



ORIGINAL ARTICLE

OPEN ACCESS

The effect of the donor's physical activity on the therapeutic potential of the fecal microbiota transplant against stress-induced oxidative damage

Masoumeh Rajabi¹, Hamid Reza Mohajerani^{2*}, Mehdi Roozbahani³, Bijan Goodarzi¹

¹ Department of Physical Education, Faculty of Human Sciences, Bo. C, Islamic Azad University, Borujerd, Iran.

² Quantum Technologies Research Center, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

³ Department of Motor Behavior, Faculty of human sciences, Bo. C, Islamic Azad University, Borujerd, Iran.

ABSTRACT

AIMS: This study investigates the effects of fecal microbiota transplantation (FMT) from exercise-trained donors and aerobic exercise on oxidative stress in C57 male mice subjected to chronic unpredictable mild stress (CUMS).

MATERIALS AND METHODS: Four groups of mice (n=8) were studied: INTACT (no intervention), CONTROL (CUMS with saline solution), N-E-FMT (CUMS with FMT from sedentary donors), and E-FMT (CUMS with FMT from exercise-trained donors). Total serum antioxidant capacity (TAC) was measured to assess oxidative stress.

FINDINGS: The control group showed a significant decrease in TAC compared to the INTACT group ($p \leq 0.0001$), confirming stress-induced oxidative damage. The E-FMT group showed a significant increase in TAC compared to the control group ($p \leq 0.05$), indicating an increase in antioxidant capacity, while N-E-FMT showed no significant improvement.

CONCLUSION: These findings indicate that FMT from donors under exercise conditions, combined with aerobic exercise, effectively reduces oxidative stress, highlighting the importance of the donor's physical activity in the effectiveness of FMT. This study highlights the therapeutic potential of FMT under exercise conditions for stress-related oxidative damage and calls for further research into the underlying microbial mechanisms.

KEYWORDS: Fecal Microbiota Transplantation (FMT); Oxidative Stress; Aerobic Exercise.

How to cite this article:

Rajabi M., Mohajerani H.R., Roozbahani M., Goodarzi B. *The effect of donor physical activity on the therapeutic potential of fecal microbiota transplantation against stress-induced oxidative damage.* J Police Med. 2025;14:e8.

*Correspondence:

Address: Quantum Technologies Research Center, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Hesarak, Tehran, Iran. Postal Code: 1477893855.
eMail: hr.mohajerani@iau.ac.ir

Article History:

Received: 03/04/2024
Accepted: 25/12/2024
ePublished: 16/03/2025

INTRODUCTION

The gut microbiome, a complex composition of the microbiota that McFab calls the home-resident gut ecosystem, is crucial for physiological homeostasis. This composition influences a wide range of functions, including immune modulation, metabolic control, and the regulation of oxidative stress. Changes and subsequent alterations, in the composition of the gut microbiota, often associated with stress and lifestyle factors, play a role in many health conditions, such as the amelioration of oxidative stress and inflammation. These disturbances highlight the need for therapeutic strategies to restore microbiota homeostasis and mitigate stress-induced damage [1].

In this regard, fecal microbiota transplantation (FMT) has emerged as an innovative therapeutic intervention for restoring gut diversity [2]. FMT is described as the transfer of a healthy donor's gut microbiota to a host in order to restore the host's microbial balance. As can be inferred, the clinical efficacy of FMT largely depends on the composition of the donor microbiota. However, the microbiota of physically active individuals—especially athletes—has been shown to induce more beneficial changes, owing to the microbial diversity and functional alterations brought about by exercise [3, 4]. Since exercise has well-known health benefits, such as improved antioxidant activity and increased stress resistance, it is also a promising candidate for synergistic approaches [5, 6].

Chronic stress is a classic case of oxidative stress, a state of imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the organism's ability to neutralize them with antioxidants. Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS) is a widely used animal model that fully replicates the physiological and psychological effects of chronic stress exposure. This model induces systemic oxidative stress, making it an ideal platform for evaluating the effects of interventions such as fecal microbiota transplantation (FMT) and exercise [7, 8].

This study evaluated the acute effects of fecal microbiota transplantation (FMT) from exercise- and aerobic-trained donors on oxidative stress in male C57 mice subjected to CUMS. The aim of this study was to identify a novel therapeutic strategy for regulating stress-induced oxidative damage by combining these two treatment approaches. It also examined how the quality of the transferred microbiota depends on the donor's level of physical activity and how this affects the efficacy of FMT in similarly stressed individuals [9, 10].

The results of this study may also help elucidate the relationship between exercise, the gut microbiota, and oxidative stress. By shedding light on the mechanisms behind the increase in systemic antioxidant capacity induced by FMT from exercise-trained donors, this work aims to lay the groundwork for innovative therapeutic

approaches to counteract oxidative stress and related pathologies.

MATERIALS & METHODS

The present study was a preclinical, interventional, controlled experimental animal study with a parallel-group design. Adult male C57 mice weighing 20–25 g, obtained from the Pasteur Institute of Iran, were used. The animals were housed under standard laboratory conditions, including a temperature of $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 50–60% relative humidity, and a 12-hour light/dark cycle. The mice had free access to water and standard laboratory chow. Prior to the experiment, a one-week acclimatization period was allowed to minimize stress associated with transportation and the novel environment.

After the acclimation period, the main program was carried out as in Table 1:

Aerobic Exercise Protocol: To obtain FMT from exercise-trained donors, mice in the exercise group underwent aerobic treadmill training for 3 weeks. First, the animals were acclimated to the treadmill for 3 days; during this phase, they trained daily for 10 min at a speed of 8 m/min without inclination (0% grade). After the acclimation period, the main training program was performed as outlined in [Table 1](#).

Table 1) aerobic exercise protocol

Week	Number of session	Duration per session (min)	Treadmill speed (m/min)
First	5	30	12
Second	5	30	14
Third	5	30	16

The treadmill incline was set at 0% (zero grade). This protocol was considered moderate-intensity aerobic exercise. Non-exercising donors received no training program during the study and were maintained under standard conditions.

