مجله فعالیت بدنی و تندرستی
سال اول / شماره ۳ / پاییز ۱۴۰۱

اثر ۸ هفته تمرین شنا همراه با مصرف ویتامین B6 و امگا- ۳ بر بیان ژن NF-KB بافت آندومتر در رت های مدل آندومتریوز

فاطمه رشیدپور
دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
***پروین فرزانگی**
دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
هاجر عباس زاده
دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

چکیده

هدف: هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر یک دوره فعالیت ورزشی منظم همراه با مصرف ویتامین B6 و امگا- ۳ بر بیان ژن NF-KB بافت آندومتر در موش های مدل آندومتریوز بود. **روش:** در این تحقیق تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۸ گروه کنترل-سالم، آندومتریوز، شم، آندومتریوز+تمرین، آندومتریوز+B6، آندومتریوز+امگا-۳، آندومتریوز+تمرین+B6، آندومتریوز+تمرین+ امگا-۳ دسته بندی شدند. ویتامینB6 به میزان ۶۰mg/kg به ازای وزن بدن هر رت مصرف شد و میزان مصرف امگا-۳ به صورت روزانه و به شکل گاواژ با دوز ۲mg/kg به ازای وزن بدن هر رت بود. برنامه تمرین شنا به مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ روز و هر روز به مدت ۳۰ دقیقه بود. **یافته ها:** نتایج نشان داد میزان بیان ژن NF-KB در گروه اندومتریوز نسبت به گروه کنترل-سالم افزایش معناداری داشته است($p<۰/۰۵$).گروه های اندومتریوز+تمرین+ B و اندومتریوز+تمرین+امگا نسبت به گروه اندومتریوز کاهش معناداری در میزان بیان ژن NF-KB داشته اند ($p<۰/۰۵$). گروه اندومتریوز+تمرین+ B نسبت به گروه های اندومتریوز +تمرین و اندومتریوز +امگا۳ کاهش معناداری داشته است ($p<۰/۰۵$) .**نتیجه گیری:** به طور کلی نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که تنظیم و متعادل سازی بیان ژن NF-KB در فرایند آندومتریوز می تواند باعث بهبود سطح این بیماری گردد و انجام تمرینات شنا و نیز مصرف هم زمان امگا-۳ و ویتامینB6 ، به وضعیت طبیعی ژن NF-KB کمک خواهد کرد.

واژگان کلیدی: آندومتریوز، تمرین ورزشی، امگا-۳، ویتامین B6، NF-KB

Quarterly Journal of Physical Activity and Health
Vol.1,No.3,Autumn 2022

The Effect of 8 Weeks Swimming Training with Vitamin B6 and Omega-3 Intake on NF-KB Gene Expression of Endometrial Tissue in Endometriosis Model Rats

Fatemeh Rashidpour
PhD student, Sports Physiology Department, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
***Parvin Farzanegi**
Associate Professor, Sports Physiology Department, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
Hajar Abbaszadeh
Associate Professor, Sports Physiology Department, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Abstract

Aim: The purpose of this study was to investigate the effect of regular exercise along with vitamin B6 and omega-3 consumption on NF-KB gene expression in endometriosis model rats. **Methods:** In this experimental study, 40 Wistar desert rats were randomly divided into 8 control-healthy groups, endometriosis, sham, endometriosis +exercise, endometriosis+B6, endometriosis+omega-3, endometriosis+exercise+B6, endometriosis +exercise +omega. -3 were categorized. Vitamin B6 was consumed at the rate of 60 mg/kg per body weight of each rat, and the amount of omega-3 consumption was daily and in the form of gavage with a dose of 2 mg/kg per body weight of each rat.The swimming training program was for 8 weeks and 5 days each week and for 30 minutes each day. **Results:** The results showed that the level of NF-KB gene expression in the endometriosis group has increased significantly compared to the healthy control group ($P< 0.05$). The endometriosis+exercise+vitaminB6 and endometriosis+exercise+omega-3 groups had a significant decrease in the level of NF-KB gene expression compared to the endometriosis group ($P< 0.05$). are The endometriosis +exercise +vitamin B6 group had a significant decrease compared to the endometriosis +exercise and endometriosis +omega groups ($P< 0.05$). **Conclusion:** In general, the results of the present research indicate that regulating and balancing NF-KB gene expression in the process of endometriosis can improve the level of this disease, and swimming exercises and simultaneous consumption of omega-3 and vitamin B6 can restore the normal state of the NF gene. -KB will help.

