پاسخ بیان ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان رت‌های مدل تجربی اندومتریوز به فعالیت ورزشی منظم و مکمل آنتی‌اکسیدانی

سکینه صادقیان[۱]، دکتر پروین فرزانگی[۲*]، دکتر امین فرزانه حصاری[۳]، دکتر یاسمن اسدی ساروی[۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
۳. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
۴. استادیار، گروه آسیب‌شناسی ورزشی و حرکات اصلاحی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۰۲ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۱۱/۰۸

خلاصه

مقدمه: شنا می‌تواند با کاهش سطح التهاب و استرس اکسیداتیو به بهبود علائم بیماری اندومتریوز کمک کند. همچنین، ویتامین‌های C و E ممکن است در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد در زنان مبتلا به اندومتریوز دخیل باشند. علاوه بر این، ویتامین‌های B، هم متابولیسم استروژن را به شکل غیرفعال افزایش می‌دهند و هم از تبدیل اسید لینولئیک به گامالینولنیک اسید پشتیبانی می‌کنند. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرین منظم هوازی و ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی بر بیان ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان رت‌های مدل اندومتریوز انجام شد.

روش‌کار: در این تحقیق تجربی ۵۰ سر موش صحرایی ماده به ۱۰ گروه: ۱- کنترل سالم، ۲- اندومتریوز، ۳- شم، ۴- اندومتریوز + تمرین، ۵- اندومتریوز + ویتامین B، ۶- اندومتریوز + امگا-۳، ۷- اندومتریوز + ویتامین E، ۸- تمرین+ اندومتریوز+ ویتامین B، ۹- تمرین+ اندومتریوز+ ویتامین E و ۱۰- تمرین+ اندومتریوز+ امگا-۳ تقسیم شدند. برنامه تمرین شامل ۵ روز شنا کردن در هفته و به‌مدت ۸ هفته بود. ویتامین E، مکمل امگا-۳ و ویتامین B (ترکیبی از ویتامین‌های B6، B2، B1) به شکل گاواژ دریافت شد. بیان ژن CYP19A1و NR5A1 با روش real-time PCR اندازه‌گیری گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۳) و آزمون آنووا در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ انجام شد.

یافته‌ها: القای مدل تجربی اندومتریوز منجر به افزایش معنی‌دار ژن NR5A1 نسبت به گروه کنترل سالم شد ($p<۰/۰۰۱$). تمرین شنا+ ویتامین E ($p=۰/۰۱۳$) و تمرین شنا+ امگا-۳ ($p=۰/۰۱۲$) منجر به کاهش معنی‌دار ژن NR5A1 بافت تخمدان در رت‌های مدل تجربی اندومتریوز شد. القای مدل تجربی اندومتریوز نیز منجر به افزایش معنی-دار ژن CYP19A1 نسبت به گروه کنترل سالم شد ($p=۰/۰۰۳$). گروه ترکیبی تمرین+ امگا-۳ منجر به کاهش معنی‌دار ژن CYP19A1 بافت تخمدان نسبت به گروه اندومتریوز شد ($p=۰/۰۳۱$).

نتیجه‌گیری: اندومتریوز با افزایش بیان ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان همراه است و انجام تمرین شنا به همراه مصرف امگا-۳ و ویتامین E با کاهش بیان ژن‌های NR5A1 و CYP19A1، به بهبود اندومتریوز کمک خواهد کرد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اندومتریوز، فعالیت ورزشی

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر پروین فرزانگی؛ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. **تلفن:** ۰۱۱-۴۲۲۷۹۴۱۰؛
پست الکترونیک: parvin.farzanegi@gmail.com

مقدمه

اندومتریوز، یک بیماری التهابی مزمن لگنی وابسته به استروژن است که با کاشت و رشد نابه‌جای بافت آندومترال در خارج از حفره رحمی مشخص می‌شود (۱، ۲). این بیماری تقریباً ۱۵-۱۰٪ از زنان در سنین باروری و تا ۹۰٪ از زنان مبتلا به ناباروری یا درد لگنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳). پاتوفیزیولوژی اندومتریوز به‌طور کامل شناخته نشده است، اما التهاب و استرس اکسیداتیو نقش مهمی را در پیشرفت بیماری ایفا می‌کنند (۱، ۴). از جمله مولکول‌های کلیدی در این فرآیند، پروتئین NR5A1 است که به‌عنوان Ad4BP یا SF-1 نیز شناخته می‌شود. NR5A1 یک گیرنده هسته‌ای و تنظیم‌کننده رونویسی کلیدی در محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- استروئیدوژنیک است (۵). نقص در NR5A1 می‌تواند منجر به ناباروری و اختلالات تخمک‌گذاری شود و نقش مهمی در تنظیم ژن‌های مرتبط با تولیدمثل جنسی مانند STAR، CYP17A1، CYP11A1 و CYP19A1 دارد (۹-۶). در حال حاضر، هیچ درمان قطعی برای اندومتریوز وجود ندارد و مدیریت بیماری عمدتاً بر کاهش درد از طریق مداخلات هورمونی یا جراحی متمرکز است که هر دو دارای محدودیت‌هایی مانند عوارض جانبی و اثرات کوتاه‌مدت هستند (۱۰). از این رو، توجه به درمان‌های غیرتهاجمی مانند فعالیت بدنی و رژیم غذایی به‌عنوان گزینه‌های مکمل افزایش یافته است. دستورالعمل‌های بالینی بین‌المللی، نقش فعالیت بدنی و ورزش را به‌عنوان بخشی از رویکرد درمانی برای کاهش علائم اندومتریوز پیشنهاد کرده‌اند (۱۱). فعالیت بدنی دارای اثرات ضد التهابی بوده و می‌تواند به کاهش پیشرفت بیماری و بهبود درد مرتبط کمک کند (۱۲). شنا به‌عنوان یکی از فعالیت‌های بدنی هوازی با تأثیرات متعدد فیزیولوژیکی و روانی شناخته شده است که می‌تواند در مدیریت اندومتریوز نقش مؤثری ایفا کند. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که ورزش‌های منظم، به‌ویژه ورزش‌های هوازی مانند شنا، می‌توانند علائم اندومتریوز را کاهش داده و کیفیت زندگی بیماران را بهبود بخشند (۱۳، ۱۴). شنا می‌تواند با کاهش سطح التهاب و استرس اکسیداتیو که در پاتوفیزیولوژی اندومتریوز نقش کلیدی دارند، به بهبود علائم بیماری کمک کند. فعالیت بدنی منظم باعث افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدن می‌شود که قادر به خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و مهار فرآیندهای التهابی هستند (۱۵). این امر می‌تواند منجر به کاهش درد لگنی و بهبود عملکرد سیستم ایمنی شود (۱۶). همچنین، مصرف ویتامین‌ها مانند ویتامین‌های C، E و B6 می‌تواند در کاهش استرس اکسیداتیو و تنظیم متابولیسم استروژن نقش داشته باشد (۱۹-۱۷). همچنین، ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی C و E ممکن است در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، که در رشد و چسبندگی سلول‌های آندومتر در حفره صفاق در زنان مبتلا به اندومتریوز نقش دارند، دخیل باشند (۱۷). علاوه بر این، ویتامین‌های B، به‌ویژه پیریدوکسین (B6)، هم متابولیسم استروژن را به شکل غیرفعال افزایش می‌دهند (۱۸) و هم از تبدیل اسید لینولئیک به گاما لینولنیک اسید (یک جزء ضروری از تولید پروستاگلاندین‌های ضد التهاب سری ۱) پشتیبانی می‌کنند (۱۹). با این وجود، درمان کمکی با آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند ویتامین C و ویتامین E در اندومتریوز، نیاز به آزمایش‌های بیشتری دارد (۲۰). تحقیقات نشان داده‌اند که مکمل‌های ویتامینی و فعالیت ورزشی منظم می‌توانند بیان ژن‌های مرتبط با اتوفاژی و مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با اندومتریوز را تنظیم کرده و به بهبود علائم بیماری کمک کنند (۲۱، ۲۲). رضایی و همکاران (۲۰۲۲) گزارش نمودند که افزایش بیان ژن‌های اتوفاژی که در اندومتریوز ایجاد شده، با فعالیت ورزشی منظم هوازی و مکمل امگا-۳ مهار می‌شود (۲۱). هم‌چنین شهیدیان و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که فعالیت ورزشی منظم و نیز مصرف هم-زمان ویتامین E می‌توانند با تغییر مولکول‌های کلیدی یا مسیرهای سیگنالی، باعث بهبود سطح بیماری اندومتریوز شوند (۲۲). با توجه به تأثیرات گسترده اندومتریوز بر کیفیت زندگی و عملکرد جنسی بیماران و نیز نیاز به مداخلات غیرتهاجمی و مؤثر، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر هم‌زمان تمرین شنا و مصرف مکمل‌های ویتامین‌های E و B و امگا-۳ بر بیان ژن‌های

