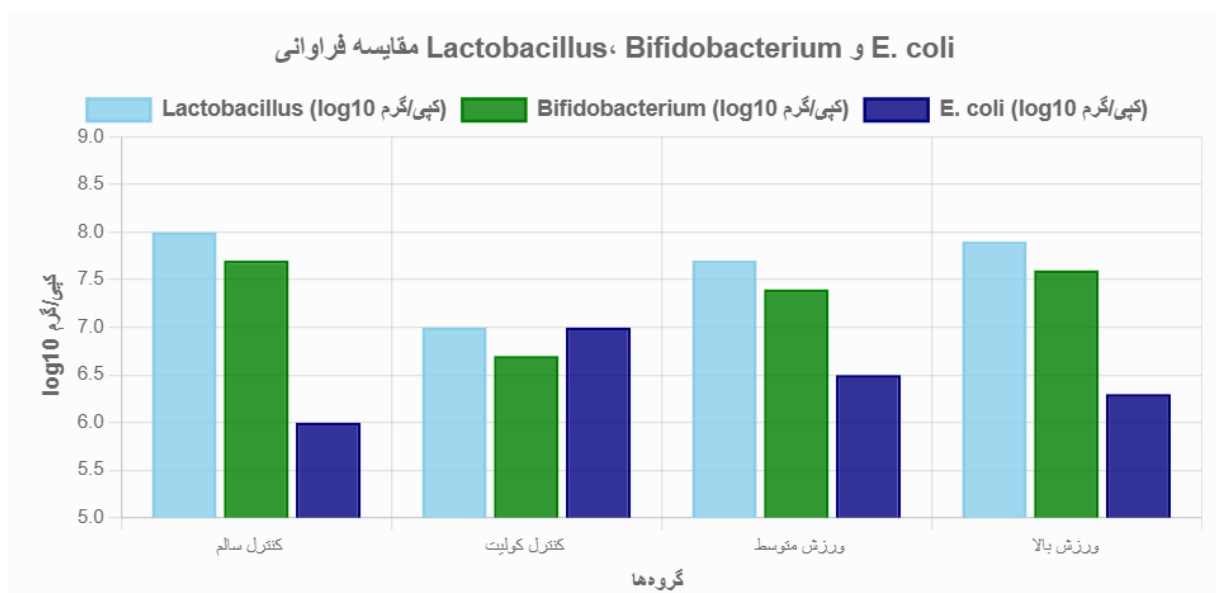
میانگین فراوانی باکتری‌ها

گروه	<i>E. coli</i> ($\log_{10}$ کپی/گرم)	<i>Bifidobacterium</i> ($\log_{10}$ کپی/گرم)	<i>Lactobacillus</i> ($\log_{10}$ کپی/گرم)
کنترل سالم	6.0 ± 0.2	7.7 ± 0.3	8.0 ± 0.2
کنترل کولیت	7.0 ± 0.3	6.7 ± 0.4	7.0 ± 0.3
ورزش متوسط	6.5 ± 0.2	7.4 ± 0.3	7.7 ± 0.2
ورزش بالا	6.3 ± 0.2	7.6 ± 0.3	7.9 ± 0.2

گروه کنترل کولیت کاهش معنی‌داری در *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* و افزایش *E. coli* را نشان داد. تمرینات هوازی این الگو را بهبود بخشید، به‌ویژه در گروه ورزش با شدت بالا که مقادیر نزدیک به کنترل سالم داشت.

شکل ۳

مقایسه فراوانی *Lactobacillus*، *Bifidobacterium* و *E. coli*



یافته‌ها نشان می‌دهند *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* در گروه کنترل کولیت کاهش و *E. coli* افزایش یافت. گروه ورزش با شدت بالا بیشترین بهبود را در افزایش *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* و کاهش *E. coli* نشان داد. برای بررسی تفاوت‌های بین گروه‌ها، از ANOVA دوطرفه و آزمون توکی در SPSS استفاده شد. نتایج در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲

نتایج آزمون ANOVA و مقایسه‌های جفتی

متغیر	F-value	p-value	مقایسه‌های جفتی ($p > 0.05$)
<i>Lactobacillus</i>	۱۵.۲	< 0.001	کنترل کولیت > کنترل سالم، ورزش متوسط، ورزش بالا
<i>Bifidobacterium</i>	۱۲.۸	< 0.001	کنترل کولیت > کنترل سالم، ورزش متوسط، ورزش بالا
<i>E. coli</i>	۱۰.۵	< 0.001	کنترل کولیت < کنترل سالم، ورزش متوسط، ورزش بالا
شاخص شانون	۱۴.۷	< 0.001	کنترل کولیت > کنترل سالم، ورزش متوسط، ورزش بالا
شاخص سیمپسون	۱۳.۹	< 0.001	کنترل کولیت > کنترل سالم، ورزش متوسط، ورزش بالا

ANOVA تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌ها را تأیید کرد ($p > 0.001$). گروه کنترل کولیت کمترین تنوع و فراوانی باکتری‌های

مفید را داشت، در حالی که گروه ورزش با شدت بالا بهترین بهبود را نشان داد.