Keywords: endometriosis, exercise, omega-3, vitamin B6, NF-KB

* نویسنده مسئول **parvin.farzanegi@gmail.com**

دریافت : ۱۴۰۱/۰۶/۳۱ **پذیرش:۱۴۰۱/۰۹/۱۴**

مقاله پژوهشی

مقدمه

اندومتریوز[1] بیماری التهابی وابسته به استروژن که با رشد غدد آندومتر و استروما در خارج از حفره رحم مشخص می شوند (نیو[2] همکاران، ۲۰۲۱). اندومتریوز با طیفی ازعلائم همراه است که شایع‌ترین آن‌ها درد شدید لگن و درد در دوران قاعدگی (دیسمنوره)، درد در حین مقاربت (دیسپارونی) و ناباروری می باشد(قاسمیان لنگرودی[3] و همکاران،۲۰۲۱؛ کی آگاروال[4] و همکاران،۲۰۲۱). در پاتوژنز این بیماری عوامل مختلفی مانند انتقال معکوس سلول های آندومتر، نقص ایمنی، ژنتیک، متاپلازی هورمون ها و شرایط محیطی تأثیر دارند (قاسمیان لنگرودی همکاران،۲۰۱۹). خطر ابتلا به آندومتریوز به تعامل پیچیده ای بین عوامل ژنتیکی، ایمنی، هورمونی و محیطی بستگی دارد (آگوستین[5] و همکاران ،۲۰۲۱ ؛ فاکس[6] همکاران،۲۰۱۶). فاکتور رونویسی هسته ای کاپا B-(NF-kB) یکی از همه گیرترین فاکتورهای رونویسی است که در پاسخ های التهابی و ایمنی و همچنین در تنظیم بیان بسیاری از ژن های دیگر مربوط به بقای سلول، تکثیر و تمایز نقش دارد. فاکتور رونویسی هسته ای کاپا- B آزاد سپس به هسته منتقل می شود، جایی که به مناطق اتصال KB در مناطق پروموتر ژن های هدف متصل می شود و باعث رونویسی واسطه های پیش التهابی، به عنوان مثال: سیکلوکسیژناز-۲ (COX-2) ، TNF-a و اینترلوکین۱ β ، ۶ و ۸ می شود (جیولیانی[7] وهمکاران،۲۰۱۸). علاوه بر ایجاد واسطه در بیان ژن های پیش التهابی مختلف در سلول های ایمنی ذاتی، فاکتور رونویسی هسته ای کاپا B فعال سازی، تمایز و عملکرد موثر سلول های T التهابی را تنظیم می کند(ساتروالا[8] همکاران ،۲۰۱۴). انجام فعالیت های ورزش منظم دارای اثرات محافظتی در برابر بیماریهایی است که شامل فرآیندهای التهابی هستند (مونتنگرو[9] همکاران،۲۰۱۹). شواهد نشان می‌دهد که بیماران مبتلا به اندومتریوز دارای سطوح بالاتر استرس اکسایشی و سایتوکین‌های التهابی و پیش التهابی می باشد و در رویکرد ورزش درمانی به بیمار کمک می‌شود تا با سرعت بیشتری بهبود یابد (شهیدیان اکبری و همکاران،۲۰۲۰). از طرفی دیگر امروزه استفاده از مکمل ها در درمان بیماری ها و اختلالات متابولیکی در بین عموم گسترش بیشتری یافته است.

مطالعات نشان دادند مصرف مکمل های غذایی، ویتامینی مانند B6 مقدار استروژن را در بدن کنترل می کنند و به کاهش علائم اندومتریوز کمک میکنند. علاوه بر این ویتامین‌های گروه B مخصوصا

---

1. endometrios
2. Niu
3. Ghasemian Langharodi
4. K Agarwal
5. Agostinis.
6. Fox
7. Giuliani
8. Sutterwala
9. Montenegro