NR5A1 و CYP19A1 در بافت تخمدان رت‌های مبتلا به اندومتریوز انجام شد. نتایج این مطالعه می‌تواند به توسعه راهکارهای مؤثرتر برای کنترل عوارض اندومتریوز و بهبود کیفیت زندگی بیماران کمک شایانی نماید.

روش‌کار

در این تحقیق تجربی تعداد ۵۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار ۸-۶ هفته‌ای با میانگین وزنی ۱۵/۶۲± ۲۰۲/۸۵ گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. حیوانات در محیطی با میانگین دمای ۱/۴±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵٪ و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی-کربنات نگه‌داری شدند. نگه‌داری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پژشکی انجام شد. حیوانات از غذای پلت و آب که به‌صورت آزاد در اختیار آنها قرار می‌گرفت، تیمار شدند. غذای مصرفی حیوانات با توجه به وزن‌کشی هفتگی به‌میزان ۱۰ گرم به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن بود. به‌منظور ایجاد مدل اندومتریوزیز، ابتدا رت‌های بالغ با استفاده از کتامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از آن، ناحیه شکمی در طرف راست با بتادین تمیز شد. سپس با استفاده از تیغ بیستوری، شکافی در پوست ناحیه پهلو در بخش لگنی داده شد. پس از باز کردن عضله شکمی و ناحیه صفاق، ابتدا بافت تخمدانی به همراه بخشی از بافت لوله رحمی برداشته شد. سپس در داخل ظرف استریل با یک سی‌سی محلول بافر سولفات[1] قرار داده شد. سپس هر بافت به یک قطعه ۱×۱ میلی‌متر بریده شد. قطعات بافتی که برای هر موش ۴ قطعه بود، به ناحیه دیواره عضلانی لگنی سمت راست، به ناحیه صفاق شکمی، به ناحیه عضله قدامی دیواره شکمی و چربی اطراف تخمدان پیوند زده شدند و ناحیه جراحی شده بخیه شدند. برای تسکین درد و التهاب از تزریق زیرجلدی ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی اپیوئیدی (۵-۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، هر ۴ ساعت) استفاده شد و بعد از آن موش‌ها به قفس مربوطه انتقال داده شدند (۲۳).

پس از القاء مدل، در هر گروه موش‌ها به‌صورت تصادفی به ۹ گروه: ۱- کنترل سالم (۵ سر)، ۲- اندومتریوز (۵ سر)، ۳- شم (اندومتریوز شده به همراه محلول نرمال سالین برای کنترل اثر خوراندن ویتامین‌ها و آب با گاواژ)، ۴- اندومتریوز+ تمرین (۵ سر)، ۵- اندومتریوز+ ویتامین B (۵ سر)، ۶- اندومتریوز+ امگا-۳ (۵ سر)، ۷- اندومتریوز+ ویتامین E (۵ سر)، ۸- تمرین+ اندومتریوز+ ویتامین B (۵ سر)، ۹- تمرین+ اندومتریوز+ ویتامین E (۵ سر) و ۱۰- تمرین+ اندومتریوز+ امگا-۳ (۵ سر) تقسیم شدند. گروه اندومتریوز، ۲ هفته بعد از ایجاد مدل تا پایان مطالعه (مدت ۸ هفته) باقی ماندند و گروه کنترل سالم به‌مدت ۸ هفته نگه‌داری شدند. رت‌های گروه تمرین+ اندومتریوز، ۲ هفته بعد از ایجاد مدل (۲۳)، قبل از شروع پروتکل اصلی، به‌مدت یک هفته (۵ روز) هر بار به‌مدت ۲۰ دقیقه به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، در داخل استخر آب قرار گرفتند. سپس ۵ روز در هفته تا پایان دوره تحقیق در یک مخزن آب به ابعاد ۵۰*۵۰*۱۰۰ سانتی‌متری با درجه حرارت ۳۲-۳۰ درجه سانتی‌گراد روزانه ۳۰ دقیقه در طی ۸ هفته به شنا پرداختند (۲۱) (جدول ۱). گروه‌های اندومتریوز+ ویتامین E و تمرین+ اندومتریوز+ ویتامین E نیز ۲ هفته بعد از ایجاد مدل به‌صورت روزانه و به شکل گاواژ به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش، ویتامین E با آب را به‌مدت ۸ هفته دریافت نمودند (۲۲). گروه‌های دریافت‌کننده مکمل امگا-۳ به‌صورت روزانه و به شکل گاواژ با دوز ۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم (یعنی ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) مکمل را با آب دریافت نمودند (۲۴). هم‌چنین گروه‌های مکمل ویتامین B (ترکیبی از ویتامین‌های B6، B2، B1) و تمرین+ ویتامین B دو هفته بعد از ایجاد مدل به‌صورت روزانه و به شکل گاواژ به‌میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، ویتامین B را با آب دریافت نمودند (۲۱). جهت حذف آثار حاد تمرین، نمونه‌برداری از حیوانات، ۴۸

