

تأثیر تمرینات هوازی تناوبی و مصرف مکمل پروبیوتیک بر بیان ژنهای مسیر خارجی آپوپتوز در بافت قلب موش های مبتلا به انفارکتوس میوکارد: محور Caspase-3 و Caspase-8، TNF- α ، Fas/FasL

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۱۱- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۱۴

خلاصه

مقدمه: هدف این مطالعه بررسی اثر تمرینات هوازی تناوبی (AIT) و مکمل پروبیوتیک، به صورت منفرد و ترکیبی، بر بیان ژنهای مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز شامل محور Fas/FasL، TNF- α ، Caspase-3 و Caspase-8 در بافت قلب موش های مبتلا به انفارکتوس میوکارد بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی، ۴۸ سر موش صحرایی نر ویستار به شش گروه شامل کنترل سالم، شم، انفارکتوس میوکارد، انفارکتوس+تمرین، انفارکتوس+پروبیوتیک و انفارکتوس+تمرین+پروبیوتیک تقسیم شدند و مدل انفارکتوس با انسداد شریان کرونری ایجاد گردید. پروتکل تمرین به مدت ۱۰ هفته اجرا شد و مکمل پروبیوتیک به صورت روزانه تجویز گردید. بیان ژن ها با روش Real-Time PCR و روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ -اندازه گیری شد و داده ها با آزمون ANOVA تحلیل گردید.

نتایج: نتایج نشان داد القای انفارکتوس میوکارد موجب افزایش معنی دار بیان ژنهای محور TNF- α ، Fas/FasL، Caspase-3 و Caspase-8 در بافت قلب شد. در مقابل، تمرین هوازی تناوبی و مکمل پروبیوتیک هر یک به تنهایی موجب کاهش نسبی این شاخص ها گردیدند. با این حال، در گروه دریافت کننده مداخله ترکیبی، کاهش بیشتری در بیان ژنهای مورد بررسی نسبت به گروه های مداخله منفرد مشاهده شد. همچنین TNF- α به عنوان شاخص التهابی در گروه های مداخله کاهش نشان داد ($p > 0.05$).

نتیجه گیری: در مجموع، یافته های این مطالعه نشان می دهد که تمرین هوازی تناوبی و مکمل پروبیوتیک می توانند از طریق تعدیل بیان ژنهای محور Fas/FasL و سایر ژنهای مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز و همچنین کاهش نسبی شاخص های التهابی، با بهبود وضعیت مولکولی بافت قلب پس از انفارکتوس همراه باشند.

کلمات کلیدی: انفارکتوس میوکارد، آپوپتوز، تمرین هوازی تناوبی، پروبیوتیک، TNF- α

سید تورج میری ریکنده^۱

الهام افتخاری قینانی^{۲*}

جمشید بنایی بروجنی^۳

^۱گروه علوم ورزشی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد

اسلامی، نجف آباد، ایران

^۲گروه علوم ورزشی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد

اسلامی، نجف آباد، ایران (نویسنده مسئول).

^۳گروه علوم ورزشی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد

اسلامی، نجف آباد، ایران

Email:

elhameftekhari@iau.ac.ir

مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی، به‌ویژه انفارکتوس میوکارد، از مهم‌ترین علل مرگ‌ومیر در جهان به‌شمار می‌روند. این بیماری در اثر انسداد جریان خون کرونری ایجاد شده و موجب آسیب ساختاری و عملکردی قابل توجه در بافت عضله قلب می‌شود. این آسیب می‌تواند منجر به اختلال در توان پمپاژ قلب، بروز نارسایی قلبی و افزایش خطر مرگ ناگهانی گردد. در سطح مولکولی، بازسازی پس از انفارکتوس فرآیندی پیچیده و وابسته به تغییرات ژنتیکی و سلولی گسترده است که در پیش‌آگهی بیماران نقش تعیین‌کننده دارد (۱). از سوی دیگر، مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده یکی از محورهای اصلی در پاتوفیزیولوژی آسیب قلبی محسوب می‌شود و نقش آن در گسترش تخریب میوکارد مورد تأکید قرار گرفته است (۲). همچنین گزارش‌های جدید نشان داده‌اند که پیشرفت نارسایی قلبی پس از انفارکتوس با تغییر در شبکه‌های تنظیمی مرتبط با مرگ سلولی همراه است که می‌تواند شدت آسیب را افزایش دهد (۳). در این میان، تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای مرگ سلولی از جمله محور Fas/FasL و سایر ژن‌های کلیدی، از عوامل مهم در تعیین سرنوشت سلول‌های قلبی پس از آسیب ایسکمیک محسوب می‌شود (۴).

در سطح سلولی، انفارکتوس میوکارد موجب فعال شدن مجموعه‌ای از مسیرهای مرگ سلولی شامل نکروز و آپوپتوز می‌شود که در نهایت به کاهش عملکرد قلب منجر می‌گردد (۲). در این فرآیند، مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با گیرنده‌های مرگ نقش کلیدی در آغاز و گسترش پاسخ‌های سلولی دارند. شواهد نشان می‌دهد که فعال‌سازی هماهنگ این مسیرها می‌تواند شدت آسیب بافتی را افزایش دهد و روند تخریب میوکارد را تسریع کند (۳). در این راستا، بیان ژن‌های مرتبط با پاسخ التهابی و مرگ سلولی از جمله $TNF-\alpha$ در شرایط ایسکمیک به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و

می‌تواند در تشدید آسیب نقش داشته باشد. همچنین تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با مرگ سلولی در بافت قلب به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم شدت آسیب پس از انفارکتوس مطرح شده‌اند (۵). این مجموعه تغییرات نشان می‌دهد که تنظیم ژن‌های کلیدی مسیرهای مرگ سلولی نقش مهمی در پیشرفت آسیب قلبی دارد.

مسیر خارجی آپوپتوز یکی از مهم‌ترین مسیرهای مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی در بافت قلب است که از طریق گیرنده‌های سطح سلول فعال می‌شود. در این مسیر، محور Fas/FasL و $TNF-\alpha$ به‌عنوان محرک‌های اولیه، آغازگر آبشار سیگنالینگ مرگ سلولی هستند که در نهایت به افزایش بیان ژن‌های کاسپازهای آغازگر و اجرایی منجر می‌شوند (۶). شواهد نشان داده‌اند که هماهنگی میان این گیرنده‌ها و کاسپازها نقش تعیین‌کننده‌ای در شدت آسیب قلبی دارد (۷). در صورت اختلال در تنظیم این مسیر، احتمال افزایش مرگ سلولی و کاهش بقای بافت قلبی بیشتر می‌شود (وو و همکاران، ۲۰۲۵). از منظر مولکولی نیز محور Fas/FasL و $TNF-\alpha$ در تنظیم شبکه مرگ سلولی نقش محوری دارد (اوکس و کاینا، ۲۰۰۰). در همین راستا، Caspase-8 به‌عنوان کاسپاز آغازگر و Caspase-3 به‌عنوان کاسپاز اجرایی، از شاخص‌های مهم بیان ژنی در تبیین شدت آسیب سلولی مورد توجه قرار می‌گیرند (۸).