Mice were randomly divided into four experimental groups ($n = 8$ per group). The Intact group received no intervention and served as the baseline control. The control group was subjected to CUMS for three months, followed by daily gavage of PBS for two weeks (without any microbiota depletion). The FMT-E-N group was subjected to CUMS for three months, followed by antibiotic treatment to deplete the gut microbiota, and then received FMT sourced from non-exercising donor mice. The FMT-E group also received CUMS and, after gut microbiota depletion, received FMT prepared from donor mice that had previously undergone the three-week aerobic exercise program.

Gut microbiota depletion: To prepare recipient mice in the FMT groups, the gut microbiota was first depleted using a broad-spectrum antibiotic cocktail containing

vancomycin (50 mg/kg/day), ampicillin (100 mg/kg/day), and neomycin (100 mg/kg/day). These antibiotics were administered orally (by gavage) for 14 consecutive days. After the antibiotic course, a 48-hour washout period was allowed, after which FMT was administered daily for 14 consecutive days.

Establishment of a chronic stress model: To induce stress, the chronic unpredictable mild stress (CUMS) model was used. Animals were exposed to a combination of various stressors for three months. These stressors were applied daily (seven distinct stressors, one per day, on a 7-day rotating cycle) and included tail suspension, wet bedding, auditory disturbances, light exposure during the dark phase, cage tilting and reorientation, intermittent stroboscopic lighting, and restraint. A key feature of this model is the unpredictability of the stressors for the animal.

FMT Preparation and Transfer: Feces from donor mice were collected and homogenized in sterile PBS. To prepare the transplantation material, the samples were centrifuged and the supernatant was used. This supernatant was administered to recipient mice daily via oral gavage for two weeks. The administered volume was 200 μ L per mouse per day. Mice in the FMT-E-N and FMT-E groups were also allowed a two-day recovery period following the antibiotic course, prior to FMT administration.

Total antioxidant capacity (TAC) measurement: To assess oxidative stress status, serum TAC was measured. Blood was collected from the animals by retro-orbital puncture and then centrifuged at 10,000 $\times$ g for 10 minutes at 4 $^{\circ}$ C to separate the serum. TAC was measured using a commercial kit. Samples and standards were loaded into a 96-well plate. Following the addition of the working solution, the plate was incubated for 5 minutes at room temperature. The absorbance of the samples was then measured at 593 nm using a microplate reader. TAC values were determined from the standard curve using linear regression analysis.

Ethical Considerations: All experimental procedures were conducted in accordance with the guidelines for the care and use of laboratory animals of Islamic Azad University, Arak Branch, and the study was approved under the ethics code IR.IAU.ARAK.REC.1404.199.

Statistical Analysis: Data were analyzed using GraphPad Prism 8.4.3. Results are reported as mean $\pm$ standard deviation. Independent t-tests and one-way analysis of variance (ANOVA) were used to compare groups, with Tukey's post hoc test applied where appropriate. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Serum total antioxidant capacity (TAC) analysis revealed significant differences among the experimental groups. Stressed animals

exposed to CUMS combined with saline showed a marked decrease in serum TAC (approximately 198 mM/L lower on average) compared to the Intact group ($P < 0.0001$), confirming that chronic stress exposure induces oxidative damage (Figure 1).

In contrast, the E-FMT group, which received FMT from exercise-trained donors following microbiota depletion, exhibited significantly higher serum TAC levels compared to the control group ($P < 0.05$). This indicates that exercise-trained donors can enhance systemic antioxidant capacity through FMT. Conversely, the N-E-FMT group, which received FMT from nonexercising donors, failed to sustain this beneficial effect, underscoring that the donor's physical activity level serves as a critical determinant of FMT efficacy (Figure 2).

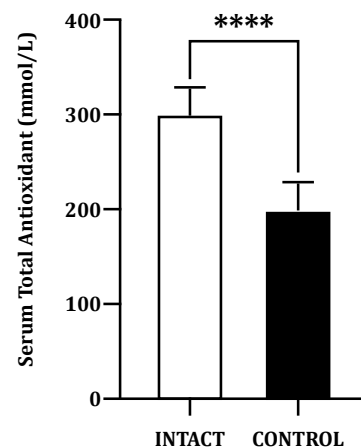


Figure 1) Total antioxidant capacity of serum from male mice. Control group mice received no treatment. In the other groups, mice were subjected to CUMS for three months. Data are presented as mean $\pm$ standard error (SEM). (****) $p \leq 0.0001$.

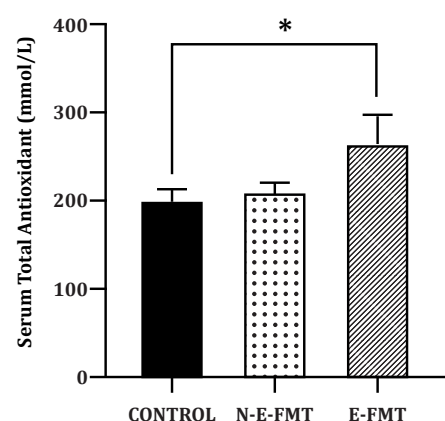


Figure 2) Total serum antioxidant capacity of male mice. In the INTACT group, mice received no treatment; the control group, mice underwent three-month treatment with CUMS; the N-E-FMT group, Mice were subjected to CUMS and, after depleting the gut microbiota, received two weeks of FMT; E-FMT group: mice were subjected to CUMS and, after depleting the gut microbiota, received two weeks of FMT from exercise-trained mice. Data are presented as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). (*) $p \leq 0.05$.

DISCUSSION

Our analysis showed that the EFMT group was significantly more effective in alleviating oxidative stress than the NEFMT group. Notably, although TAC levels slightly increased in the NEFMT group, this change was small and not statistically significant, suggesting no meaningful FMT-related effect from nonexercising donors. The elevated TAC observed in the EFMT group was likely attributable to a synergistic interaction between the donor's exercise training, gut microbiota composition, and the recipient's oxidative stress status.

These findings provided critical insights into the therapeutic potential of FMT derived from exercisetrained donors, as well as the role of aerobic exercise intervention, in modulating oxidative stress markers in the chronic unpredictable mild stress (CUMS) mouse model. The observed increases in total antioxidant capacity (TAC) across the groups involving gut microbiota modulation, oxidative stress induction, and physical activity intervention further emphasize the complex interplay among these factors.