[1] Phosphate Buffer Solution

ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی شنا انجام گرفت. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش و سپس کشته شدند و پس از کشتار، بافت تخمدان جهت بررسی مطالعات ژنی مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول ۱- پروتکل تمرین شنا

عوامل تمرینی	سازگاری	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
مدت تمرین در هر جلسه (دقیقه)	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
تکرار جلسه (در یک هفته)	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵

برای این منظور نمونه‌های بافتی به فرمالین ۱۰٪ و نمونه‌های مربوط به بررسی ژن به تانک ازت منتقل شدند. برای بررسی بیان ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 در هر گروه، بررسی بافت‌ها با تکنیک PCR Real Time انجام شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از تکنیک RT-qPCR جهت تأیید بیان ژن‌های مورد مطالعه به‌صورت کمّی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کیازول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل سیناژن[1] استخراج و جهت اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض DNase Ifermentas قرار گرفت. علاوه بر این، جهت ارزیابی یکپارچگی RNA استخراج شده از ژل الکتروفوز استفاده گردید. جهت استخراج RNA ابتدا به تخمدان ۳۰۰-۲۰۰ لاندا کیازول اضافه شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت، پلاک موجود در کراتیوپ در حالت نیمه‌انجماد توسط سر سمپلر خرد شده، سپس کمی آن پیپتاز گردید. سپس به نمونه حدود ۱۰۰ لاندا کلروفرم اضافه شد تا سلول‌ها لیز شود. این محلول حدود ۱ دقیقه باید با سلول‌ها در تماس بود. پس از یک دقیقه، محلول با دور ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ، محلول به سه فاز تقسیم شد: قسمت بالایی لوله که شفاف و حاوی RNA بود، قسمت میانی لوله که سفیدرنگ و حاوی بافت لیز شده بود، و قسمت پایینی لوله که صورتی و حاوی کیازول بود. مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود، به آرامی برداشته و در یک میکروتیوب حاوی دی اتیل پیروکربنات، قرار داده شد. سپس ۱ سی‌سی ایزوپروپانول بر روی RNA شفاف ریخته شد و به‌مدت ۱ دقیقه با دست به هم زده شد. ایزوپروپانول شفاف بوده و RNA نیز شفاف می‌باشد، اما وقتی این دو با هم مخلوط شوند، مایع کدری را به‌وجود می‌آورند. پس از افزودن ایزوپروپرانول، نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از خارج کردن از سانتریفیوژ، مایع رویی تخلیه و روی آن ۱ سی‌سی الکل ۷۰٪ اضافه گردید. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتریفیوژ به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. سپس مایع رویی با سمپلر تخلیه گردید و سپس پلاک در داخل میکروتیوپ خشک شد. به‌منظور حل کردن RNA به میزان ۲۰ لاندا آب مقطر ۶۰ درجه بر روی پلاک داخل میکروتیوپ ریخته شد. سپس کمی با سرسمبلر پیپتاز و به‌مدت ۵ دقیقه بر روی صفحه ۶۰ درجه قرار داده شد. هم‌چنین جهت تهیه cDNA تک رشته‌ای از پرایمر oligodtMWG-Biotech, Germany و آنزیم نسخه‌برداری معکوس (شرمت فرمنتاز[2]) استفاده و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. هر واکنش PCR با استفاده از PCR master mix Applied Biosystems و SYBER Green در دستگاه Applied Biosystems, Sequences Foster ABI Step) DetectionSystems .City CA one) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی-

[1] CinnaGen

[2] fermentas

گراد برای ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting جهت بررسی صحت واکنش-های PCR انجام شده و به‌صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این تحقیق، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (CT :Thereshold Cycle) مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول زیر:

$$R = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$$

$$\Delta\Delta CT = (CT_{target} - CT_{refence})_{Time\ X} - (CT_{target} - CT_{refence})_{Time\ 0}$$

منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن با استفاده از حداقل ۵ غلظت لگاریتمی به‌ترتیب رقیق شونده از کنترل مثبت هر ژن رسم گردید. میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به‌عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

$$Ratio = \frac{(E_{target})^{\Delta CT target}}{(E_{reference})^{\Delta CT reference}}$$

$$(\Delta Ct_{target} = Ct_{control}\text{-}Ct_{treatment} \text{ و } \Delta Ct_{refrence} = Ct_{control}\text{-}Ct_{treatment})$$

در فرمول فوق E، معرف Efficiency است و با استفاده از رسم منحنی استاندارد برای ژن به‌دست می آید (Pfaffl MW, 2001). بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌های بافتی، برای توصیف کمّی داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرووِیلک و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. سپس با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده‌ها از آزمون پارامتریک شامل آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p\leq$۰/۰۵ برای بررسی تغییرات بیان ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) انجام شد. جدول ۱، توالی پرایمرها را نشان می دهد.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده

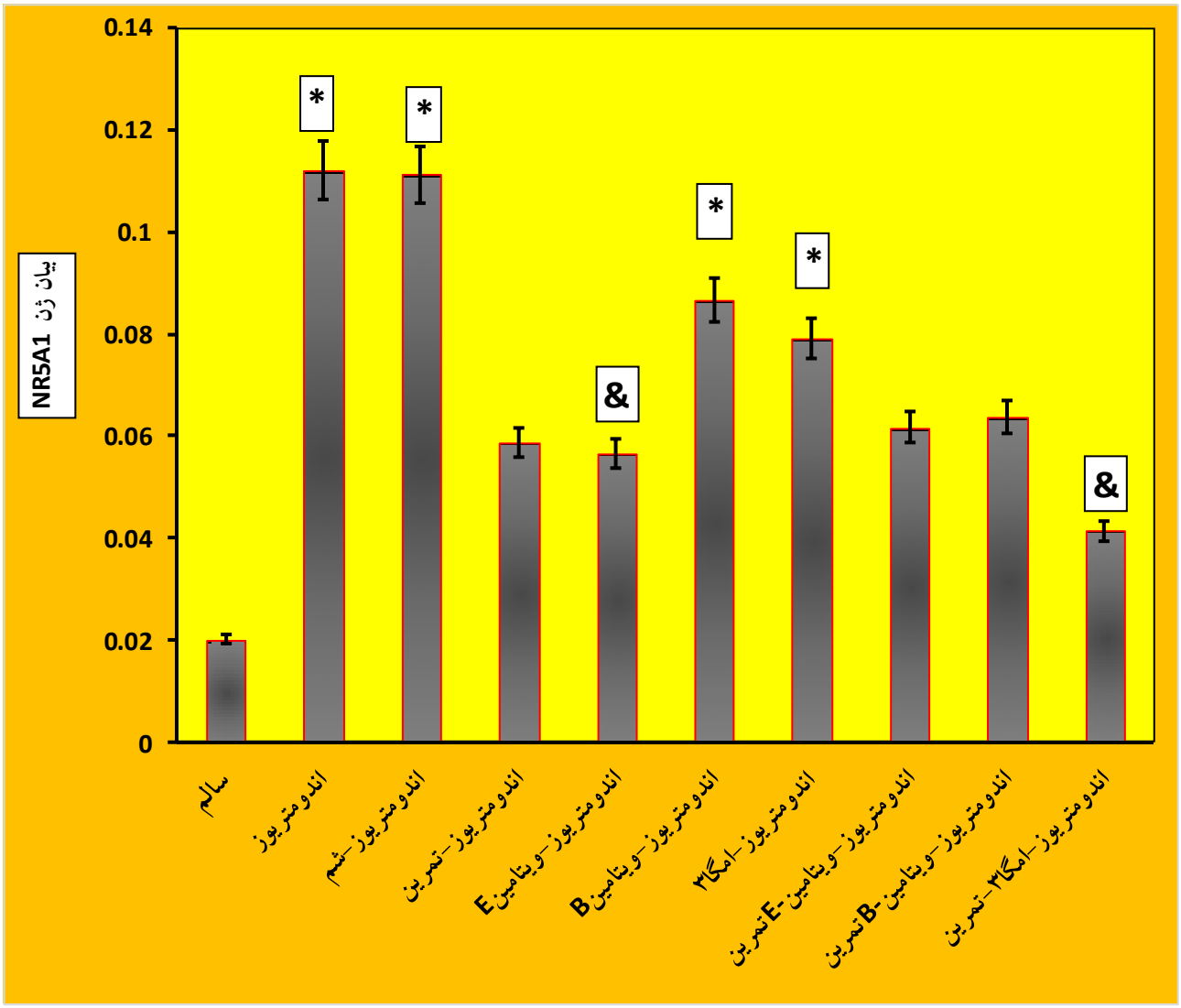
ژن‌ها	توالی پرایمرها
r-Nr5a1-f	TGTGTGTTTGGGATGATGGG
r-Nr5a1-r	GGAGGAAGGAGTGGTTAGAAGT
Cyp19a1-f	GAATGGTAGAAGTCTGTGTGGA
Cyp19a1-r	GATGTTTGGTTTGATAAGGAGTG

یافته‌ها

بر اساس نتایج مطالعه، بین گروه‌های مختلف پژوهش تفاوت معنی‌داری در بیان ژن NR5A1 به لحاظ آماری وجود داشت (p=۰/۰۰۱، F=۴/۱۳۱، ۰/۴۷۹= اندازه اثر). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که القای مدل تجربی اندومتریوز منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن NR5A1 نسبت به گروه کنترل سالم شد (p<۰/۰۰۱). تمرین شنا+ ویتامین E (p=۰/۰۱۳) و تمرین شنا+ امگا-۳ (p=۰/۰۱۲) منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن NR5A1 بافت تخمدان در رت‌های مدل تجربی اندومتریوز شد (جدول۲، نمودار ۱). همچنین، بین گروه‌های مختلف پژوهش تفاوت معنی‌داری در بیان ژن CYP19A1 به لحاظ آماری وجود داشت (p=۰/۰۰۵، F=۳/۴۱۹، ۰/۴۳۲= اندازه اثر). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که القای مدل تجربی اندومتریوز همچنین منجر به افزایش معنی‌دار ژن CYP19A1 نسبت به گروه کنترل سالم شد (p=۰/۰۰۳). گروه ترکیبی تمرین+ امگا-۳ منجر به کاهش معنی‌دار ژن CYP19A1 بافت تخمدان نسبت به گروه اندومتریوز شد (p=۰/۰۳۱) (جدول ۲، نمودار ۲).