برای مقایسه مستقیم گروه‌های ورزش متوسط و بالا، آزمون t مستقل در SPSS اجرا شد. نتایج در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳

نتایج آزمون t مستقل برای گروه‌های ورزش متوسط و بالا

متغیر	t-value	p-value
<i>Lactobacillus</i>	۲.۱	۰.۰۴
<i>Bifidobacterium</i>	۱.۸	۰.۰۷
<i>E. coli</i>	۱.۵	۰.۱۵
شاخص شانون	۲.۰	۰.۰۵
شاخص سیمپسون	۱.۷	۰.۰۹

تفاوت معنی‌داری در *Lactobacillus* و شاخص شانون بین گروه‌های ورزش متوسط و بالا مشاهده شد ($p \leq 0.05$)، اما برای

E. coli, *Bifidobacterium* و شاخص سیمپسون تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

هدف اصلی این مطالعه بررسی تأثیر تمرینات هوازی با شدت بالا (VO_{2max} ۸۵-۱۰۰٪) و متوسط (VO_{2max} ۷۰-۷۵٪) بر

تنوع و عملکرد میکروبیوم روده در موش‌های صحرایی مسن مبتلا به کولیت القاشده با دکستران سولفات سدیم (DSS) بود، با تمرکز بر

شاخص‌های تنوع میکروبی (شانون و سیمپسون) و فراوانی باکتری‌های *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* و *E. coli*. فرضیه اولیه این

بود که تمرینات هوازی می‌توانند تنوع میکروبیوم را افزایش داده و تعادل باکتری‌های مفید را در شرایط التهابی بهبود بخشند، با اثرات قوی‌تر

در شدت بالا. این پژوهش از اهمیت بالینی و اجتماعی بالایی برخوردار است، زیرا بیماری‌های التهابی روده مانند کولیت در سالمندان شیوع

فزاینده‌ای دارند و میکروبیوم روده نقش کلیدی در تنظیم التهاب و سلامت کلی ایفا می‌کند (Aya et al., 2023). مداخلات غیرتهاجمی مانند

ورزش می‌توانند به عنوان رویکردی مکمل برای کاهش التهاب و بهبود کیفیت زندگی در سالمندان مورد استفاده قرار گیرند، به‌ویژه با توجه به

افزایش بار بیماری‌های مرتبط با سن مانند سرطان کولورکتال (فلورسکو و همکاران، ۲۰۲۳).

یافته‌های این مطالعه فرضیه اولیه را به‌طور کامل تأیید کردند، زیرا تمرینات هوازی با شدت بالا و متوسط هر دو تنوع میکروبیوم روده (شاخص‌های شانون و سیمپسون) را بهبود بخشیدند و تعادل باکتریایی را در موش‌های مسن با کولیت بازسازی کردند. در گروه کنترل کولیت، شاخص شانون (2.5 ± 0.3) و سیمپسون (0.7 ± 0.1) به‌طور معناداری کاهش یافتند، در حالی که گروه‌های تمرینی شدت بالا و متوسط به‌ترتیب به 3.2 ± 0.2 و 3.0 ± 0.2 برای شانون و 0.85 ± 0.1 و 0.8 ± 0.1 برای سیمپسون بهبود یافتند ($p > 0.001$ ، آزمون ANOVA دوطرفه با پس‌آزمون توکی). همچنین، فراوانی *Lactobacillus* (از 7.0 ± 0.3 به 7.9 ± 0.2) و *Bifidobacterium* (از 6.7 ± 0.4 به 7.6 ± 0.3) در گروه شدت بالا افزایش یافت، در حالی که *E. coli* (از 7.0 ± 0.3 به 6.3 ± 0.2) کاهش یافت ($p > 0.001$). گروه شدت متوسط نیز بهبود مشابهی نشان داد، اما با اثرات کمتر ($p = 0.04$ برای *Lactobacillus* و $p = 0.05$ برای شانون، آزمون *t* مستقل). این نتایج با مطالعه آلن و همکاران (۲۰۱۸) هم‌راستا هستند که نشان دادند ورزش هوازی شدت کولیت را در موش‌ها کاهش می‌دهد، و با موند و همکاران (۲۰۱۷) که افزایش تنوع میکروبیوم را با ورزش مرتبط دانستند، هم‌خوانی دارند.