در سال‌های اخیر، محور روده-قلب به‌عنوان یکی از مسیرهای نوین تنظیم‌کننده پاسخ‌های قلبی-عروقی مطرح شده است و نقش میکروبیوتای روده در بیماری‌های قلبی مورد توجه قرار گرفته است. پروبیوتیک‌ها از طریق تغییر ترکیب میکروبی روده و اثرگذاری بر متابولیت‌های زیستی، می‌توانند پاسخ‌های التهابی سیستمیک را تعدیل کنند و در نتیجه بر شاخص‌های مرتبط با بیان ژن‌های آسیب قلبی اثرگذار باشند (۹). در این راستا، کاهش $TNF-\alpha$ به‌عنوان

یکی از شاخص‌های التهابی اندازه‌گیری شده، از مکانیسم‌های احتمالی اثر پروبیوتیک‌ها محسوب می‌شود (۱۰). همچنین گزارش شده است که تغییرات میکروبی روده می‌تواند بر بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای مرگ سلولی اثر بگذارد (۱۱). تمرینات هوازی تناوبی نیز به عنوان یک مداخله غیر دارویی مؤثر در بهبود سازگاری‌های قلبی-عروقی شناخته می‌شوند و می‌توانند در تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با مرگ سلولی نقش داشته باشند (۱۲). همچنین گزارش شده است که این نوع تمرین می‌تواند بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای آپوپتوز را تعدیل کند و مقاومت سلول‌های قلبی را افزایش دهد. علاوه بر این، اثرات تمرین بر مسیرهای مرگ سلولی در مطالعات مختلف مورد تأیید قرار گرفته است (۵).

با وجود شواهد موجود درباره اثرات تمرینات هوازی تناوبی و پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های قلبی-عروقی، هنوز ابهاماتی درباره اثر هم‌زمان این دو مداخله بر بیان ژن‌های مسیر خارجی آپوپتوز وجود دارد. یوان و آفنگیم (۱۳) بیان کرده‌اند که تعامل میان مسیرهای مرگ سلولی در شرایط انفارکتوس پیچیده بوده و نیازمند بررسی‌های ترکیبی است. همچنین و همکاران (۳) تأکید کرده‌اند که پاسخ‌های مرگ سلولی تحت تأثیر هم‌زمان عوامل التهابی قرار دارند و مداخلات ترکیبی ممکن است الگوهای متفاوتی نسبت به مداخلات منفرد ایجاد کنند. از سوی دیگر، لوسی (۱۴) نشان داده است که هماهنگی میان مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوز در شرایط ایسکمی تغییر می‌کند، اما نقش مداخلات غیردارویی در این تنظیم هنوز به طور کامل مشخص نیست. همچنین ساهو و همکاران (۸) بیان کرده‌اند که کاسپازها به عنوان اجزای کلیدی مسیر مرگ سلولی به شدت تحت تأثیر محرک‌های محیطی قرار دارند، اما اثر هم‌زمان تمرین و پروبیوتیک بر بیان ژن‌های این مسیرها کمتر بررسی شده است. در مجموع، با توجه به شواهد موجود از جمله مطالعات لیانگ و همکاران (۹)، رضایی و همکاران (۱۵) و جیانگ و همکاران (۱۲)،

مشخص است که هر یک از این مداخلات اثرات تعدیلی بر شاخص‌های مولکولی دارند، اما خلأ پژوهشی در بررسی اثر هم‌زمان آن‌ها بر بیان ژن‌های مسیر خارجی آپوپتوز در مدل انفارکتوس میوکارد وجود دارد. بنابراین هدف این مطالعه بررسی اثر تمرینات هوازی تناوبی و مکمل پروبیوتیک به صورت منفرد و ترکیبی بر بیان ژن‌های محور Fas/FasL، TNF- α ، Caspase-8 و Caspase-3 در بافت قلب موش‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد می‌باشد

روش کار

این مطالعه از نوع تجربی-آزمایشگاهی کنترل شده بود که با هدف بررسی اثر تمرینات هوازی تناوبی و مصرف مکمل پروبیوتیک به صورت منفرد و ترکیبی بر بیان ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز شامل محور Fas/FasL، TNF- α ، Caspase-8 و Caspase-3 در بافت قلب موش‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد انجام شد. طراحی پژوهش به صورت پس‌آزمون با گروه کنترل بود و کلیه متغیرهای محیطی و آزمایشگاهی در طول مطالعه به طور کامل کنترل گردید تا اثر عوامل مداخله‌گر به حداقل برسد. در این چارچوب، تمرکز مطالعه بر ارزیابی تغییرات بیان ژنی در شاخص‌های منتخب مسیر خارجی آپوپتوز بوده و از هرگونه استنباط فراتر از داده‌های مولکولی اجتناب شده است.

در این پژوهش، ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 30 ± 250 گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد شامل دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ تا ۶۰ درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و به مدت یک هفته برای سازگاری با محیط آزمایشگاهی در شرایط کنترل شده قرار گرفتند. سپس حیوانات به صورت تصادفی ساده به شش گروه شامل کنترل سالم، جراحی شم، انفارکتوس میوکارد، انفارکتوس+تمرین هوازی تناوبی، انفارکتوس+پروبیوتیک، و

انفارکتوس+تمرین+پروبیوتیک تقسیم شدند. هدف از این گروه‌بندی، بررسی اثرات مستقل و ترکیبی مداخلات بر الگوی بیان ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز بود.

مدل انفارکتوس میوکارد از طریق انسداد دائمی شریان کرونری نزولی قدامی چپ ایجاد شد. حیوانات با ترکیب دارویی کتامین و زایلازین بیهوش شدند و پس از انجام توراکتومی، شریان کرونری با نخ جراحی بسته شد. تغییر رنگ بافت قلب و کاهش خون‌رسانی به ناحیه قدامی بطن چپ به عنوان شاخص موفقیت مدل در نظر گرفته شد. در گروه جراحی شم، تمامی مراحل جراحی مشابه انجام شد، با این تفاوت که انسداد عروق صورت نگرفت. پس از جراحی، حیوانات تحت مراقبت‌های لازم قرار گرفتند تا شرایط پایدار فیزیولوژیک حاصل شود. در این بخش، تأکید بر ایجاد مدل استاندارد انفارکتوس بوده و متغیرهای مداخله‌ای خارج از طراحی پژوهش کنترل شدند.