B1،B2،B6 از عود مجدد اندومتریوز جلوگیری می کنند (قاسمیان لنگرودی[1] و همکاران،۲۰۲۱). علاوه براین، ویتامین های گروه B، به ویژه پیریدوکسین[2](B6)، هم متابولیسم استروژن را به شکل غیرفعال تقویت می کنند و هم از تبدیل اسید لینولئیک[3] به اسید گاما لینولنیک[4] و تولید پروستاگلاندین های ضد التهاب سری ۱، پشتیبانی می کنند. عملکرد این پروستاگلاندین ها ممکن است از رشد بافت آندومتر جلوگیری کند(دارلینگ[5] وهمکاران،۲۰۱۳). از این رو مصرف ویتامین ها و مکمل های غذایی، نظیر اسید چرب امگا ۳ تولید ایکوزانوئیدهای التهابی، سیتوکین ها و گونه های اکسیژن فعال را کاهش می دهد(سی کالدر[6] و همکاران،۲۰۰۶). همچنین مصرف اسید چرب اشباع نشده امگا-۳ تاثیر مهاری بر روی سنتز پروستوگلاندین دارد و باعث کاهش دیسمنوره در بیماران مبتلا به آندومتریوز می شود(جمیلیان[7] همکاران،۲۰۱۲). از این رو به نظر می رسد که اسیدهای چرب امگا-۳ ممکن است در برابر التهاب در آندومتریوز موثر باشد(خاناکی[8] همکاران،۲۰۱۴). نظر به اهمیت پیامدهای ناشی از اندومتریوز برکاهش کیفیت زندگی، توانایی کار و ارتباطات اجتماعی و نیز اختلال عملکرد جنسی و همچنین اهمیت نقش فعالیت ورزشی و مصرف مکمل ها و ارتباط آن با سلامت جسمی، انجام پژوهش در این زمینه حائز اهمیت می باشد. لذا با توجه به مطالعات محدود کارآزمایی، وجود تناقص و ابهام در نتایج اثر بخشی مداخلات غذایی و ورزشی، تحقیقات محدود در خصوص ارجحیت هر یک از روش های مذکور با مقایسه مناسب و موجود نبودن مطالعه مشابه در این جامعه، به دنبال پاسخ این سوال هستیم که آیا یک دوره تمرین شنای منظم همراه با مصرف اسید چرب امگا ۳ و ویتامین B6 بر بیان ژن ها NF-KB بافت آندومتر در خارج از رحم را در موشهای مدل اندومتریوز اثر دارد؟

روش شناسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی و آزمایشگاهی بود که روی ۴۰ سر رت بالغ ماده نژاد ویستار ۶-۸ هفته ای با مینگین وزن ۱۵/۶۲ ± ۲۰۲/۸۵ گرم بعد از خریداری از انسیتو پاستور به مرکز پژوهش منتقل شدند. نگه داری حیوانات در طول دوره پژوهش بر اساس شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای۲±۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت هوای ۵ ± ۵۵ درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت) انجام شد و همه رت ها با دسترسی آزادانه به غذا و آب در قفس های مخصوص ازجنس پلی کربنات نگهداری شدند. غذای مصرفی حیوانات با توجه به وزن کشی هفتگی به میزان۱۰ گرم به ازای هر۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوان قرار داشت. به منظور جلوگیری از خطر ابتلا به بیماریهای تنفسی، تهویه مطلوب در محیط پژوهش فراهم شد. از آنجا که انتقال حیوانات باعث استرس در آنها و در نتیجه تغییر شرایط فیزیولوژیکی در آنها میشود، جهت حصول حالت

[1] . Ghasemian Langharodi
[2] . pyridoxine
[3] . linoleic acid
[4] . Gamma-Linolenic acid
[5] . Darling
[6] . C Calder
[7] . Jamilian
[8] . Khanaki

سازش با محیط، به مدت دو هفته تحت شرایط جدید نگهداری شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انسیتوی بین المللی سلامت و پروتکل های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شد. مطالعه حاضر با کد(IR.IAU.SARI.REC.1399.120) مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به تصویب رسید.

القای آندومتریوز

رت ها بطور تصادفی، به هشت‌گروه، شامل: گروه کنترل-سالم (۵ سر)، آندومتریوز (۵ سر)، شم (۵ سر)، آندومتریوز+تمرین (۵ سر)، آندومتریوز+ B6(۵ سر)، آندومتریوز+ امگا-۳ (۵ سر)، آندومتریوز+تمرین+B6 (۵ سر)، آندومتریوز+تمرین + امگا-۳ (۵ سر) قرار داده شدند.

به منظور ایجاد بیماری اندومتریوز، ابتدا رت های بالغ با استفاده از کتامین[1] زایلازین[2]بیهوش شدند. پس از آن، ناحیه شکمی در طرف راست با بتادین تمیز شد. سپس با استفاده از تیغ بیستوری برشی به صورت عمودی 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 سی سی محلول بافر فسفات استریل PBS [3]قرار داده شد. با قرار دادن یک تیغه قیچی کوچک در زیر میکروسکوپ لوله رحمی به صورت طولی باز شد و با پانچ بیوپسی استریل در ظرف شیشه ای به قطعات یک در یک میلیمتر بریده شد. قطعات بافتی که برای هر موش ۴ قطعه بود به ناحیه دیواره عضلانی لگنی سمت راست، ناحیه صفاق شکمی، ناحیه عضله قدامی دیواره شکمی و چربی اطراف تخمدان پیوند زده شدند. سپس ناحیه جراحی در صفاق و پوست با بخیه های قابل جذب بسته شد و موش ها به قفس مربوطه انتقال داده شدند (کیانی[4]و همکاران،۲۰۱۸). پس از گذشت دو هفته از پیوند، بافت رحمی پیوند زده شده در مناطق مختلف ناحیه شکمی، منجر به ایجاد توده های برجسته کیست شکلی با ابعاد متفاوت گردید، به این ترتیب مدل اندومتریوز با مشاهده قطعات کیستی مورد تأیید قرار گرفت.