The level of oxidative stress, as measured by serum antioxidant capacity, was significantly lower in the EFMT group than in the control group. This is consistent with previous studies showing that gut microbiota composition is largely influenced by aerobic exercise, leading to increased production of metabolites with antioxidant activity. Specifically, microbiota obtained from exercisetrained donors can increase the abundance of beneficial microorganisms in the recipient's gut and ameliorate systemic oxidative stress [11, 12]. Therefore, adults with chronic stress should consider aerobic exercise, given the age-related disorders in this population and the apparent positive effect of the EFMT group on TAC through aerobic exercise, which also fosters a healthy microbial environment. These findings support therapeutic approaches that combine FMT with lifestyle modifications for stress-related disorders.

The NEFMT group did not show a statistically significant change in serum TAC compared with the control group. Therefore, microbiota from nonexercising donors cannot establish the necessary profile to counteract oxidative stress. The efficacy of the microbiota transplant was donor-dependent, and microbiota profiles may exert unique systemic effects, as previously have demonstrated [13]. The observed lack of improvement in the NEFMT group further underscores the interdependence between donor preconditioning and FMT efficacy.

The significant reduction in TAC in the control group compared with the INTACT group further corroborates chronic stress as a critical contributor to systemic oxidative stress. Chronic stress leads to increased ROS production and depletion of antioxidants, ultimately resulting in cellular damage and metabolic dysregulation [14].

The results of this study contribute to the growing body of evidence indicating that oxidative stress is a key mediator of stress-related pathophysiology.

The contrasting outcomes observed between the EFMT and NEFMT groups demonstrated that donor preconditioning serves as a critical determinant in designing any effective FMT-based therapeutic regimen. Aerobic exercise appeared to exert a protective effect on the gut microbiota, an effect that could be successfully transferred to recipients through fecal microbiota transplantation (FMT). Furthermore, integrating aerobic exercise as an adjunct to modulate these mechanisms may optimize the efficacy of conventional therapies against stress-induced oxidative injury. Future studies should further explore these effects, particularly by identifying the specific microbial species or metabolites that preferentially mediate the observed improvements.

Given the available evidence, donor aerobic exercise was expected to promote increased gut microbial diversity and enrichment of bacteria producing beneficial metabolites, particularly short-chain fatty acids such as butyrate, propionate, and acetate [1, 3, 6]. These metabolites play a key role in enhancing antioxidant systems, reducing inflammation, and maintaining redox homeostasis, and they can exert their protective effects in the recipient host following transfer via FMT [3, 4, 7]. Moreover, exercise modulates microbial metabolic pathways and improves gut barrier function, thereby reducing intestinal permeability and limiting the induction of systemic inflammatory responses—processes that indirectly contribute to the attenuation of oxidative stress [4, 7, 8]. The observed increase in antioxidant capacity in the EFMT group likely reflects the successful transfer of these beneficial microbial-metabolic traits from exercisetrained donors to stressed recipients [1, 6]. Although the microbial composition and its derived metabolites were not directly measured in the present study, the concordance of our results with previous evidence underscores the necessity for future mechanistic investigations to validate these biological pathways [3, 7].

The small sample size and the use of a single donor per experimental group may limit the generalizability of these findings. Furthermore, while this study focused on oxidative stress, other physiological and behavioral parameters warrant further investigation to provide a comprehensive picture of the potential therapeutic effects of exercise-conditioned FMT. Longitudinal studies are also required to assess the durability of these effects.

CONCLUSION

Overall, this study shows that the fecal microbiota transplantation (FMT) from exercise-conditioned donors can ameliorate oxidative stress in the chronic unpredictable mild stress (CUMS) mouse model, whereas the FMT from unconditioned

donors has minimal biotherapeutic effect. These results indicate that aerobic exercise conditioning of the donor is crucial for realizing the potential therapeutic effects of FMT. Further research is needed to validate exercise and FMT as complementary therapeutic approaches for stress-related pathologies complicated by oxidative stress.

In conclusion, this study demonstrates that fecal microbiota transplantation (FMT) from exerciseconditioned donors can ameliorate oxidative stress in the chronic unpredictable mild stress (CUMS) mouse model, whereas FMT from unconditioned donors confers minimal therapeutic benefit. These findings indicate that aerobic exercise conditioning of the donor is crucial for realizing the potential therapeutic effects of FMT. Further research is warranted to validate exercise and FMT as complementary therapeutic strategies for stressrelated pathologies complicated by oxidative stress.

Clinical and Practical Points in Preventive Medicine

This topic holds particular significance in military and police medicine, as military and law enforcement personnel are frequently exposed to chronic stress, psychological strain, sleep deprivation, and strenuous physical activity—all of which can compromise performance. Maintaining physical fitness and mental health is therefore a critical determinant of operational effectiveness and decision-making capacity. Accordingly, alongside conventional interventions such as regular exercise, balanced nutrition, adequate sleep, and stress management, attention to gut microbiota health may emerge in the future as a complementary strategy in health promotion and resilience-building programs for individuals in high-stress occupations.

Acknowledgments: We would like to express our sincere gratitude to all who contributed to the execution of this study.

Author Contributions: Hamidreza Mohajerani: conceptualization and study design; Masoumeh Rajabi: data collection; Mahdi Rozbahani and Bijan Goudarzi: data analysis. All authors participated in the drafting and revision of the manuscript and, with the final approval of this paper, take full responsibility for the accuracy and integrity of its content.

Conflict of Interest: The authors declare no conflicts of interest with respect to the present study.

Financial Support: The present research received no financial support.



نشریه طب انتظامی



دسترسی آزاد

مقاله اصیل

تاثیر فعالیت بدنی فرد اهداکننده، بر پتانسیل درمانی پیوند میکروبیوتای مدفوع در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از استرس

معصومه رجبی^۱، حمید رضا مهاجرانی^{۲*}، مهدی روزبهانی^۳، بیژن گودرزی^۱

۱ گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.
۲ مرکز تحقیقات فناوری های کوانتومی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳ گروه رفتار حرکتی، دانشکده علوم انسانی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.