پروتکل تمرین هواری تناوبی (AIT) بر اساس اصول مطالعات معتبر قلبی طراحی و اجرا شد. پیش از شروع تمرین، حیوانات دوره آشنایی با نوارگردان را به مدت چهار روز طی کردند تا استرس محیطی کاهش یابد. سپس ظرفیت عملکردی حیوانات با آزمون فزاینده روی نوارگردان تعیین شد و شدت تمرین بر اساس حداکثر سرعت دویدن تنظیم گردید. پروتکل تمرینی شامل ۱۰ هفته تمرین، ۵ جلسه در هفته بود. هر جلسه شامل تناوب‌های ۴ دقیقه فعالیت با شدت حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد توان بیشینه و ۳ دقیقه استراحت فعال با شدت کمتر بود. هر جلسه با گرم کردن ۱۰ دقیقه‌ای و سرد کردن ۵ دقیقه‌ای تکمیل می‌شد و شدت تمرین به صورت تدریجی در طول دوره افزایش یافت. این پروتکل بر اساس اصول تمرین تناوبی و مطالعات قبلی در مدل‌های حیوانی پس از آسیب قلبی طراحی شده است (۱۲).

مکمل پروبیوتیک مورد استفاده شامل سویه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با غلظت یک میلیارد واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر بود. حیوانات گروه‌های مربوطه روزانه مقدار مشخصی از این سوسپانسیون را به مدت ۱۰ هفته از طریق خوراک‌دهی مستقیم دریافت کردند. تجویز مکمل در ساعت ثابت روز انجام شد تا اثر ریتم شبانه‌روزی کنترل شود. این پروتکل بر اساس مطالعات معتبر مرتبط با محور روده-قلب طراحی شده است و نشان داده شده که پروبیوتیک‌ها قادر به کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو در بافت قلب هستند (۹).

چهل و هشت ساعت پس از آخرین مداخله، حیوانات تحت بیهوشی عمیق قربانی شدند و قلب آن‌ها خارج گردید. بطن چپ جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع فریز شد. بخشی از نمونه‌ها برای استخراج RNA در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و بخش دیگر در محلول فرمالین ۱۰ درصد جهت بررسی‌های بافت‌شناسی تثبیت گردید. این فرآیند در کوتاه‌ترین زمان ممکن انجام شد تا از تخریب RNA جلوگیری شود. استخراج RNA کل از بافت قلب با استفاده از کیت‌های استاندارد انجام شد و کیفیت RNA با دستگاه نانودراپ و الکتروفورز ژل آگاروز بررسی گردید. سپس سنتز cDNA با استفاده از روش رونویسی معکوس انجام شد. برای سنجش بیان ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز شامل محور Fas/FasL، عامل التهابی $\text{TNF-}\alpha$ و کاسپازهای ۸ و ۳ از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی با رنگ فلورسنت استفاده شد. ژن مرجع داخلی برای نرمال‌سازی داده‌ها به کار گرفته شد و بیان نسبی ژن‌ها با روش استاندارد $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه گردید.

در این مطالعه، تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها برای متغیرهای وابسته شامل بیان ژن‌های محور Fas/FasL، TNF-

نتایج

در این مطالعه اثر تمرین هوازی تناوبی و مکمل پروبیوتیک بر شاخص‌های مسیر خارجی آپوپتوز در بافت قلب موش‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد بررسی شد. در مرحله اولیه، برای اطمینان از صحت طراحی آزمایش و همسان بودن گروه‌ها، وزن اولیه حیوانات مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که بین شش گروه پژوهش از نظر وزن اولیه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P = 0.87$)، که این موضوع نشان‌دهنده همگنی اولیه گروه‌ها و موفقیت فرآیند تصادفی‌سازی است. در ادامه، برای بررسی صحت ایجاد مدل بیماری، شاخص آسیب قلبی به‌عنوان معیار تأیید انفارکتوس مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است.

α ، Caspase-3 و Caspase-8 با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی شد تا پیش‌فرض‌های تحلیل‌های پارامتریک تأیید گردد. با توجه به وجود شش گروه مستقل، برای مقایسه میانگین هر یک از ژن‌ها به‌صورت جداگانه از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد که صرفاً امکان مقایسه بین گروهی را در هر شاخص فراهم می‌کند. در صورت معنی‌دار بودن نتایج ANOVA، برای تعیین محل دقیق تفاوت‌ها از آزمون تعقیبی توکی (Tukey post hoc test) استفاده شد. سطح معناداری در تمامی آزمون‌ها $P < 0.05$ در نظر گرفته شد و اندازه اثر با استفاده از مجذور اتای جزئی (Eta squared) گزارش گردید تا شدت تفاوت‌های مشاهده‌شده بین گروه‌ها نیز مشخص شود. از نظر اخلاقی، تمامی مراحل پژوهش مطابق با دستورالعمل‌های بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی و اصول کاهش درد و استرس انجام شد.

جدول ۱. تأیید موفقیت مدل انفارکتوس میوکارد

گروه	گروه کنترل سالم	گروه شم	گروه انفارکتوس میوکارد	گروه انفارکتوس + تمرین هوازی تناوبی	گروه انفارکتوس + پروبیوتیک	گروه انفارکتوس + تمرین + پروبیوتیک
میانگین $\pm$ انحراف معیار	1.02 ± 0.10	1.04 ± 0.09	3.25 ± 0.27	2.05 ± 0.21	1.95 ± 0.20	1.55 ± 0.16

در این بخش، بیان ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز شامل Fas/FasL، $\text{TNF-}\alpha$ ، Caspase-3 و Caspase-8 در بافت قلب موش‌های مورد مطالعه بررسی شد. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید و تحلیل آماری با آزمون One-way ANOVA و آزمون تعقیبی توکی انجام شد.

در ابتدا، بیان ژن‌های Fas/FasL به‌عنوان گیرنده و لیگاند اصلی مسیر خارجی آپوپتوز بررسی شد. این ژن‌ها نقش کلیدی در آغاز مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده در شرایط ایسکمی دارند و افزایش آن‌ها نشان‌دهنده افزایش بیان

این شاخص بر اساس اندازه نسبی ناحیه آسیب‌دیده در بطن چپ نسبت به کل بافت محاسبه شد و نتایج آزمون One-way ANOVA نشان داد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در شاخص آسیب قلبی وجود دارد ($P < 0.001$). گروه انفارکتوس افزایش واضحی نسبت به کنترل داشت، در حالی که گروه شم تفاوتی نشان نداد. همچنین در گروه‌های مداخله، این شاخص نسبت به گروه انفارکتوس کاهش نسبی داشت و بهبود نسبی شاخص‌ها در گروه‌های مداخله تمرین و پروبیوتیک مشاهده شد.