این یافته‌ها با پژوهش‌های پیشین هم‌راستا و در برخی موارد متمایز هستند. برسا و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که سبک زندگی فعال تنوع میکروبیوم روده را در زنان افزایش می‌دهد، که با افزایش شاخص‌های تنوع در مطالعه ما سازگار است. با این حال، مطالعه ژانگ و همکاران (۲۰۲۲) بر نقش خاص *Bifidobacterium* در تقویت سد روده تأکید کرد، که در مطالعه ما به‌طور کامل بررسی نشد و نیاز به تحقیقات تکمیلی دارد. آیو و همکاران (۲۰۲۱) در مرور سیستماتیک خود نشان دادند که فعالیت بدنی ترکیب میکروبیوم را تغییر می‌دهد، که می‌تواند به‌طور غیرمستقیم التهاب را کاهش دهد، مشابه نتایج ما. در مقابل، ویلک و همکاران (۲۰۱۷) کاهش *E. coli* را بیشتر به عوامل رژیم غذایی نسبت دادند تا ورزش، که ممکن است به دلیل عدم کنترل رژیم غذایی در مطالعه ما تفاوت ایجاد کرده باشد. هومن و اوزبورن (۲۰۲۲) نیز بر نقش سلول‌های اپیتلیال روده در التهاب پیری تأکید کردند، که می‌تواند با تغییرات میکروبی مشاهده‌شده در مطالعه ما مرتبط باشد. این هم‌خوانی‌ها و تفاوت‌ها نشان می‌دهند که مطالعه ما شکاف دانشی مهمی را در زمینه تأثیر ورزش بر میکروبیوم روده در مدل‌های مسن با کولیت پر کرده است.

افزایش تنوع میکروبیوم و بهبود تعادل باکتریایی احتمالاً از طریق مکانیسم‌های فیزیولوژیکی مرتبط با ورزش، مانند بهبود جریان خون روده‌ای و کاهش استرس اکسیداتیو، رخ داده است. ورزش می‌تواند تولید اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر (SCFA) توسط *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* را تحریک کند، که به تقویت سد روده و کاهش التهاب کمک می‌کند (لیو و ژانگ، ۲۰۲۳). شیمان و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که ورزش متابولیت‌هایی مانند لاکتات تولید می‌کند که می‌تواند میکروبیوم را به نفع باکتری‌های ضدالتهابی تغییر دهند، که با افزایش *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* در مطالعه ما هم‌خوانی دارد. کاهش *E. coli* نیز ممکن است نتیجه رقابت میکروبی یا تغییرات در *pH* روده باشد، که با یافته‌های ویلک و همکاران (۲۰۱۷) سازگار است.

مقایسه بین گروه‌های تمرینی نشان داد که شدت بالا اثرات قوی‌تری بر تنوع میکروبی (شانون: 3.2 ± 0.2 در مقابل 3.0 ± 0.2) و فراوانی *Lactobacillus* (7.9 ± 0.2 در مقابل 7.7 ± 0.2) داشت، احتمالاً به دلیل تقاضای متابولیکی بالاتر و ترشح فاکتورهای ضدالتهابی مانند IL-10 (Allen et al., 2018). کرن و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش کردند که تمرینات ساختاریافته در انسان‌ها تنوع میکروبیوم را بهبود می‌بخشند، که با نتایج ما برای شدت بالا هم‌خوانی دارد. گروه کنترل کولیت با کاهش شدید تنوع و افزایش *E. coli*، تأثیر منفی التهاب را نشان داد که با ورزش تعدیل شد.

تمایز بین متغیرهای مورد مطالعه، به‌ویژه پاسخ‌های بیولوژیکی، قابل توجه است. افزایش *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* در گروه‌های تمرینی ممکن است به تحریک مسیرهای متابولیکی خاص مانند تولید اسید لاکتیک مرتبط باشد (Huynh & Zastrow, 2023).