چکیده

اهداف: این مطالعه به بررسی اثرات پیوند میکروبیوتای مدفوع (FMT) از اهداکنندگان آموزش دیده ورزشی و ورزش هوازی بر استرس اکسیداتیو در موش های نر C57 تحت استرس خفیف غیرقابل پیش بینی مزمن (CUMS) می پردازد.

مواد و روش ها: چهار گروه از موش ها ($n=8$) مورد مطالعه قرار گرفتند: INTACT (بدون مداخله)، CUMS (CONTROL) با محلول نمکی، CUMS با N-E-FMT از اهداکنندگان کم تحرک و CUMS با E-FMT از اهداکنندگان آموزش دیده ورزشی). ظرفیت آنتی اکسیدانی کل سرم (TAC) برای ارزیابی استرس اکسیداتیو اندازه گیری شد.

یافته ها: گروه کنترل در مقایسه با گروه کنترل INTACT کاهش قابل توجهی در TAC نشان داد ($p<0/0001$)، که آسیب اکسیداتیو ناشی از استرس را تأیید می کند. گروه E-FMT افزایش قابل توجهی در TAC در مقایسه با گروه کنترل ($p<0/05$) نشان داد که نشان دهنده افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی است، در حالی که N-E-FMT هیچ بهبود قابل توجهی نشان نداد.

نتیجه گیری: این یافته ها نشان می دهد که FMT از اهداکنندگان تحت شرایط ورزشی، همراه با ورزش هوازی، به طور مؤثر استرس اکسیداتیو را کاهش می دهد و اهمیت فعالیت بدنی اهداکننده را در اثربخشی FMT برجسته می کند. این مطالعه پتانسیل درمانی FMT تحت شرایط ورزشی را برای آسیب اکسیداتیو مرتبط با استرس برجسته می کند و خواستار تحقیقات بیشتر در مورد مکانیسم های میکروبی زمینه ای است.

کلیدواژه ها: پیوند میکروبیوتای مدفوع، استرس اکسیداتیو، ورزش هوازی.

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۵
پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۰۵
انتشار: ۱۴۰۳/۱۲/۲۶

نویسنده مسئول*:

آدرس: مرکز تحقیقات فناوری های کوانتومی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، حصارک، تهران
ایران. کد پستی ۱۴۷۷۸۹۳۸۵۵.
پست الکترونیکی:
hr.mohajerani@iau.ac.ir

نحوه استناد به مقاله:

Rajabi M., Mohajerani H.R., Roozbahani M., Goodarzi B. The effect of donor physical activity on the therapeutic potential of fecal microbiota transplantation against stress-induced oxidative damage. J Police Med. 2025;14:e8.

مقدمه

میکروبیوم روده، ترکیب پیچیده‌ای از میکروبیوتا که مک‌فاب آن را در دستگاه گوارش مستقر در خانه می‌نامد، برای هموستاز فیزیولوژیکی بسیار مهم است. این ترکیب بر طیف گسترده‌ای از عملکردها، از جمله تعدیل ایمنی، کنترل متابولیک و تنظیم استرس اکسیداتیو تأثیر می‌گذارد. تغییرات و به دنبال آن تغییرات در ترکیب میکروبیوتای روده، که اغلب با فشار و اجزای سبک زندگی مرتبط هستند، در بسیاری از موقعیت‌های سلامتی، مانند بهبود استرس اکسیداتیو و التهاب، نقش دارند. این اختلالات بر نیاز به استراتژی‌های درمانی برای بازیابی هموستاز میکروبیوتا و کاهش آسیب‌های ناشی از استرس تأکید می‌کنند [۱].

در این راستا، پیوند میکروبیوتای مدفوع (FMT)، به عنوان یک مداخله درمانی نوآورانه برای برقراری مجدد تنوع روده ظهور کرده است [۲]. FMT به عنوان انتقال میکروبیوتای سالم روده یک اهداکننده به میزبان، به منظور بازیابی تعادل میکروبیوتای او توصیف می‌شود. همانطور که می‌توان استنباط کرد، اثربخشی بالینی FMT تا حد زیادی به ترکیب میکروبیوتای اهداکننده بستگی دارد. با این حال، نشان داده شده است که میکروبیوتای افراد فعال از نظر جسمی - به ویژه ورزشکاران - به دلیل تنوع میکروبی و تغییرات عملکردی ناشی از ورزش، تغییرات مفیدتری را ایجاد می‌کند [۳، ۴]. از آنجایی که ورزش فواید سلامتی شناخته شده‌ای مانند بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش مقاومت در برابر استرس دارد، همچنین کاندیدای بسیار خوبی برای هم‌افزایی است [۵، ۶].

استرس مزمن یک مورد کلاسیک از استرس اکسیداتیو است، حالتی از عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و توانایی ارگانیزم در خنثی کردن آنها با آنتی‌اکسیدان‌ها. استرس خفیف مزمن غیرقابل پیش‌بینی (CUMS) یک مدل حیوانی پرکاربرد است که اثرات فیزیولوژیکی و روانی قرار گرفتن در معرض استرس مزمن را به طور کامل تکرار می‌کند. این مدل استرس اکسیداتیو سیستمیک ایجاد می‌کند که آن را به بستری ایده‌آل برای ارزیابی اثرات مداخلاتی مانند پیوند میکروبیوتای مدفوع (FMT) و ورزش تبدیل می‌کند [۷، ۸].

این مطالعه اثرات حاد پیوند میکروبیوتای مدفوع (FMT) از اهداکنندگان آموزش دیده ورزشی و ورزش هوازی بر استرس اکسیداتیو در موش‌های نر C57 که در معرض CUMS قرار داشتند را ارزیابی کرد. هدف این مطالعه شناسایی یک استراتژی درمانی جدید برای تنظیم آسیب اکسیداتیو ناشی از استرس از طریق ترکیب این دو روش درمانی است. همچنین، این مطالعه به بررسی این موضوع می‌پردازد که چگونه کیفیت میکروبیوتای منتقل شده به سطح فعالیت بدنی اهداکننده بستگی دارد و چگونه بر کارایی FMT ارائه شده به همان نوع افراد تحت استرس تأثیر می‌گذارد [۹، ۱۰].