ژن‌های مرتبط با محور Fas/FasL در شرایط انفارکتوس در بافت قلب است. نتایج مربوط به این ژن‌ها در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲. بیان ژن‌های Fas/FasL در بافت قلب موش‌های مورد مطالعه

گروه	گروه کنترل سالم	گروه شم	گروه انفارکتوس میوکارد	گروه انفارکتوس + تمرین هوازی تناوبی	گروه انفارکتوس + پروبیوتیک	گروه انفارکتوس + تمرین + پروبیوتیک
میانگین $\pm$ انحراف معیار	1.02 $\pm$ 0.10	1.04 $\pm$ 0.09	3.25 $\pm$ 0.27	2.05 $\pm$ 0.21	1.95 $\pm$ 0.20	1.55 $\pm$ 0.16

در ادامه، برای بررسی نقش التهاب در فعال‌سازی مسیر خارجی آپوپتوز، بیان ژن $\text{TNF-}\alpha$ به‌عنوان یک سایتوکاین کلیدی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج در جدول ۳ ارائه شده است.

یافته‌های جدول ۲ نشان داد که بیان ژن‌های Fas/FasL در گروه انفارکتوس میوکارد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.001$) در مقابل، مداخلات تمرین هوازی تناوبی و پروبیوتیک موجب کاهش این شاخص شدند و کمترین مقدار در گروه ترکیبی مشاهده شد که نشان‌دهنده کاهش بیشتر در گروه ترکیبی نسبت به سایر گروه‌ها است.

جدول ۳. بیان ژن $\text{TNF-}\alpha$ در بافت قلب موش‌های مورد مطالعه

گروه	گروه کنترل سالم	گروه شم	گروه انفارکتوس میوکارد	گروه انفارکتوس + تمرین هوازی تناوبی	گروه انفارکتوس + پروبیوتیک	گروه انفارکتوس + تمرین + پروبیوتیک
میانگین $\pm$ انحراف معیار	1.00 $\pm$ 0.09	1.03 $\pm$ 0.10	3.60 $\pm$ 0.30	2.20 $\pm$ 0.24	2.10 $\pm$ 0.23	1.60 $\pm$ 0.18

در ادامه، برای بررسی مرحله آغازین آبشار کاسپازی، بیان ژن Caspase-8 به‌عنوان کاسپاز آغازگر مسیر خارجی آپوپتوز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج در جدول ۴ ارائه شده است.

یافته‌های جدول ۳ نشان داد که بیان $\text{TNF-}\alpha$ در گروه انفارکتوس میوکارد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.001$) در گروه‌های مداخله، کاهش معنی‌دار این شاخص مشاهده شد و بیشترین کاهش در گروه ترکیبی ثبت گردید که نشان‌دهنده کاهش بیشتر $\text{TNF-}\alpha$ در این گروه نسبت به سایر گروه‌ها بود.

جدول ۴. بیان ژن Caspase-8 در بافت قلب موش‌های مورد مطالعه

گروه	گروه انفارکتوس + تمرین + پروبیوتیک	گروه انفارکتوس + پروبیوتیک	گروه انفارکتوس + تمرین هوازی تناوبی	گروه انفارکتوس میوکارد	گروه شم	گروه کنترل سالم	گروه
میانگین $\pm$	1.50 $\pm$ 0.15	1.90 $\pm$ 0.19	1.95 $\pm$ 0.20	3.05 $\pm$ 0.26	1.05 $\pm$ 0.10	1.01 $\pm$ 0.09	انحراف معیار

یافته‌های جدول ۴ نشان داد که بیان ژن Caspase-8 در گروه انفارکتوس میوکارد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.001$). در مقابل، مداخلات تمرین هوازی تناوبی و پروبیوتیک موجب کاهش این شاخص شدند و کمترین مقدار در گروه ترکیبی مشاهده شد.

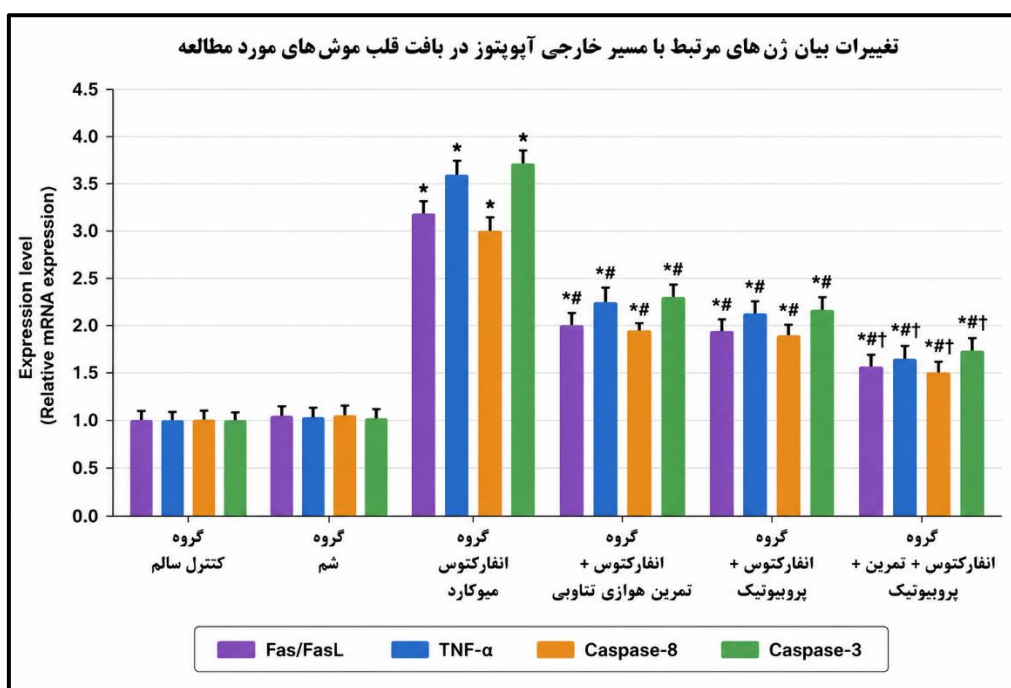
در نهایت، برای بررسی مرحله اجرایی مسیر خارجی آپوپتوز، بیان ژن Caspase-3 به‌عنوان مهم‌ترین کاسپاز اجرایی مرگ سلولی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج در جدول ۵ ارائه شده است.

جدول ۵. بیان ژن Caspase-3 در بافت قلب موش‌های مورد مطالعه

گروه	گروه انفارکتوس + تمرین + پروبیوتیک	گروه انفارکتوس + پروبیوتیک	گروه انفارکتوس + تمرین هوازی تناوبی	گروه انفارکتوس میوکارد	گروه شم	گروه کنترل سالم	گروه
میانگین $\pm$	1.70 $\pm$ 0.18	2.15 $\pm$ 0.24	2.30 $\pm$ 0.25	3.80 $\pm$ 0.32	1.02 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.08	انحراف معیار

یافته‌های جدول ۵ نشان داد که بیان ژن Caspase-3 در گروه انفارکتوس میوکارد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.001$). در مقابل، مداخلات تمرین هوازی تناوبی و پروبیوتیک موجب کاهش معنی‌دار این شاخص شدند و کمترین مقدار در گروه ترکیبی مشاهده شد. در این بخش، به‌منظور نمایش هم‌زمان تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز شامل Fas/FasL، TNF- α ،

Caspase-8 و Caspase-3 در بافت قلب موش‌های مورد مطالعه، یک شکل مقایسه‌ای طراحی شد. این شکل امکان بررسی الگوی تغییرات بیان ژن‌ها در گروه‌های مختلف شامل کنترل سالم، شم، انفارکتوس میوکارد، تمرین هوازی تناوبی، پروبیوتیک و ترکیب تمرین + پروبیوتیک را فراهم می‌سازد. داده‌ها بر اساس میانگین $\pm$ انحراف معیار ترسیم شده است.