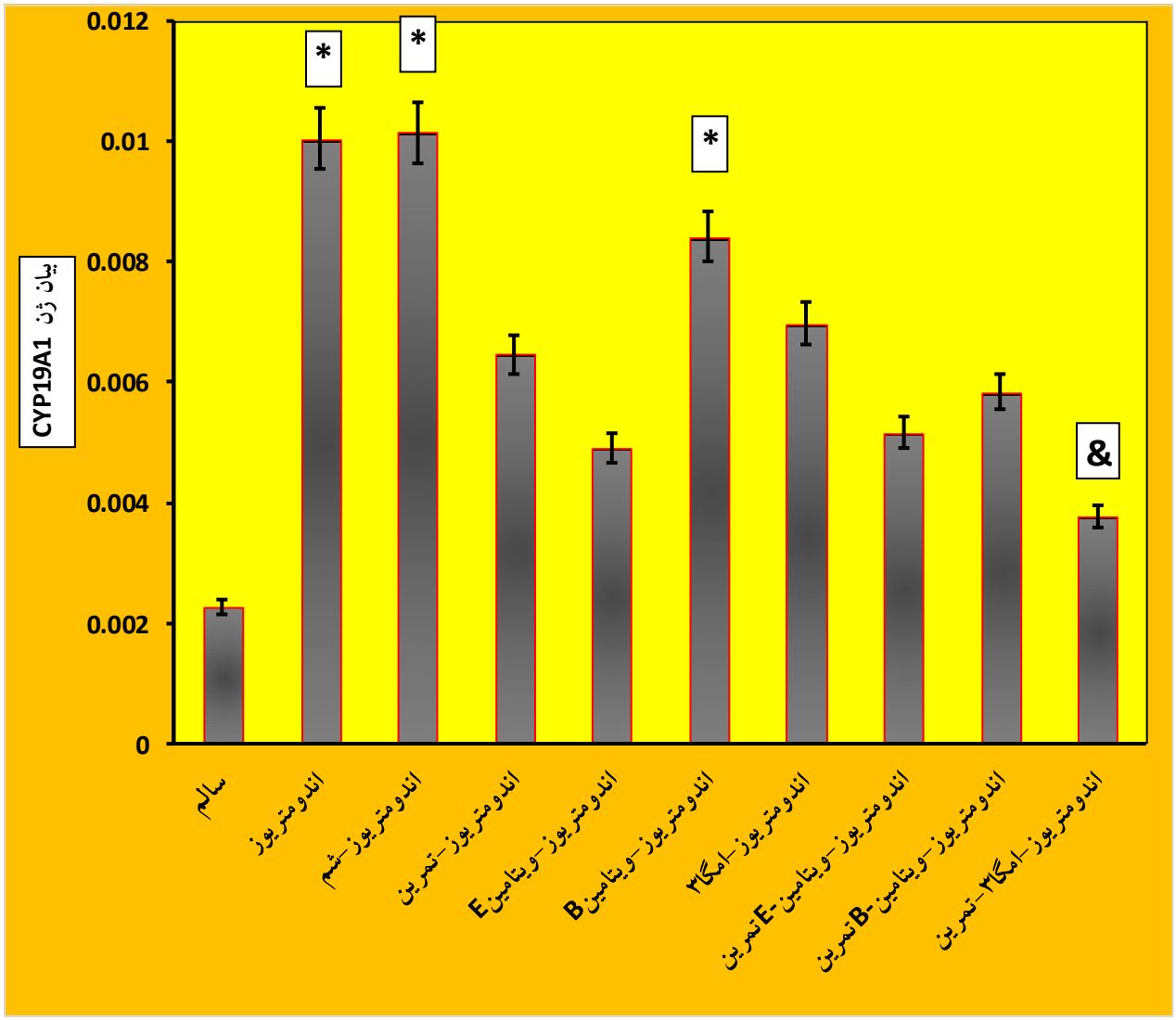
جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان

	F	سطح معنی‌داری	اندازه اثر
NR5A1	۴/۱۳۱	۰/۰۰۱	۰/۴۷۹
CYP19A1	۳/۴۱۹	۰/۰۰۵	۰/۴۳۲



نمودار ۱- مقایسه میانگین سطوح NR5A1 در گروه های مختلف پژوهش

* تغییر معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم &: تغییر معنی‌دار نسبت به گروه اندومتریوز



نمودار ۲- مقایسه میانگین سطوح CYP19A1 در گروه های مختلف پژوهش

*** تغییر معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم &: تغییر معنی‌دار نسبت به گروه اندومتریوز**

بحث

در این پژوهش، القای اندومتریوز در رت‌ها سبب افـزایش ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان گردید که ممکن است این جهش ژن، یکی از علـل نابـاروری در مـوش‌هـای انـدومتریوز باشـد. در هـر دو سـلول تکـا[1] و گرانولـوزای[2]، NR5A1 ژن‌هـای مـورد نیـاز بـرای استروئیدوژنز تخمدان و رشد و بلـوغ فولیکـول، از جملـه STAR، CYP11A1، CYP17A1، CYP19A1،

[1] theca
[2] granulosa

LHCGR (رمز کننده گیرنده هورمون لوتئین کننده) و INHA را تنظیم می‌کند. اختلال در تنظیم هـر یـک از پروتئین‌های کدگذاری شده توسط ایـن ژن‌هـا مـی‌توانـد منجر به اختلال عملکرد تخمدان شود. این داده‌ها نشـان می‌دهد که اشکال جهش‌یافته NR5A1 که در افـراد بـا ناهنجاری‌های رشد و عملکرد تخمدان شناسایی شده‌انـد، اختلال اندکی را در فعال‌سـازی دو مـورد از ایـن عوامـل (CYP11A1 و CYP19A1) نشـان مـی‌دهنـد. NR5A1 جهـش‌یافتـه بـا کـاهش تـدریجی ظرفیـت تولیدمثلی تخمـدان همـراه اسـت (۵). NR5A1/SF1 رونویسی ژن‌های CYP11A1، CYP19A1، AMH