نتایج این مطالعه همچنین ممکن است به درک بین ورزش، میکروبیوتای روده و استرس اکسیداتیو کمک کند. با روشن کردن مکانیسم‌های پشت افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سیستمیک ناشی از FMT از اهداکنندگان ورزشکار، این کار به دنبال ایجاد پایه و اساس رویکردهای درمانی نوآورانه علیه استرس اکسیداتیو و آسیب‌شناسی‌های مرتبط است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی حیوانی به صورت پیش‌بالینی،

مداخله‌ای و کنترل‌شده با طراحی گروه‌های موازی بود. در این پژوهش از موش‌های نر بالغ از نژاد C57 با وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم استفاده شد که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند. حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی، شامل دمای $22 \pm 2^\circ\text{C}$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد و چرخه ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی نگهداری شدند. موش‌ها به آب آشامیدنی و غذای استاندارد دسترسی آزاد داشتند. پیش از شروع آزمایش نیز یک هفته برای سازگاری با محیط آزمایشگاه در نظر گرفته شد تا استرس ناشی از جابه‌جایی و محیط جدید کاهش یابد.

پروتکل ورزش هوازی: برای تهیه FMT از اهداکنندگان ورزش کرده، موش‌های اهداکننده گروه ورزشی به مدت ۳ هفته تحت تمرین هوازی روی تردمیل قرار گرفتند. ابتدا حیوانات به مدت ۳ روز با تردمیل آشنا شدند؛ در این مرحله، هر روز ۱۰ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه و بدون شیب تمرین کردند.

پس از دوره آشنایی، برنامه اصلی به صورت **جدول ۱** انجام شد:

جدول ۱) پروتکل ورزش هوازی

هفته	تعداد جلسات	مدت هر جلسه	سرعت تردمیل
اول	۵ جلسه در هفته	۳۰ دقیقه	۱۲ متر/دقیقه
دوم	۵ جلسه در هفته	۳۰ دقیقه	۱۴ متر/دقیقه
سوم	۵ جلسه در هفته	۳۰ دقیقه	۱۶ متر/دقیقه

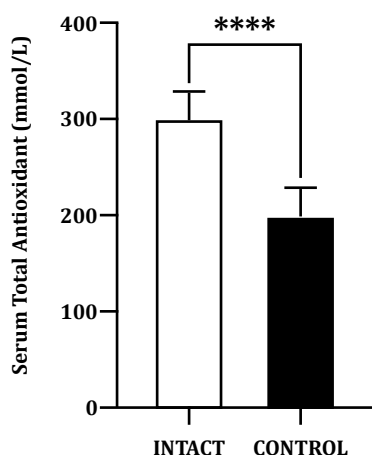
شیب تردمیل صفر درصد بود. این برنامه به‌عنوان تمرین هوازی با شدت متوسط در نظر گرفته شد. اهداکنندگان غیرورزشکار در طول مطالعه هیچ برنامه تمرینی دریافت نکردند و در شرایط استاندارد نگهداری شدند.

موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه آزمایشی ($n=8$) در هر گروه) تقسیم شدند. گروه بدون مداخله (Intact)، هیچ مداخله‌ای دریافت نکرد و به عنوان گروه کنترل پایه در نظر گرفته شد. گروه کنترل به مدت سه ماه در معرض استرس خفیف مزمن غیرقابل پیش‌بینی (CUMS) قرار گرفت و پس از آن به مدت دو هفته، روزانه یک بار (به مدت دو هفته) محلول PBS را به‌صورت گاوژ دریافت کردند. گروه N-E-FMT به مدت سه ماه در معرض CUMS قرار گرفتند و سپس برای کاهش میکروبیوتای روده، تحت درمان آنتی‌بیوتیکی قرار گرفت و پس از آن FMT دریافت کرد. منبع FMT در این گروه، موش‌های اهداکننده غیرورزشکار بود. گروه E-FMT، نیز CUMS دریافت کرد و پس از تخلیه میکروبیوتای روده، FMT تهیه شده از موش‌های اهداکننده‌ای را دریافت کرد که قبلاً تحت برنامه سه‌هفته‌ای تمرین هوازی قرار گرفته بودند.

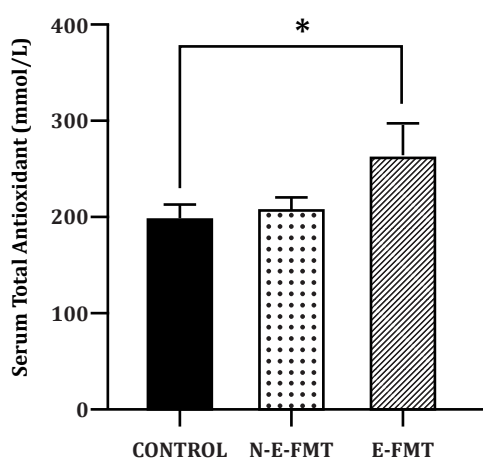
تخلیه میکروبیوتای روده: برای آماده‌سازی موش‌های گیرنده گروه‌های FMT، ابتدا میکروبیوتای روده با استفاده از یک ترکیب آنتی‌بیوتیکی وسیع‌الطیف کاهش داده شد. آنتی‌بیوتیک‌ها شامل وانکومایسین (50 day/kg/mg)، آمپی‌سیلین (100 day/kg/mg) و نئومایسین (100 day/kg/mg) بودند. این آنتی‌بیوتیک‌ها به مدت ۱۴ روز متوالی و به‌صورت خوراکی (گاوژ) تجویز شدند. پس از پایان دوره آنتی‌بیوتیکی، یک دوره ۴۸ ساعته بدون مداخله در نظر گرفته شد و سپس FMT به مدت ۱۴ روز متوالی انجام گرفت.

ایجاد مدل استرس مزمن: برای ایجاد استرس، از مدل استرس خفیف مزمن غیرقابل پیش‌بینی (CUMS) استفاده شد.