شکل ۱. تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز در بافت قلب موش‌های مورد مطالعه

علائم معنی‌داری: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم ($p < 0.05$)، #تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه انفارکتوس میوکارد ($p < 0.05$)، †اثر معنی‌دار مداخله ترکیبی تمرین و پروبیوتیک ($p < 0.05$)

یافته‌های حاصل از این شکل نشان داد که القای انفارکتوس میوکارد موجب افزایش معنی‌دار بیان هر چهار ژن مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز در بافت قلب شده است. در مقابل، مداخلات تمرین هوازی تناوبی و مکمل پروبیوتیک به صورت منفرد موجب کاهش نسبی این شاخص‌ها گردید. با این حال، بیشترین کاهش در تمامی ژن‌ها در گروه دریافت‌کننده مداخله ترکیبی مشاهده شد که در گروه دریافت‌کننده، در گروه ترکیبی، کمترین مقادیر در تمامی ژن‌های مورد بررسی مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

انفارکتوس میوکارد یکی از مهم‌ترین اختلالات قلبی-عروقی است که با فعال شدن شبکه‌ای پیچیده از مسیرهای مرگ سلولی، به تخریب تدریجی و پیش‌رونده بافت قلب منجر می‌شود. در این مطالعه، یافته‌های حاصل از بررسی بیان ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز نشان داد که القای انفارکتوس موجب افزایش معنی‌دار هر چهار شاخص Fas/FasL ، $\text{TNF-}\alpha$ ، Caspase-8 و Caspase-3 در بافت قلب شد. این الگو نشان می‌دهد که در شرایط ایسکمی قلبی، تغییرات هم‌زمان در بیان ژن‌های مرتبط با مرگ سلولی در چند سطح مختلف شامل گیرنده‌های غشایی، میانجی‌های التهابی و کاسپازهای آغازگر و اجرایی مشاهده می‌شود. این تغییرات بیانگر فعال شدن یک الگوی هماهنگ در سطح بیان ژنی است که از گیرنده‌های سطح سلولی آغاز شده و تا افزایش شاخص‌های مرتبط با مرحله نهایی مرگ سلولی ادامه می‌یابد. در تبیین این یافته، تمرکز اصلی بر مسیر خارجی آپوپتوز حفظ شده و از ورود گسترده و غیرمستقیم به

مسیرهای داخلی پرهیز شده است، زیرا داده‌های مستقیم مربوط به شاخص‌های میتوکندریایی و استرس اکسیداتیو در مطالعه حاضر وجود ندارد و صرفاً نقش آن‌ها در حد عوامل زمینه‌ساز کلی در ادبیات پیشین قابل استناد است (۱۶). همچنین گزارش‌های جدید نشان داده‌اند که التهاب می‌تواند به‌عنوان یکی از عوامل تقویت‌کننده پاسخ‌های مرگ سلولی عمل کرده و با افزایش شدت آسیب، تغییرات مرتبط با مسیر کاسپازی را تشدید نماید (۳).

افزایش هم‌زمان محور Fas/FasL در گروه انفارکتوس نشان‌دهنده تغییر در سطح بیان گیرنده‌ها و لیگاندهای مرتبط با مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در بافت قلب است. این یافته بیانگر آن است که سلول‌های آسیب‌دیده در شرایط ایسکمی، حساسیت بیشتری نسبت به سیگنال‌های مرگ نشان داده و تغییرات ژنی مرتبط با این مسیر در سطح اولیه فعال‌تر شده است. این نتیجه با نقش محوری Fas در آغاز پاسخ‌های آپوپتوزی قلبی هم‌خوانی دارد و نشان می‌دهد که این محور می‌تواند یکی از نخستین شاخص‌های تغییرات سلولی در شرایط آسیب ایسکمیک باشد (۲). در این چارچوب، افزایش Fas/FasL صرفاً به‌عنوان شاخص بیان ژنی قابل تفسیر است و نمی‌توان از آن نتیجه‌گیری مستقیم درباره فعال شدن عملکردی مسیر مرگ سلولی داشت. از سوی دیگر، اگرچه در برخی مطالعات به نقش استرس اکسیداتیو در تشدید پاسخ‌های سلولی اشاره شده است (۱۶)، در این مطالعه این موارد صرفاً در سطح ادبیات پیشین مطرح شده و وارد تحلیل مستقیم مکانیکی نشده‌اند تا از خروج از محدوده داده‌های تجربی جلوگیری شود.

در ادامه، افزایش $TNF-\alpha$ نشان‌دهنده تغییر در وضعیت بیان ژن‌های مرتبط با التهاب در بافت قلب در شرایط انفارکتوس است $TNF-\alpha$. به‌عنوان یک میانجی التهابی مهم، می‌تواند با سایر شاخص‌های مسیر مرگ سلولی هم‌راستا باشد و در شدت پاسخ سلولی نقش تعدیل‌کننده داشته باشد. یافته‌های

این مطالعه نشان می‌دهد که افزایش $TNF-\alpha$ در گروه انفارکتوس نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شده و در گروه‌های مداخله کاهش نسبی آن ثبت شده است. این الگو بیانگر تفاوت در وضعیت بیان ژنی میان گروه‌ها است. با این حال، این تغییرات صرفاً در سطح بیان ژن تفسیر شده و این مطالعه وارد استنتاج مکانیکی مستقیم درباره مسیرهای درون‌سلولی نشده است. همچنین گزارش‌های پیشین نشان داده‌اند که $TNF-\alpha$ در پاسخ‌های التهابی و آسیب‌های قلبی نقش قابل توجهی دارد (۵)، اما در این مطالعه صرفاً به‌عنوان شاخص بیان ژنی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

در مرحله انتقال سیگنال داخل سلولی، افزایش Caspase-8 نشان‌دهنده تغییر در یکی از شاخص‌های مهم مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز است Caspase-8. به‌عنوان یک کاسپاز آغازگر، در انتقال سیگنال از گیرنده‌های سطح سلولی به مسیرهای پایین‌دستی نقش دارد و افزایش بیان ژنی آن می‌تواند نشان‌دهنده درگیری بیشتر این محور در پاسخ به آسیب ایسکمیک باشد. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که در گروه انفارکتوس میزان Caspase-8 افزایش یافته و در گروه‌های مداخله کاهش نسبی آن مشاهده شده است که بیانگر تفاوت در الگوی بیان ژنی میان گروه‌ها است. این نتیجه با نقش Caspase-8 در مسیر خارجی آپوپتوز هم‌خوانی دارد، بدون آنکه بتوان از آن نتیجه‌گیری درباره فعال‌سازی عملکردی آن ارائه داد (۸). در این بخش نیز از تفسیرهای غیرمستقیم مانند تغییرات میتوکندریایی یا مسیرهای اکسیداتیو پرهیز شده است، زیرا این شاخص‌ها در مطالعه حاضر اندازه‌گیری نشده‌اند.