و INH-A را تنظیم می‌کند که در استروئیدزایی، رشد و عملکرد تخمدان نقش دارند (۲۵). اختلال در تنظیم هر پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن‌ها می‌تواند منجر به اختلال عملکرد تخمدان شود. اختلال در CYP19A1 (آروماتاز) می‌تواند به کمبود هورمون‌های استروئیدی، به‌ویژه استروژن و متعاقب آن فولیکولوژنز غیرطبیعی کمک کند. نتایج مطالعات دی و همکاران (۲۰۲۱) نقش مهاری AMH را در شروع رشد فولیکول اولیه و پاسخگویی به FSH فولیکول‌های کوچک در حال رشد نشان می‌دهد (۲۶). INHIBIN-A، به‌عنوان یک فاکتور پاراکرین در فولیکولوژنز و تنظیم‌کننده منفی برای FSH، هدف پایین دستی ژن NR5A1 است (۲۷). پژوهش‌هایی که در دهه‌های اخیر انجام شده است، نشان می‌دهد تغییر در مولکول‌های کلیدی و مسیرهای سیگنالی، از طریق تأثیر بر روی تکثیر، مهاجرت و تهاجم سلولی می‌تواند بر میزان آسیب اکسایشی و التهاب و در نتیجه وقوع و پیشرفت بیماری اندومتریوز مؤثر باشد (۲۴). بنابراین، عوامل اصلاحی مانند تغذیه و تمرین ورزشی می‌تواند از بهترین روش‌های غیرتهاجمی جهت پیشگیری و درمان از طریق تنظیم و تعدیل این بیماری باشد (۲۸). تمام روش‌های مداخله‌ای به‌کار رفته در این پژوهش، مصرف مکمل‌های ویتامین B، E و امگا-۳ و ترکیب این ویتامین‌های آنتی-اکسیدانی با تمرین ورزشی شنا، منجر به کاهش ژن NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان رت‌های مدل تجربی اندومتریوز شد که این کاهش در گروه‌های ترکیبی تمرین ورزش+ امگا-۳ و هم‌چنین تمرین ورزشی+ ویتامین E معنی‌دار بود. پژوهشی که اثر تمرین ورزشی و یا ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی بر این ژن‌ها در بافت تخمدان رت‌های مدل تجربی اندومتریوز را بررسی کرده باشد، یافت نشد که این جزء محدودیت‌های این پژوهش بود. تئوری حمایت از تمرین ورزشی به‌عنوان یک رویکرد سودمند شامل مشاهده عضلات اسکلتی به‌عنوان یک اندام غدد درون‌ریز است که با انقباض این عضلات باعث آزاد شدن میوکین‌ها می‌شود. این میوکین‌ها ممکن است اثرات مستقیمی بر خودِ عضله و یا اندام‌های دیستال مانند کبد، پانکراس یا بافت چربی داشته باشند (۲۹). علاوه بر این، ورزش تولید لکوسیت-ها، کورتیزول و آدرنالین را افزایش می‌دهد که همگی دارای اثرات ضدالتهابی حاد قوی هستند (۳۰). تمرین ورزشی هوازی می‌تواند تأثیرات مختلفی بر روی بیماری اندومتریوز بسته به شدت، مدت، حجم و تناوب تمرین و میزان استرس اکسیداتیو ناشی از تمرین ورزشی داشته باشند (۳۱). مکانیسم احتمالی تأثیرات تمرین ورزشی هوازی بر اندومتریوز احتمالاً به کاهش استرس اکسایشی، تقویت سیستم ایمنی و کاهش عوامل هورمونی مربوط می‌شود (۳۲). قاسمیان و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمرینات شنا با شدت سبک و متوسط می‌تواند منجر به کاهش اندازه ضایعات آندومتریوتیک بدون در نظر گرفتن فراوانی آن گردد (۲۴). از طرفی، تمرینات هوازی منظم، توانایی سیستم-های ضداکسایشی بدن را افزایش داده و بدن را در مقابل خاصیت تخریب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد که در اثر ورزش افزایش می‌یابند، محافظت می‌کنند. بنابراین احتمالاً همراه با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، سازگاری‌هایی در میزان تولید و فعالیت سیستم آنتی-اکسیدانی آنزیمی سلول‌ها رخ می‌دهد که آثار نامطلوب آن‌را بی‌اثر می‌کند (۲۲). این مکانیسم‌های ناشی از ورزش ممکن است از جمله مواردی باشند که کاهش در ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان رت‌ها را که در اثر القای اندومتریوز جهش یافته بود، توجیه نماید. نقش استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی اندومتریوز به‌خوبی در مطالعات نشان داده شده است که کاهش استرس اکسیداتیو، یک گزینه درمانی است (۳۳). ویتامین E می‌تواند اثرات متقابلی برای کاهش آسیب سلولی ناشی از ROS داشته باشد (۳۴). به‌نظر می‌رسد می‌توان از ویتامین E برای خنثی کردن آسیب اکسیداتیو در اندومتریوز استفاده کرد. این ویتامین‌ها می توانند رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو را پاک کنند (۱). ویتامین E، یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی، می تواند بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو را به تأخیر بیاندازد و یا از آن جلوگیری کند. این ویتامین ممکن است به‌عنوان عامل خنثی کننده در برابر رادیکال‌های آزاد و ROS تولید شده توسط سلول‌های اندومتریوز در

نظر گرفته شوند (۳۵). امینی و همکاران (۲۰۲۱) کاهش قابل توجهی در سطح MDA و هیدروپراکسیدهای لیپید در زنان مبتلا به EMS پس از ۴ و ۶ ماه درمان با ویتامین E گزارش کردند (۱). مطالعه دیگری نشان داد که ۸۰۰ IU/d در روز ویتامین E به‌مدت ۸ هفته قبل از درمان IVF-ET در زنان مبتلا به EMS شدید می تواند به‌طور قابل توجهی سطح میلوپراکسیداز مایع فولیکولی را کاهش دهد (۲۰). در مقابل، در مطالعه لو و همکاران (۲۰۱۸)، مکمل خوراکی ویتامین E به‌مدت ۲ ماه بر نشانگرهای استرس اکسیداتیو (RoS، TAC، SoD و MDA) در بیماران مبتلا به EMS تأثیری نداشت (۳۶). به‌نظر می‌رسد ویتامین E می‌تواند از گسترش فرآیند پراکسیداتیو با خاصیت شکستن زنجیره جلوگیری کند. در واقع، این ویتامین به بافت کمک می‌کند تا سطوح اکسیدان و آنتی‌اکسیدانی را متعادل کند. نقش شناخته شده ROS در تکثیر سلول‌های اندومتریوز، همراه با افزایش تولید ROS در اندومتریوز در پاسخ به التهاب، اهمیت کاهش ROS را در درمان آندومتریوز نشان می‌دهد. از این رو، عملکرد آنتی‌اکسیدانی ویتامین‌ها ممکن است علائم بالینی اندومتریوز را کاهش دهد (۱). این مکانیسم‌ها می‌توانند از کاهش ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان رت‌ها در اثر فعالیت منظم ورزشی و ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی، که در اثر القای اندومتریوز افزایش یافته بود، حمایت نمایند. مطالعات قبلی تأیید کردند که مواد شبه بتا اندورفین پس از تزریق ویتامین E افزایش یافته و منجر به تسکین درد در دیسمنوره می‌شود (۱). علاوه بر این، نشان داده شده است که مصرف آنتی‌اکسیدان، یک اثر محافظتی در برابر فعال شدن NF-kB ایجاد می‌کند و علائم ناشی از بیماری را کاهش می‌دهد (۲۰). گیامپائولینو و همکاران (۲۰۱۹) در یک مطالعه نشان دادند که ویتامین‌های گروه B منجر به تسکین درد و بهبود ضایعه آندومتریوتیک در رت‌های مدل تجربی اندومتریوز و کاهش علائم این بیماری می‌شود (۳۷). ویتامین B نقش مهمی در پیشگیری و درمان بیماری اندومتریوز از طریق تعدیل مسیرهای سیگنالی دارد. این دسته از ویتامین‌ها، یک عامل ضدالتهابی قوی و ضد جهش و تقویت‌کننده عصب شناخته می‌شود (۱۷) که از طریق فعال‌سازی ژن سرکوب‌کننده تومور، غیرفعال‌سازی رگ‌زایی و فعال‌سازی ژن ضدالتهابی و القاء آپوپتوز، موجب مهار پیشرفت تومورهای این بیماری و مانع بسیاری از تغییرات پاتولوژیکی می‌شود که در پاسخ به نفوذ سلول‌های التهابی ایجاد می‌شود (۲۴). هم‌چنین پژوهش‌ها نشان می‌دهند که اسیدهای چرب چندگانه غیراشباع نظیر امگا-۳ خوراکی (o-pufa)، دارای پتانسیل کاهش نشانه‌های دردناک مربوط به اندومتریوز، کاهش اندازه ضایعه، حفظ توانایی بارداری در بیمار در حین دارودرمانی و دارای اثرات جانبی اندک و یا بدون آن می‌باشند (۲۱). امگا-۳ به‌واسطه رقابت با اسیدهای چرب امگا-۶ جهت تولید واسطه‌های لیپیدی ضدالتهابی، نقش مهمی در تنظیم پروستاگلاندین‌ها و سیتوکین‌ها که از عوامل مهم اندومتریوز هستند، ایفا می‌کنند. مصرف غذاهای با محتوای بالای امگا-۳ دارای اثر ضدالتهابی می‌باشد، هم‌چنین می‌توانند به‌عنوان پیش‌ماده تشکیل دامنه گسترده‌ای از واسطه‌های دخیل در رفع التهاب، عمل کنند (۳۸). اگرچه در تحقیق حاضر بسیاری از متغیرها از قبیل نژاد، جنس، وزن، عوامل محیطی، عوامل تمرینی تحت کنترل بودند؛ با این وجود پژوهش حاضر با محدودیت‌های مانند عدم کنترل فعالیت شبانه آزمودنی‌های پژوهش به ویژه گروه‌های بدون تمرین و تداخل احتمالی آن بر نتایج تحقیق مواجه بود. همچنین، اندازه گیری بیان پروتئین در کنار بیان ژن می تواند نتایج بهتری در پی داشته باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن بود که انجام تمرین هوازی شنا و نیز مصرف هم‌زمان ویتامین E و امگا-۳ می‌تواند منجر به کاهش ژن‌های NR5A1 و CYP19A1 بافت تخمدان رت‌های اندومتریوز گردد که ممکن است از این طریق، دارای اثر حفاظتی بر بافت تخمدان در رت‌های اندومتریوز باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدین‌وسیله از تمامی کسانی که در