اهدانندگان که تمرینات ورزشی پایه انجام می‌دهند و FMT اهدا می‌کنند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سیستمیک را افزایش می‌دهند. از سوی دیگر، گروه FMT-E-N واقعا قادر به ادامه استفاده از این مزیت نبود زیرا FMT از اهدانندگان غیرفعال به دلیل عدم ورزش دریافت شده بود، به طوری که توانایی ورزشی اهدانندگان به طور قابل توجهی به عنوان تعیین‌کننده اثربخشی FMT عمل می‌کرد (شکل ۲).



شکل ۱) ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم موش‌های نر. موش‌های گروه کنترل هیچ درمانی دریافت نکردند. در گروه‌های دیگر، موش‌ها تحت اعمال CUMS به مدت سه ماه قرار گرفتند. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ SEM ارائه شده‌اند. (****) $p < 0.0001$.



شکل ۲) ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم موش‌های نر. در گروه دست‌نخورده، موش‌های این گروه هیچ درمانی دریافت نکردند؛ گروه کنترل، موش‌ها تحت درمان سه ماهه با CUMS قرار گرفتند؛ گروه N-E-FMT، موش‌ها در معرض CUMS قرار گرفتند و پس از تخلیه میکروبیوتای روده، دو هفته FMT دریافت کردند؛ گروه E-FMT، موش‌ها در معرض CUMS قرار گرفتند و پس از تخلیه میکروبیوتای روده، دو هفته FMT از موش‌های آموزش‌دیده ورزشی دریافت کردند. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ میانگین استاندارد (SEM) ارائه شده‌اند. (*) $p < 0.05$.

بحث

تحلیل ارائه شده در این بخش نشان می‌دهد که گروه FMT-E در کاهش استرس اکسیداتیو به طور قابل توجهی مؤثرتر از گروه FMT-E-N بود. توجه به این نکته مهم است که در حالی که مقداری افزایش در مقادیر TAC در گروه FMT-E-N وجود داشت، این افزایش کوچک بود و به اندازه کافی قابل توجه نبود.

حیوانات به مدت سه ماه در معرض ترکیبی از عوامل استرس‌زای مختلف قرار گرفتند. این عوامل هفت مورد به ازای ۷ روزهفته و شامل آویزان کردن از دم، قرار گرفتن در بستر مرطوب، اختلالات صوتی، روشن نگه‌داشتن محیط در دوره تاریکی، تغییر جهت و خم کردن قفس، نوردهی به صورت چشمک زن با استفاده از لامپ استروبوکوپ و بی حرکت کردن و محدودسازی حیوان بودند. ویژگی مهم این مدل، غیرقابل‌پیش‌بینی بودن عوامل استرس‌زا برای حیوان است.

تهیه و انتقال FMT: مدفوع موش‌های اهداننده جمع‌آوری شد و در PBS استریل همگن‌سازی گردید. سپس برای تهیه ماده مورد استفاده در پیوند، نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند و مایع رویی مورد استفاده قرار گرفت. این مایع به مدت دو هفته، روزانه از طریق گاواژ خوراکی به موش‌های گیرنده داده شد. حجم تجویز ۲۰۰ میکرولیتر به ازای هر موش در روز بود. موش‌های گروه‌های N-E-FMT و E-FMT نیز پس از پایان آنتی‌بیوتیک‌ها، پیش از دریافت FMT، دو روز فرصت برای دوره نقاهت داشتند.

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC): برای بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سرم (TAC) اندازه‌گیری شد. خون حیوانات از طریق خون‌گیری از پشت چشم جمع‌آوری و سپس با سرعت ۱۰,۰۰۰ $\times$ g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد تا سرم جدا شود. برای اندازه‌گیری TAC از کیت تجاری استفاده شد. نمونه‌ها و استانداردها در پلیت ۹۶ خانه قرار گرفتند و پس از افزودن محلول کاری، به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر با استفاده از میکروپلیت‌ریدر اندازه‌گیری شد. مقدار TAC بر اساس منحنی استاندارد و با استفاده از معادله رگرسیون خطی محاسبه شد.

ملاحظات اخلاقی: تمام مراحل آزمایش مطابق دستورالعمل‌های مربوط به مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک انجام شد و مطالعه با کد اخلاق ۱۴۰۴/۱۹۹REC.ARAK.IAU.IR به تأیید رسید.

تجزیه و تحلیل آماری: برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار Prism GraphPad ۸/۴/۳ استفاده شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون t مستقل و تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد و در موارد لازم، آزمون تعقیبی Tukey انجام گرفت. سطح معنی‌داری آماری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سرم (TAC) در سرم، تفاوتی را برای گروه‌های مورد بررسی در این مطالعه نشان داد. حیوانات غیر کنترل تحت استرس در معرض حامل saline-and-CUMS قرار گرفتند که باعث شد TAC در مقایسه با گروه INTACT به طور قابل توجهی (به طور متوسط حدود ۱۹۸ میلی‌مول در لیتر کمتر) کاهش یابد، (بنابراین، این ادعا را تأیید می‌کند که قرار گرفتن در معرض استرس مزمن باعث ایجاد برخی آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود (شکل ۱)).

با این حال، با افزایش مقایسه گروه FMT-E که پس از تخلیه میکروبیوتا، تحت پیوند میکروبیوتای مدفوع از اهدانندگان آموزش دیده ورزشی قرار گرفتند با گروه کنترل، اکنون TAC به طور قابل توجهی بیشتر از گروه کنترل افزایش یافته است. سطح معنی‌داری بالا بود ($p < 0.05$), که ثابت می‌کند

اکسیداتیو ناشی از استرس را بهینه کند. این اثرات را می‌توان در مطالعات بیشتر، از جمله شناسایی گونه‌های میکروبی یا متابولیت‌های میکروبی که ترجیحاً باعث بهبودهای مشاهده شده می‌شوند، بررسی کرد.