در نهایت، افزایش Caspase-3 به‌عنوان یکی از شاخص‌های اجرایی مسیر آپوپتوز نشان‌دهنده تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با مرحله نهایی مرگ سلولی در بافت قلب است Caspase-3. به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای مرحله اجرایی مرگ سلولی شناخته می‌شود و افزایش بیان آن در گروه انفارکتوس

نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد. در مقابل، در گروه‌های مداخله کاهش نسبی این شاخص ثبت گردید که نشان‌دهنده تفاوت در الگوی بیان ژنی میان گروه‌ها است. با این حال، این مطالعه صرفاً سطح بیان ژن **Caspase-3** را بررسی کرده و هیچ استنتاجی درباره فعالیت آنزیمی یا عملکرد سلولی مستقیم ارائه نمی‌دهد (۳). همچنین در مطالعات پیشین نقش این کاسپاز در مرحله نهایی مرگ سلولی گزارش شده است، اما در این پژوهش تنها به عنوان شاخص بیان ژنی مورد استفاده قرار گرفته است.

در مجموع، داده‌های این مطالعه نشان می‌دهد که انفارکتوس میوکارد با افزایش هم‌زمان شاخص‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز در سطح بیان ژنی همراه است. در مقابل، مداخلات تمرین هوازی تناوبی و مکمل پروبیوتیک موجب کاهش نسبی این شاخص‌ها نسبت به گروه انفارکتوس شدند. همچنین در گروه ترکیبی، مقادیر برخی شاخص‌ها نسبت به مداخلات منفرد کمتر بود که نشان‌دهنده تفاوت در شدت پاسخ بیان ژنی میان گروه‌ها است. با این حال، بر اساس تحلیل آماری مورد استفاده (**One-way ANOVA**)، این نتایج صرفاً نشان‌دهنده تفاوت بین گروه‌ها در سطح بیان ژن بوده و امکان استنتاج درباره وجود تعامل یا اثر هم‌افزایی قطعی بین مداخلات وجود ندارد، بلکه تنها می‌توان از تفاوت در الگوی پاسخ ژنی میان گروه‌ها سخن گفت.

در گروه دریافت‌کننده تمرین هوازی تناوبی، کاهش قابل توجه بیان ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز در تمامی شاخص‌های مورد بررسی نشان‌دهنده تغییرات معنادار در الگوی بیان ژنی بافت قلب در پاسخ به این مداخله است، به گونه‌ای که کاهش هم‌زمان محور **Fas/FasL**، **TNF-α**، **Caspase-3** و **Caspase-8** بیانگر تعدیل هماهنگ در مجموعه ژن‌های مرتبط با مرگ سلولی در شرایط پس از انفارکتوس میوکارد می‌باشد. این الگو نشان می‌دهد که

تمرین هوازی تناوبی می‌تواند به صورت هم‌زمان بر چندین سطح از مسیر خارجی آپوپتوز اثر بگذارد و موجب تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با گیرنده‌های مرگ، میانجی‌های التهابی و کاسپازهای آغازگر و اجرایی گردد، اما این تغییرات صرفاً در سطح بیان ژن قابل تفسیر هستند و نمی‌توان آن‌ها را به عنوان شواهد قطعی از تغییر عملکردی مسیرهای درون‌سلولی در نظر گرفت. در این چارچوب، کاهش مشاهده‌شده در گروه تمرین نسبت به گروه انفارکتوس بیانگر تفاوت در وضعیت مولکولی بافت قلب است که می‌تواند به عنوان بهبود نسبی در پاسخ سلولی تفسیر شود، بدون آنکه وارد استنتاج‌های مکانیکی مستقیم گردیم. دلفان و همکاران (۱۷) نشان داده‌اند که تمرینات تناوبی از طریق افزایش ظرفیت سازگاری سلولی، مقاومت بافتی را در برابر شرایط استرس‌زا افزایش می‌دهند. همچنین فنگ و همکاران (۱۸) گزارش کرده‌اند که تمرین ورزشی می‌تواند در تنظیم مسیرهای مرتبط با کاسپازها نقش داشته باشد و موجب کاهش شاخص‌های مرتبط با مرگ سلولی گردد. در همین راستا، هیشینو و همکاران (۱۹) کاهش شاخص‌های التهابی در پاسخ به تمرین را گزارش کرده‌اند که می‌تواند در تبیین کاهش **TNF-α** قابل استفاده باشد. در مجموع، این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین هوازی تناوبی یک مداخله تعدیل‌کننده در سطح بیان ژن‌های مسیر خارجی آپوپتوز است و اثر آن باید در قالب تغییرات هماهنگ ژنی تفسیر شود، نه به صورت اثرات مستقل بر هر ژن.

در گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک، کاهش بیان ژن‌های مسیر خارجی آپوپتوز نشان‌دهنده نقش تنظیمی این مداخله از طریق محور روده-قلب و اثرات سیستمیک آن بر وضعیت التهابی و سلولی بافت قلب است، به گونه‌ای که کاهش هم‌زمان محور **Fas/FasL**، **TNF-α**، **Caspase-3** و **Caspase-8** بیانگر اثر هماهنگ پروبیوتیک بر مجموعه ژن‌های مرتبط با مرگ سلولی در شرایط پس از انفارکتوس میوکارد می‌باشد.