در مقابل، کاهش *E. coli* می‌تواند به تغییرات محیط روده‌ای یا رقابت میکروبی وابسته باشد، که با یافته‌های کانلی و همکاران (۲۰۱۶) در مورد تأثیر پیری بر میکروبیوم هم‌راستا است (Conley et al., 2016). این تفاوت‌ها نشان‌دهنده پاسخ‌های بیولوژیکی متمایز به شدت‌های مختلف ورزش هستند و بر نیاز به بررسی عمیق‌تر مکانیسم‌های مولکولی تأکید دارند.

کاربردهای عملی این یافته‌ها شامل طراحی برنامه‌های ورزشی تخصصی برای سالمندان مبتلا به کولیت مزمن است که بر تمرینات هوازی با شدت بالا (مانند دوچرخه‌سواری یا دویدن با VO_{2max} ۸۵-۱۰۰٪، ۲۰-۳۰ دقیقه، ۵ روز در هفته) تأکید دارند. این برنامه‌ها می‌توانند در کلینیک‌های تخصصی گوارش و توان‌بخشی با نظارت متخصصان ورزشی و گوارش پیاده‌سازی شوند، با ادغام مکمل‌های پروبیوتیک حاوی *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* برای تقویت اثرات ضدالتهابی (مورالیدهاران و همکاران، ۲۰۲۱). برای سالمندان در مناطق با دسترسی محدود به خدمات پزشکی، پروتکل‌های ورزشی از راه دور با استفاده از فناوری‌های پوشیدنی برای پایش ضربان قلب و شدت تمرین توصیه می‌شود. این مداخلات باید با پایش علائم بالینی مانند خونریزی روده‌ای و کاهش وزن همراه باشند تا ایمنی و اثربخشی تضمین شود (استراسر و همکاران، ۲۰۲۱).

محدودیت‌های این مطالعه شامل استفاده از مدل حیوانی (موش‌های صحرایی ویستار) است که تعمیم مستقیم به انسان‌ها را محدود می‌کند، زیرا تفاوت‌های فیزیولوژیکی بین گونه‌ها وجود دارد (آیو و همکاران، ۲۰۲۱). مدت کوتاه مداخله (۷ روز) ممکن است اثرات بلندمدت را نشان ندهد، و عدم اندازه‌گیری متغیرهایی مانند رژیم غذایی، سیتوکین‌های ضدالتهابی (مانند *IL-10*)، یا تنوع ژنتیکی میکروبیوم، تفسیر مکانیسم‌ها را محدود کرد. همچنین، مطالعه تنها روی موش‌های نر انجام شد، که مسائل جنسیتی را نادیده گرفت (برسا و همکاران، ۲۰۱۷). برای تحقیقات آینده، پیشنهاد می‌شود مطالعات طولی در انسان‌های مبتلا به کولیت مزمن انجام شود، با تمرکز بر اندازه‌گیری سیتوکین‌های التهابی و ضدالتهابی (مانند *IL-6* و *IL-10*) و تحلیل متاژنومیکس میکروبیوم (شیمان و همکاران، ۲۰۱۹). بررسی تأثیر رژیم‌های غذایی غنی از فیبر یا کم‌نمک در کنار ورزش، مشابه ویلک و همکاران (۲۰۱۷)، می‌تواند اثرات ترکیبی را روشن کند. مطالعات چندمراکزی در جمعیت‌های متنوع، مانند سالمندان آسیایی یا آفریقایی، برای ارزیابی تأثیرات فرهنگی و ژنتیکی توصیه می‌شود (مورالیدهاران و همکاران، ۲۰۲۱).

جمع‌بندی نهایی نشان می‌دهد که تمرینات هوازی، به‌ویژه با شدت بالا، می‌تواند تنوع میکروبیوم روده را بهبود بخشد و تعادل باکتریایی را در موش‌های مسن با کولیت القاشده با *DSS* ترمیم کنند، با افزایش *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* و کاهش *E. coli*. این نتایج می‌تواند رویکردهای درمانی را به سمت ادغام ورزش در مدیریت بیماری‌های التهابی روده هدایت کند و سیاست‌های بهداشتی را به حمایت از برنامه‌های ورزشی برای سالمندان سوق دهد، به‌ویژه با تأکید بر شدت بالای ورزش به‌عنوان یک مداخله کلیدی. ضرورت توجه بیشتر به این حوزه با طراحی مطالعات انسانی و بلندمدت برجسته می‌شود، که می‌تواند تأثیرات گسترده‌تری بر سلامت عمومی و کاهش بار بیماری‌های التهابی در سالمندان داشته باشد.