با توجه به شواهد موجود، انتظار می‌رفت ورزش هوازی اهداکننده منجر به افزایش تنوع میکروبی روده و غنای باکتری‌های تولیدکننده متابولیت‌های مفید، به‌ویژه اسیدهای چرب زنجیره کوتاه مانند بوتیرات، پروپیونات و استات شود [۳، ۶]. این متابولیت‌ها نقش کلیدی در تقویت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش التهاب و حفظ هموستاز اکسیداتیو ایفا می‌کنند و می‌توانند پس از انتقال از طریق FMT، اثرات محافظتی خود را در میزبان گیرنده اعمال نمایند [۳، ۴، ۷]. علاوه بر این، ورزش از طریق تعدیل مسیرهای متابولیکی میکروبی و بهبود عملکرد سد روده‌ای، موجب کاهش نفوذپذیری روده و محدود شدن القای پاسخ‌های التهابی سیستمیک می‌شود که این فرایندها به‌طور غیرمستقیم در کاهش استرس اکسیداتیو نقش دارند [۴، ۷، ۸]. افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در گروه FMT-E احتمالاً بازتابی از انتقال این تغییرات میکروبی - متابولیتی سودمند از اهداکنندگان آموزش‌دیده ورزشی به گیرندگان تحت استرس بود [۱، ۶]. اگرچه در مطالعه حاضر ترکیب میکروبی و متابولیت‌های مشتق از آن به‌طور مستقیم اندازه‌گیری نشدند، هم‌راستایی نتایج با شواهد پیشین، ضرورت انجام مطالعات مکانیسمی آینده را برای تأیید این مسیرهای زیستی تقویت می‌کند [۳، ۷].

حجم نمونه کوچک و استفاده از یک اهداکننده واحد برای نشان دادن هر گروه ممکن است تعمیم‌پذیری این یافته‌ها را محدود کند. علاوه بر این، این مطالعه استرس اکسیداتیو را بررسی کرد، اما سایر پارامترهای فیزیولوژیکی و رفتاری باید بیشتر بررسی شوند تا یک مرور کلی از اثرات درمانی بالقوه FMT مشروط به ورزش ارائه شود. مطالعات طولی برای ارزیابی دوام این اثرات نیز مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری

در مجموع، این مطالعه نشان می‌دهد که پیوند میکروبیوتای مدفوع (FMT) اهداکنندگان مشروط به ورزش می‌تواند استرس اکسیداتیو را در مدل موشی استرس خفیف غیرقابل پیش‌بینی مزمن (CUMS) بهبود بخشد، در حالی که پیوند میکروبیوتای مدفوع اهداکنندگان غیر مشروط، اثر زیست‌درمانی حداقلی دارد. این نتایج نشان می‌دهد که شرطی‌سازی ورزشی هوازی اهداکننده برای تحقق اثرات درمانی بالقوه FMT بسیار مهم است. تحقیقات بیشتری برای اعتبارسنجی ورزش و FMT به عنوان روش‌های درمانی مکمل برای آسیب‌شناسی‌های مرتبط با استرس که توسط استرس اکسیداتیو پیچیده می‌شوند، مورد نیاز است.

نکات بالینی و کاربردی در طب انتظامی

این موضوع در طب انتظامی از آن جهت اهمیت دارد که کارکنان نظامی و انتظامی ممکن است در معرض استرس‌های مزمن، فشارهای روانی، کم‌خوابی و فعالیت‌های بدنی شدید قرار داشته باشند و حفظ آمادگی جسمانی و سلامت روانی آنان از عوامل مؤثر بر عملکرد شغلی و تصمیم‌گیری است. بنابراین، در کنار مداخلات متداول مانند ورزش منظم، تغذیه مناسب، خواب کافی و مدیریت استرس، توجه به سلامت میکروبیوتای روده می‌تواند

که نشان‌دهنده تأثیر مرتبط FMT در اهداکنندگانی باشد که ورزش نمی‌کنند. افزایش TAC در گروه FMT-E احتمالاً به دلیل نوعی رابطه هم‌افزایی موجود بین ورزش اهداکننده و ترکیب میکروبیوتای روده و وضعیت استرس اکسیداتیو مرتبط با گیرنده است.

این یافته‌ها، فرضیه‌های حیاتی در مورد چشم‌انداز دارویی FMT از اهداکنندگان مبتلا به AE و همچنین مداخله AE در مورد شاخص‌های استرس اکسیداتیو در مدل موشی استرس خفیف غیرقابل پیش‌بینی مزمن (CUMS) ارائه می‌دهند. افزایش سطح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) که در گروه‌های میکروبیوتای روده، استرس اکسیداتیو و فعالیت بدنی مشاهده شد، این رابطه پیچیده را بیشتر تأکید می‌کند.

سطح استرس اکسیداتیو، همانطور که با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم اندازه‌گیری می‌شود، در گروه FMT-E به طور قابل توجهی کمتر از گروه کنترل بود. این مطابق با مطالعات قبلی است که نشان داده‌اند ترکیب میکروبیوتای روده تا حد زیادی تحت تأثیر ورزش هوازی قرار می‌گیرد و منجر به افزایش تولید متابولیت‌هایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. به طور خاص، میکروبیوتای به دست آمده از اهداکنندگان آموزش‌دیده ورزشی می‌تواند فراوانی میکروارگانیسم‌های مطلوب را در روده گیرنده افزایش داده و استرس اکسیداتیو سیستمیک را اصلاح کند [۱۱، ۱۲]. بنابراین، بزرگسالان مسن‌تر مبتلا به استرس مزمن باید ورزش هوازی را بر اساس اختلالات مرتبط با سالمندان در این گروه سنی و نتایجی که به نظر می‌رسد گروه FMT-E از طریق ورزش هوازی بر TAC آنها تأثیر مثبت گذاشته و یک محیط میکروبی سالم ایجاد کرده است، در نظر بگیرند. این یافته‌ها از چنین رویکردی برای اختلالات مرتبط با استرس که ترکیبی از FMT و تغییرات سبک زندگی هستند، پشتیبانی می‌کنند.

گروه FMT-E-N در مقایسه با گروه کنترل، تغییر آماری معنی‌داری در TAC سرم نشان نداد. از این رو، میکروبیوتای اهداکننده که در معرض ورزش هوازی قرار نمی‌گیرند، نمی‌توانند پروفایل لازم برای مبارزه با استرس اکسیداتیو را ایجاد کنند. پیوند میکروبیوتا وابسته به اهداکننده بود و پروفایل‌های میکروبیوتا ممکن است اثرات منحصر به فردی در سراسر سیستم داشته باشند، همانطور که در مطالعات قبلی نشان داده شده است [۱۳]. عدم بهبود مشاهده شده در گروه FMT-E-N، وابستگی متقابل شرطی‌سازی اهداکننده و اثربخشی FMT را تقویت کرد.