در این دیدگاه، پروبیوتیک به عنوان یک عامل واحد تنظیم کننده در سطح سیگنال دهی التهابی و مرگ سلولی عمل کرده و تغییرات مشاهده شده در ژن ها نشان دهنده یک پاسخ یکپارچه زیستی است، نه مجموعه ای از تغییرات مستقل. بنابراین کاهش هم زمان این شاخص ها را می توان به عنوان اثر بالادستی پروبیوتیک بر تنظیم مسیر خارجی آپوپتوز تفسیر کرد، بدون آنکه بتوان از آن استنتاج عملکردی مستقیم در سطح مسیرهای سلولی ارائه داد. لیانگ و همکاران (۹) نشان داده اند که پروبیوتیک ها از طریق محور روده-قلب قادر به کاهش آسیب های قلبی و تعدیل پاسخ های التهابی هستند. داواری و همکاران (۲۰) نیز نقش میکروبیوتای روده را در تنظیم پاسخ های ایمنی و التهابی مطرح کرده اند که با تغییرات $TNF-\alpha$ در این مطالعه هم راستا است. همچنین رضایی و همکاران (۱۵) گزارش کرده اند که مداخلات تغذیه ای و پروبیوتیکی می توانند شاخص های مرتبط با مرگ سلولی را در بافت های هدف کاهش دهند. در کنار این موارد، رولو و همکاران (۱۶) ارتباط میان کاهش التهاب سیستمیک و بهبود پاسخ سلولی را مطرح کرده اند که می تواند چارچوب کلی تفسیر اثرات پروبیوتیک باشد. در مجموع، داده ها نشان می دهد که اثر پروبیوتیک باید به صورت یک پاسخ یکپارچه در سطح مسیر خارجی آپوپتوز تفسیر شود و نه به صورت تفکیک شده برای هر ژن، زیرا الگوی تغییرات نشان دهنده یک تنظیم هماهنگ و سیستمیک در بافت قلب است.

در گروه ترکیبی تمرین هوازی تناوبی و پروبیوتیک، بیشترین میزان کاهش در بیان ژن های مورد بررسی مشاهده شد، به گونه ای که محور $Fas/FasL$ ، $TNF-\alpha$ ، $Caspase-8$ و $Caspase-3$ نسبت به هر یک از گروه های مداخله منفرد کاهش بیشتری را نشان دادند که این الگو بیانگر تفاوت در شدت پاسخ بیان ژنی در این گروه است. این یافته نشان می دهد که هم زمانی دو مداخله می تواند با تغییر بیشتری در وضعیت مولکولی بافت قلب همراه باشد، اما این تغییرات

صرفاً در سطح مقایسه بین گروه ها قابل تفسیر بوده و نمی توان از آن ها استنتاج درباره تعامل مستقیم یا مکانیسم مشترک میان دو مداخله ارائه داد. در این چارچوب، کاهش بیشتر شاخص ها در گروه ترکیبی بیانگر وضعیت متفاوت بیان ژنی نسبت به سایر گروه ها است، بدون آنکه بتوان آن را به عنوان اثر هم افزایی قطعی یا تعامل زیستی تفسیر کرد. رضایی و همکاران (۱۵) نشان داده اند که ترکیب مداخلات ورزشی و تغذیه ای می تواند تغییرات بیشتری در شاخص های سلولی ایجاد کند، در حالی که لیانگ و همکاران (۹) بر نقش هم زمان مداخلات در تعدیل پاسخ های التهابی تأکید کرده اند. همچنین فنگ و همکاران (۱۸) گزارش کرده اند که مداخلات ترکیبی ممکن است بر چندین سطح از مسیرهای مرتبط با مرگ سلولی اثر گذار باشند. در مجموع، نتایج این بخش نشان می دهد که گروه ترکیبی در اغلب شاخص ها وضعیت پایین تری نسبت به گروه های مداخله منفرد داشته است و این موضوع تنها به عنوان تفاوت در الگوی بیان ژنی قابل گزارش و تفسیر است، بدون آنکه بتوان نتیجه گیری قطعی درباره مکانیسم های سلولی ارائه کرد.

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که انفارکتوس میوکاردا با افزایش هم زمان بیان ژن های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز شامل محورهای $Fas/FasL$ ، $TNF-\alpha$ ، $Caspase-8$ و $Caspase-3$ همراه است که این الگو بیانگر بروز تغییرات هماهنگ در شاخص های مرتبط با مرگ سلولی در بافت قلب در شرایط ایسکمی می باشد. در مقابل، تمرین هوازی تناوبی و مکمل پروبیوتیک هر دو با کاهش نسبی این شاخص ها نسبت به گروه انفارکتوس همراه بودند، به گونه ای که در گروه ترکیبی، مقادیر این ژن ها کاهش بیشتری نسبت به مداخلات منفرد مشاهده شد. با این حال، این نتایج صرفاً در سطح بیان ژن قابل تفسیر هستند و تنها نشان دهنده تفاوت در الگوی پاسخ مولکولی میان گروه ها می باشند، بدون آنکه بتوان از آن ها نتیجه گیری قطعی درباره مکانیسم های

عملکردی یا تعامل مستقیم بین مداخلات ارائه داد. در این چارچوب، یافته‌ها بیانگر آن است که مداخلات مورد بررسی می‌توانند در تعدیل هم‌زمان شاخص‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز نقش داشته باشند و این اثرات در سطح مقایسه‌ای میان گروه‌ها قابل مشاهده است، اما استنتاج درباره روابط علت و معلولی یا هم‌افزایی مکانیکی نیازمند طراحی‌های تجربی پیشرفته‌تر می‌باشد.

این مطالعه دارای محدودیت‌هایی از جمله استفاده از مدل حیوانی که تعمیم نتایج به انسان را محدود می‌سازد، تمرکز بر تعداد محدودی از ژن‌های مرتبط با مسیر خارجی آپوپتوز و عدم بررسی سایر مسیرهای درگیر در مرگ سلولی، و همچنین نبود شاخص‌های عملکردی مستقیم قلب مانند ارزیابی‌های فیزیولوژیک یا تصویربرداری عملکردی می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده از مدل‌های انسانی یا شبه‌بالینی استفاده شود، ارزیابی مسیرهای مرگ سلولی به صورت جامع‌تر و چندبعدی انجام گیرد و ارتباط میان تغییرات مولکولی و پیامدهای عملکردی قلب مورد بررسی قرار گیرد. همچنین بررسی دوز-پاسخ تمرین و پروبیوتیک و مقایسه پروتکل‌های مختلف مداخله‌ای می‌تواند به درک دقیق‌تر اثرات این مداخلات کمک نماید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، به دلیل

حمایت از اجرای این پژوهش اعلام می‌کنند. همچنین از تمامی افرادی که در انجام مراحل این مطالعه، نگهداری حیوانات آزمایشگاهی، اجرای پروتکل‌های پژوهشی و انجام آزمایش‌های مولکولی همکاری و مساعدت داشتند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان این پژوهش اعلام می‌دارد که هیچ گونه تعارض منافع در انجام این مطالعه وجود نداشته است.

ملاحظات اخلاقی

تمامی مراحل این پژوهش مطابق با اصول اخلاقی پژوهش در مطالعات حیوانی و دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. پروتکل پژوهش پیش از اجرا توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، مورد بررسی و تأیید قرار گرفت و با کد اخلاق IR.IAU.NAJAFABAD.REC.1405.097 به تصویب رسید. در تمامی مراحل مطالعه، اصول جایگزینی، کاهش و بهبود روش‌ها (اصول سه‌گانه اخلاق در پژوهش‌های حیوانی) رعایت شد؛ به گونه‌ای که تعداد حیوانات مورد استفاده به حداقل ممکن کاهش یافت و تمامی اقدامات لازم برای پیشگیری از درد، رنج و استرس غیرضروری حیوانات به عمل آمد.