پیشبرد اهداف رساله یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

تأییدیه اخلاقی

این پژوهش توسط کمیته مراقبت از حیوانات و استفاده از آن در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری (با شماره مجوز تصویب: IR.IAU.SARI.REC.1402.272) تأیید شده است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارضی را گزارش نکردند.

منابع

1. Amini L, Chekini R, Nateghi MR, Haghani H, Jamialahmadi T, Sathyapalan T, et al. The effect of combined vitamin C and vitamin E supplementation on oxidative stress markers in women with endometriosis: a randomized, triple-blind placebo-controlled clinical trial. Pain Research and Management 2021; 2021(1):5529741.
2. Ghasemi SS, Eslamian G, Kazemi SN, Rashidkhani B, Taheripanah R, Nematifard E. Association of dietary intakes and anthropometric indices with endometriosis: a case-control study. The Iranian Journal of Gynecology, Obstetrics and Infertility 2022; 25(2): 79-89.
3. Augoulea A, Alexandrou A, Creatsa M, Vrachnis N, Lambrinoudaki I. Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress. Archives of gynecology and obstetrics 2012; 286:99-103.
4. Sinha A, Gupta S. The role of antioxidant supplementation in endometriosis therapy. J Gynecol Women's Health 2017; 3:555601.
5. Luppino G, Wasniewska M, Coco R, Pepe G, Morabito LA, Li Pomi A, et al. Role of NR5A1 Gene Mutations in Disorders of Sex Development: Molecular and Clinical Features. Current Issues in Molecular Biology 2024; 46(5):4519-32.
6. Smith OE, Morin F, Roussel V, Bertucci MC, Boyer A, Murphy BD. The role of steroidogenic factor 1 (SF-1) in steroidogenic cell function of the testes and ovaries of mature mice. Reproduction 2023; 165(1):1-7.
7. Sajinovic T, Baier G. New insights into the diverse functions of the NR2F nuclear orphan receptor family. Frontiers in Bioscience-Landmark 2023; 28(1):13.
8. Rajakumar A, Senthilkumaran B. Steroidogenesis and its regulation in teleost-a review. Fish Physiology and Biochemistry 2020; 46(3):803-18.
9. Wu PF, Wang XF, Gao F, Du WG. Role of Cyp19a1 in the female pathway of a freshwater turtle species (Mauremys reevesii) with temperature-dependent sex determination. Zool Res 2022; 43(1):81-84.
10. Zondervan KT, Becker CM, Koga K, Missmer SA, Taylor RN, Viganò P. Endometriosis. Nat Rev Dis Primers 2018; 4(1):9.
11. National Guideline Alliance (UK). Endometriosis: diagnosis and management. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2017.
12. Aredo JV, Heyrana KJ, Karp BI, Shah JP, Stratton P. Relating chronic pelvic pain and endometriosis to signs of sensitization and myofascial pain and dysfunction. InSeminars in reproductive medicine 2017; 35(01):088-097.
13. Hansen S, Sverrisdóttir UÁ, Rudnicki M. Impact of exercise on pain perception in women with endometriosis: A systematic review. Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica 2021; 100(9):1595-601.
14. Tennfjord MK, Gabrielsen R, Tellum T. Effect of physical activity and exercise on endometriosis-associated symptoms: a systematic review. BMC women's health 2021; 21:1-10.
15. Clower L, Fleshman T, Geldenhuys WJ, Santanam N. Targeting oxidative stress involved in endometriosis and its pain. Biomolecules 2022; 12(8):1055.
16. Xu X, Wu H, Liu Y. Association Between Composite Dietary Antioxidant Index and Endometriosis from NHANES 2001–2006: A Cross-Sectional Study. International Journal of Women's Health 2024: 1845-54.
17. Ansariniya H, Yavari A, Javaheri A, Zare F. Oxidative stress-related effects on various aspects of endometriosis. American Journal of Reproductive Immunology 2022; 88(3):e13593.
18. Bolkar PE, Shelke PA, Sanap GS. Effect of medicinal herbs on dysmenorrheoa. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2023; 12(2):150-9.
19. Jara-Gutiérrez Á, Baladrón V. The role of prostaglandins in different types of cancer. Cells 2021; 10(6):1487.
20. Santanam N, Kavtaradze N, Murphy A, Dominguez C, Parthasarathy S. Antioxidant supplementation reduces endometriosis-related pelvic pain in humans. Translational Research 2013; 161(3):189-95.
21. Rezaeei Z, Farzanegi P, Abbaszadeh H. Evaluation of BECLINE-1 and LC3 gene expression in endometriosis rats following regular aerobic exercise and omega-3 intake. Nurse and Physician within War 2022; 10(34):50-7.