کاهش قابل توجه TAC در گروه کنترل در مقابل گروه INTACT، استرس مزمن را به عنوان یک علت مهم عدم تعادل اکسیداتیو سیستمیک بیشتر تأیید می‌کند. استرس مزمن منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها و نهایتاً آسیب سلولی و اختلال در تنظیم متابولیک می‌شود [۱۴]. نتایج این مطالعه به شواهد فزاینده‌ای کمک می‌کند که نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو واسطه کلیدی پاتوفیزیولوژی‌های مرتبط با استرس است.

نتایج متناقض مشاهده شده در گروه‌های FMT-E و FMT-E-N نشان داد که شرطی‌سازی اهداکننده، ویژگی اصلی طراحی هر برنامه درمانی مؤثر مبتنی بر FMT بود. به نظر می‌رسد ورزش هوازی اثر محافظتی بر میکروبیوتای روده داشت که توانست از طریق پیوند میکروبیوتای مدفوع (FMT) به گیرندگان منتقل شد. علاوه بر این، مکمل‌سازی با ورزش هوازی در تعدیل این مکانیسم‌ها ممکن است اثربخشی درمان‌های سنتی بر آسیب

داده‌ها. همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله و بازنگری آن سهیم بودند و همه با تأیید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تعارض منافع: بدین‌وسیله نویسندگان مقاله تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تعارض منافعی در قبال مطالعه حاضر وجود ندارد.

حمایت مالی: پژوهش حاضر هیچ‌گونه حمایت مالی نداشته است.

در آینده به‌عنوان یک رویکرد مکمل در برنامه‌های ارتقای سلامت و افزایش تاب‌آوری افراد شاغل در مشاغل پراسترس مطرح شود. تشکر و قدردانی: با تشکر و قدردانی از تمام کسانی که در اجرای این پژوهش یاری نمودند.

سهم نویسندگان: حمیدرضا مهاجرانی، ارائه ایده و طراحی مطالعه؛ معصومه رجبی، جمع‌آوری داده‌ها؛ بامهدی روزبهانی و بیژن گودرزی؛ مهدی روزبهانی و بیژن گودرزی، تجزیه و تحلیل

REFERENCES

1. Jeon TJ, Lee YJ, Kim JH, Kim J, Park S, Han D, et al. Exercise alters gut microbiota and increases butyrate production in obese children: a randomized controlled trial. *Gut Microbes*. 2022;14(1):2015432. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001495>
2. Jia H, Guo X, Wei Y, Can C, He N, Zhang H, Yang X, Wu H, Liu W, Ma D. Chronic stress, gut microbiota, and immunity: interconnections and implications for health. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2025 Dec;480(12):5995-6014. <https://doi.org/10.1007/s11010-025-05376-y>
3. Carlone J, Giampaoli S, Brancucci A. Interactions between gut microbiota and brain: Possible effects on sport performance. *Journal of Science in Sport and Exercise*. 2025 Oct 22;1-23. <https://doi.org/10.1007/s42978-025-00344-w>
4. Yoon EJ, Lee SR, Ortutu BF, Kim JO, Jaiswal V, Baek S, Yoon SI, Lee SK, Yoon JH, Lee HJ, Cho JA. Effect of endurance exercise training on gut microbiota and ER stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024 Oct 5;25(19): 10742. <https://doi.org/10.3390/ijms251910742>
5. Fekete M, Lehocski A, Major D, Fazekas-Pongor V, Csíró T, Tarantini S, Csizmadia Z, Varga JT. Exploring the influence of gut-brain axis modulation on cognitive health: A comprehensive review of prebiotics, probiotics, and symbiotics. *Nutrients*. 2024 Mar 10;16(6): 789. <https://doi.org/10.3390/nu16060789>
6. Yoon EJ, Kim SH, Lee HS, Kwon S, Park HJ, Kim M. Effect of endurance exercise training on gut microbiota composition and gut barrier function in rats. *Int J Mol Sci*. 2024;25(19):10742. <https://doi.org/10.3390/ijms251910742>
7. Semenova N, Garashchenko N, Kolesnikov S, Darenkaya M, Kolesnikova L. Gut microbiome interactions with oxidative stress: mechanisms and consequences for health. *Pathophysiology*. 2024;31(3):309-330. <https://doi.org/10.3390/pathophysiology31030023>
8. Das A. Role of oxidative stress, gut microbiota and derived metabolites in metabolic disease progression. *Reprod Eff Metab*. 2023;1:REM-23-0016. <https://doi.org/10.1530/REM-23-0016>
9. Hawley JA. Exercise, the gut microbiome and gastrointestinal diseases. *Gastroenterology*. 2025;(in press). <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2025.01.224>
10. Sultana A, Hussain MS, Maqbool M, Agrawal M, Bisht AS, Khurana N, Singh G, Kumar R. The gut connection: a narrative review on the in-depth analysis of gut microbiota and metabolites in depression. *Current reviews in clinical and experimental pharmacology*. 2026 Feb;21(1):25-51.
11. Li N, Wang Y, Xu W, Liu J, Li Q, Chen Y, et al. Fecal microbiota transplantation improves cognitive function of a mouse model of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*. 2023;13:110. <https://doi.org/10.1111/cns.70259>
12. Yao M, Qu Y, Zheng Y, Guo H. The effect of exercise on depression and gut microbiota: Possible mechanisms. *Brain Research Bulletin*. 2025 Jan 1;220: 111130. <https://doi.org/10.1016/j.brainres-bull.2024.111130>
13. Sun MF, Zhu YL, Zhou ZL, Jia XB, Xu YD, Yang Q, et al. Neuroprotective effects of fecal microbiota transplantation on a mouse model of Parkinson's disease. *Microbiome*. 2021; 9:226. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.02.005>
14. Das TK, Kumar A, Singh S, Yadav R, Sharma P, Patel D, et al. Interlink between the gut microbiota and inflammation in mental and metabolic disorders. *Gut Microbes*. 2023;15(1):2206504. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2206504>