References

1. Baldi, A., Abbate, A., Bussani, R., Patti, G., Melfi, R., Angelini, A., & Di Sciascio, G. (2002). Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 34(2), 165–174.
2. Kunapuli, S., Rosanio, S., & Schwarz, E. R. (2006). How do cardiomyocytes die? Apoptosis and autophagic cell death in cardiac myocytes. *Journal of Cardiac Failure*, 12(5), 381–391.
3. Wu, D., Deng, D., & Tang, B. (2025). Programmed cell death in heart failure: Mechanisms, impacts, and therapeutic prospects. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 26(7), 38407.
4. Shumliakivska, M., Fischer, A., Muhly-Reinholz, M., Leonard, V. E., Rasper, T., Aslan, G. S., & Dimmeler, S. (2026). The long non-coding RNA Snhg15 protects the heart after myocardial infarction. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*.
5. Lu, K., Wang, L., Wang, C., Yang, Y., Hu, D., & Ding, R. (2015). Effects of high-intensity interval versus continuous moderate intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Molecular Medicine Reports*, 12(2), 2374–2382.
6. Hu, S., Wu, X., & Qiu, W. (2025). Fas/FasL-mediated cell death: Mechanisms and implications in infectious diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1561102.
7. Svandova, E. B., Veselá, B., Lesot, H., Poliard, A., & Matalová, E. (2017). Expression of Fas/FasL, caspase-8 and other factors of the extrinsic apoptotic pathway. *Histochemistry and Cell Biology*, 147(4), 497–510.
8. Sahoo, G., Samal, D., Khandayataray, P., & Murthy, M. K. (2023). A review on caspases: Key regulators of biological activities and apoptosis. *Molecular Neurobiology*, 60(10), 5805–5837.
9. Liang, Y., Zhao, L., Zhang, X., Liu, S., Lu, P., Wang, J., & Gao, J. (2025). Lactobacillus ameliorates myocardial ischemia reperfusion injury by attenuating apoptosis, inflammation, oxidative stress, and ferroptosis. *BMC Medicine*, 23(1), 377.
10. Bonab, S. F., Tahmasebi, S., Ghafouri-Fard, S., & Eslami, S. (2025). Preventive impact of probiotic supplements on heart injury and inflammatory indices in a rat model of myocardial infarction: Histopathological and gene expression evaluation. *APMIS*, 133(1), e13479.
11. Roueintan, M., Koohpeyma, F., Naseri, A., Mahdavi, A., Keyghobadi, H., Karamibonari, A. R., & Dastghaib, S. (2025). Protective effects of Lactobacillus casei and Chlorella vulgaris on cardiac gene expression (NF-κB, Nrf-2) and structural alterations in a C57BL/6 mouse model of MASLD. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 24(2), 1–16.
12. Jiang, H. K., Wang, Y. H., Sun, L., He, X., Zhao, M., Feng, Z. H., & Zang, W. J. (2014). Aerobic interval training attenuates mitochondrial dysfunction in rats post-myocardial infarction: Roles of mitochondrial network dynamics. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(4), 5304–5322.
13. Yuan, J., & Ofengeim, D. (2024). A guide to cell death pathways. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(5), 379–395.
14. Lossi, L. (2022). The concept of intrinsic versus extrinsic apoptosis. *Biochemical Journal*, 479(3), 357–384.
15. Rezaee, N., Rahmani-Nia, F., Delfan, M., & Ghahremani, R. (2021). Exercise training and probiotic supplementation effects on skeletal muscle apoptosis prevention in type-I diabetic rats. *Life Sciences*, 285, 119973.
16. Rolo, A. P., et al. (2006). Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*.
17. Delfan, M., et al. (2022). Effects of two workload-matched high-intensity interval training protocols on regulatory factors associated with mitochondrial biogenesis in the soleus muscle of diabetic rats. *Frontiers in Physiology*, 13, Article 927969.
18. Feng, F., et al. (2024). Aerobic exercise protects against cardiotoxin-induced skeletal muscle injury in a DDAH1-dependent manner. *Antioxidants*, 13, 1069.
19. Hayashino, Y., et al. (2014). Effects of exercise on C-reactive protein, inflammatory cytokine and adipokine in patients with type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Metabolism*.
20. Davari, S., et al. (2013). Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: Behavioral and electrophysiological proofs for microbiome–gut–brain axis. *Neuroscience*.

Original Article

The Effect of Aerobic Interval Training and Probiotic Supplementation on the Expression of Extrinsic Apoptotic Pathway Genes in the Cardiac Tissue of Rats with Myocardial Infarction: The Fas/FasL, TNF- α , Caspase-8, and Caspase-3 Axis

Received: 01/05/2026 - Accepted: 05/08/2026

Sayed Touraj Miri Reykandeh¹
Elham Eftekhari Gheinani^{*2}
Jamshid Banaei Borojeni³

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

² Department of Sport Sciences, Na.C.,
Islamic Azad University, NajafAbad,
Iran. (Corresponding Author)

³ Department of Sport Sciences, Na.C.,
Islamic Azad University, NajafAbad,
Iran.

Email:

elhameftekhari@iau.ac.ir

Abstract

Introduction: This study aimed to investigate the effects of aerobic interval training (AIT) and probiotic supplementation, both individually and in combination, on the expression of genes associated with the extrinsic apoptotic pathway, including the Fas/FasL axis, TNF- α , Caspase-8, and Caspase-3, in the cardiac tissue of rats with myocardial infarction.

Methods: In this experimental laboratory study, 48 male Wistar rats were divided into six groups: healthy control, sham, myocardial infarction (MI), MI + training, MI + probiotic supplementation, and MI + training + probiotic supplementation. The myocardial infarction model was induced through coronary artery ligation. The aerobic interval training protocol was performed for 10 weeks, and probiotic supplementation was administered daily. Gene expression levels were assessed using the Real-Time PCR technique and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method, and data were analyzed using analysis of variance (ANOVA).

Results: The results demonstrated that the induction of myocardial infarction significantly increased the expression of genes related to the Fas/FasL axis, TNF- α , Caspase-8, and Caspase-3 in cardiac tissue. In contrast, both aerobic interval training and probiotic supplementation individually reduced the expression levels of these apoptotic markers. However, the combined intervention resulted in a greater reduction in the expression of the investigated genes compared with either intervention alone. Moreover, TNF- α , as an inflammatory marker, showed decreased expression in the intervention groups ($p \leq 0.05$).

Conclusion: Overall, the findings of this study indicate that aerobic interval training combined with probiotic supplementation may contribute to improving the molecular status of cardiac tissue following myocardial infarction by modulating the expression of Fas/FasL axis genes and other genes involved in the extrinsic apoptotic pathway, as well as partially reducing inflammatory responses.

Keywords: Myocardial Infarction, Apoptosis, Aerobic Interval Training, Probiotic Supplementation, TNF-A