22. Shahidian Akbar F, Farzanegi P, Abbaszadeh H. Effect of a period of swimming exercise and vitamin E intake on catalase and superoxide dismutase activity, and malondialdehyde levels in ovarian tissue of endometriosis model rats. The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility 2020; 23(9):43-51.
23. Kiani K, Movahedin M, Malekafzali H, Mirfasihi F, Sadati SN, Moini A, et al. Effect of the estrus cycle stage on the establishment of murine endometriosis lesions. International Journal of Reproductive BioMedicine 2018; 16(5):305.
24. Ghasemian Langharodi S, Farzanegi P, Moradi L. The effect of swimming training and vitamin B6 intake on GATA2 gene expression in endometriosis rat. J Ardabil Univ Med Sci 2019; 19(3):354-65.
25. Jiao X, Qin Y, Li G, Zhao S, You L, Ma J, et al. Novel NR5A1 missense mutation in premature ovarian failure: detection in han chinese indicates causation in different ethnic groups. PLoS One 2013; 8(9):e74759.
26. Di Clemente N, Racine C, Pierre A, Taieb J. Anti-Müllerian hormone in female reproduction. Endocrine reviews 2021; 42(6):753-82.
27. Chand AL, Harrison CA, Shelling AN. Inhibin and premature ovarian failure. Human reproduction update 2010; 16(1):39-50.
28. Leubolt G, Redondo Monte E, Greif PA. GATA2 mutations in myeloid malignancies: Two zinc fingers in many pies. IUBMB life 2020; 72(1):151-8.
29. Brandt C, Pedersen BK. The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases. BioMed Research International 2010; 2010(1):520258.
30. Nimmo MA, Leggate M, Viana JL, King JA. The effect of physical activity on mediators of inflammation. Diabetes, Obesity and Metabolism 2013; 15(s3):51-60.
31. Rose GL, Skinner TL, Mielke GI, Schaumberg MA. The effect of exercise intensity on chronic inflammation: a systematic review and meta-analysis. Journal of Science and Medicine in Sport 2021; 24(4):345-51.
32. Krupa A, Padała O, Putowski M, Konopelko M, Piasek E. Available treatment methods for endometriosis. Journal of Education, Health and Sport 2019; 9(7):178-84.
33. Vitale SG, Capriglione S, Peterlunger I, La Rosa VL, Vitagliano A, Noventa M, et al. The role of oxidative stress and membrane transport systems during endometriosis: a fresh look at a busy corner. Oxidative medicine and cellular longevity 2018; 2018(1):7924021.
34. Laili AN, Ananingsih I, Wiyasa IW, Indrawan IW, Barlianto W, Yueniwati Y. Protective effect of combined vitamin C and E against ovarian and endometrial toxicity in rats that receiving oral rhodamine B. Biomarkers and Genomic Medicine 2015; 7(4):154-8.
35. Baboo KD, Chen ZY, Zhang XM. Role of oxidative stress and antioxidant therapies in endometriosis. Reproductive and Developmental Medicine 2019; 3(03):170-6.
36. Lu X, Wu Z, Wang M, Cheng W. Effects of vitamin C on the outcome of in vitro fertilization–embryo transfer in endometriosis: A randomized controlled study. Journal of International Medical Research 2018; 46(11):4624-33.
37. Giampaolino P, Corte LD, Foreste V, Bifulco G. Is there a relationship between vitamin D and endometriosis? An overview of the literature. Current pharmaceutical design 2019; 25(22):2421-7.
38. Tourny C, Zouita A, El Kababi S, Feuillet L, Saeidi A, Laher I, et al. Endometriosis and physical activity: a narrative review. International Journal of Gynecology & Obstetrics 2023; 163(3):747-56.

Response of NR5A1 and CYP19A1 genes of ovarian tissue in endometriosis experimental model rats to regular exercise and antioxidant supplement

Sakineh Sadeghian[1], Parvin Farzanegi[2*], Amin Farzaneh Hesari[3], Yasaman Asadi Saravi[4]

1. PhD Student in Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
2. Professor, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Sport Rehabilitation and Corrective Exercise, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Received: Oct 23, 2024 **Accepted:** Jan 27, 2025

Abstract

Introduction: Swimming can help improve symptoms of endometriosis by reducing inflammation and oxidative stress. Also, vitamins C and E may be involved in scavenging free radicals in women with endometriosis. In addition, vitamins B both increase estrogen metabolism in a passive form and support the conversion of linoleic acid to gamma-linolenic acid. The present study was conducted with aim to investigate the effect of regular aerobic exercise and antioxidant vitamins on the expression of NR5A1 and CYP19A1 genes in ovarian tissue of endometriosis model rats.

Methods: In this experimental study, 50 female rats were divided into 10 groups: 1-healthy control, 2-endometriosis, 3-sham, 4-endometriosis+exercise, 5-endometriosis+vitamin B, 6-endometriosis+omega3, 7-endometriosis+vitaminE, 8-exercise+endometriosis+vitaminB, 9-exercise+endometriosis+vitaminE, 10-exercise+endometriosis+omega3. The training program consisted of swimming 5 days a week for 8 weeks. Vitamin E was administered at a dose of 200mg/kg, omega3 supplement at a dose of 2ml/kg, and vitamin B (a combination of vitamins B6, B2, B1) at a dose of 60 mg/kg per day by gavage. CYP19A1 and NR5A1 gene expression was measured by real-time PCR. Data were analyzed using SPSS software (version 23) and ANOVA test. $P<0.05$ was considered significant.

Results: The induction of the experimental model of endometriosis caused a significant increase in the NR5A1 gene compared to the healthy control group ($p<0.001$). Swimming training+vitamin E ($p=0.013$) and swimming training+omega3 ($p=0.012$) led to a significant decrease of NR5A1 gene in ovarian tissue in the experimental model of endometriosis rats. The induction of the experimental model of endometriosis also caused a significant increase in the CYP19A1 gene compared to the healthy control group ($p=0.003$). The combined exercise+omega3 group had a significant decrease in ovarian CYP19A1 gene compared to the endometriosis group ($p=0.031$).

Conclusion: Endometriosis is associated with increased NR5A1 and CYP19A1 genes in the ovarian tissue and swimming training plus omega3 and vitamin E will help to improve endometriosis by reducing NR5A1 and CYP19A1 gene expression.

Keywords: Antioxidant, Endometriosis, Exercise

► **Please cite this article as:**
Sadeghian S, Farzanegi P, Farzaneh Hesari A, Asadi Saravi Y. Response of NR5A1 and CYP19A1 genes of ovarian tissue in endometriosis experimental model rats to regular exercise and antioxidant supplement. **Iran J Obstet Gynecol Infertil** 2025; 27(11):26-37. **DOI:** 10.22038/ijogi.2025.77772.5984