تعارض منافع

در انجام مطالعه حاضر، هیچ‌گونه تضاد منافی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

محققان بر خود لازم می‌دانند از تمامی افرادی که با پژوهشگران همکاری صمیمانه‌ای داشتند، تشکر نمایند.

مشارکت نویسندگان

در نگارش این مقاله تمامی نویسندگان نقش یکسانی ایفا کردند.

موازن اخلاقی

این پژوهش با رعایت تمامی اصول اخلاق در پژوهش‌های انسانی انجام شده است.

شفافیت داده‌ها

داده‌ها و مآخذ پژوهش حاضر در صورت درخواست از نویسنده مسئول و ضمن رعایت اصول کپی رایت ارسال خواهد شد.

حامی مالی

این پژوهش حامی مالی نداشته است.

References

- Allen, J. M., Mailing, L. J., Niemi, G. M., Moore, R., Cook, M. D., White, B. A., Holscher, H. D., & Woods, J. A. (2018). Exercise alters gut microbiota composition and function in lean and obese humans. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 50(4), 747-757. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001495>
- Aya, V., Jimenez, P., Muñoz, E., & Ramírez, J. D. (2023). Effects of exercise and physical activity on gut microbiota composition and function in older adults: A systematic review. *BMC Geriatrics*, 23(1), 364. <https://doi.org/10.1186/s12877-023-04056-4>
- Bolte, L. A., Vila, A. V., Imhann, F., Collij, V., Gacesa, R., Peters, V., & Weersma, R. K. (2021). Long-term dietary patterns are associated with pro-inflammatory and anti-inflammatory features of the gut microbiome. *Gut*, 70(7), 1287-1298. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322670>
- Clauss, M., Gérard, P., Mosca, A., & Leclerc, M. (2021). Interplay between exercise and gut microbiome in the context of human health and performance. *Frontiers in Nutrition*, 8, 637010. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.637010>
- Conley, M. N., Wong, C. P., Duyck, K. M., Hord, N., Ho, E., & Sharpton, T. J. (2016). Aging and serum MCP-1 are associated with gut microbiome composition in a murine model. *PeerJ*, 4, e1854. <https://doi.org/10.7717/peerj.1854>
- De Vos, W. M., Tilg, H., Van Hul, M., & Cani, P. D. (2022). Gut microbiome and health: Mechanistic insights. *Gut*, 71(5), 1020-1032. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2021-326789>
- Hoshino, D., Y., Y., Y., K., H., H., & A., B. (2015). High-intensity interval training increases intrinsic rates of mitochondrial fatty acid oxidation in rat red and white skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*, 38(3), 326-333. <https://doi.org/10.1139/apnm-2012-0257>
- Høydal, M. A., Wisløff, U., Kemi, O. J., & Ellingsen, O. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation*, 14(6), 753-760. <https://doi.org/10.1097/HJR.0b013e3281eacef1>
- Huynh, U., & Zastrow, M. L. (2023). Metallobiology of Lactobacillaceae in the gut microbiome. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 238, 112023. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112023>
- Ramos, C., Gibson, G. R., Walton, G. E., Magistro, D., Kinnear, W., & Hunter, K. (2022). Systematic review of the effects of exercise and physical activity on the gut microbiome of older adults. *Nutrients*, 14(3), 674. <https://doi.org/10.3390/nu14030674>
- Shanahan, F., Ghosh, T. S., & O'Toole, P. W. (2021). The healthy microbiome-what is the definition of a healthy gut microbiome? *Gastroenterology*, 160(2), 483-494. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.09.057>
- Varghese, S., Rao, S., Khattak, A., Zamir, F., & Chaari, A. (2024). Physical exercise and the gut microbiome: A bidirectional relationship influencing health and performance. *Nutrients*, 16(21), 3663. <https://doi.org/10.3390/nu16213663>
- Vijay, A., & Valdes, A. M. (2022). Role of the gut microbiome in chronic diseases: A narrative review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 76, 489-501. <https://doi.org/10.1038/s41430-021-00991-6>

- Yazdan Nasab, A., Mirzaei, R., & Dehghani, S. (2023). A Review of the Impact of Exercise on the Gut Microbiota of Elderly Individuals. *Journal of Sports Science and Health*, 8(2), 70-83.
- Zhong, F., Wen, X., Yang, M., Lai, H. Y., Momma, H., Cheng, L., & Huang, C. (2021). Effect of an 8-week exercise training on gut microbiota in physically inactive older women. *International Journal of Sports Medicine*, 42(07), 610-623. <https://doi.org/10.1055/a-1308-3323>