روش مصرف مکمل ویتامین B6 و امگا- ۳

ویتامینB6 دو هفته بعد از القای آندومتریوز به صورت روزانه به شکل گاواژ به میزان ۶۰mg/kg به ازای وزن بدن در رت های گروه آندومتریوز+B6 و آندومتریوز+تمرین+B6 در اختیار رت ها قرار داده شد(مونتنگرو[5] همکاران،۲۰۱۹؛ مانا و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین رت ها امگا-۳ را دو هفته بعد از القائ بیماری به صورت

[1] . Ketamine
[2] . Xylazine
[3] .phosphate buffered saline
[4] .kiani
[5] . Montenegro

روزانه و بـه شـکل گـاواژ با دوز ۲ میلی لیتر در کیلوگرم به ازای وزن بدن هر رت برای رت‌های گروه بیمار+امگا-۳ وبیمار+امگا-۳+ تمرین دریافت کردند.

پروتکل تمرینات ورزشی

قبل از شروع پروتکل اصلی تمامی رت های گروه های تمرینی، به مدت یک هفته (۵ روز) هر بار به مدت مدت۲۰ دقیقه به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، در داخل استخرآب قرار می گرفتند. سپس ۵ روز در هفته تا پایان دوره تحقیق در یک مخزن آب به ابعاد۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی متری با درجه حرارت ۳۰-۳۲ درجه سانتی گراد در طی هشت هفته به شنا پرداختند (مونتنگرو[1] همکاران،۲۰۱۹) و مدت زمان تمـرین اصلی درآب روزانه۳۰ دقیقه تا پایان مدت تمرین بود (راشا[2]،۲۰۱۱).

نمونه گیری و آنالیز بیوشیمیایی

جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونـه بـرداری از حیوانـات ۴۸ ساعت بعد از آخرین برنامه تمرینی شنا و مصرف مکمل انجام گرفت. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (50 mg/kg) و زایلازین 5 (mg/kg) بـی هـوش شدند و پـس از شـکافتن حفره شکمی، بافت مورد نظر به دقت جدا و بلافاصله پس ازشست و شو با سالین فورا به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای۸۰- درجه سانتیگراد تا زمان اندازه گیری بیان ژن NF-KB نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شد.

روش اندازه گیری بیان ژن NF-KB

انجام **Real time-PCR**

برای بررسی بیان ژنNF-KB، در هر گروه بررسی بافت ها با تکنیکPCR Real Time استفاده شـد. بـدین منظـور ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت ها استخراج گردیـد و بـه cDNA تبـدیل گردیـد. سـپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژن های مورد مطالعه به صـورت کمـی استفاده شد. بـرا ی ایـن منظـور ابتـدا بـا استفاده از محلول کیازول RNA کل سـلول هـا طبـق پروتکـل سـیناژن اسـتخراج شـد و جهـت اطمینـان از آلـودگی بـا DNA ژنومیـک، در معـرض DNase I Fermentas قـرار گرفـت. سـپس کیفیـتRNA های سـتخراج شـده بـا دسـتگاه اسـپکترفتومتری (Kiagen, 1-DPI)مورد ارزیابی قرار گرفـت. جهـت تهیه cDNA تک رشـتهای از پرایمـر –MWG Oligodt Germany, Biotech و آنزیم نسخه برداری معکـوس شرکت (فرمنتاز) استفاده و طبق دستورالعمل شـرکت سـازنده انجـام گرفـت. هـر واکـنش PCR بـا اسـتفاده از و PCR master mix Applied Bio systems Applied Bio systems, دسـتگاه در SYBER Green Sequences Detection Systems. Foster City, CA) One Step ABI (طبق پروتکـل شـرکت

[1] . Montenegro
[2] .Rasha

سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Time-Real PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتیگراد برا ی ۲۰ ثانیه، ۶۰ –۵۸ درجه سانتیگراد برای ۳۰ ثانیه و۷۲ درجه سانتیگراد برای۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting جهت بررسی صحت واکنش ها ی PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برا ی هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارز یـ ابی قـ ار گرفت. توالی پرایمرها در جدول یک مشاهده میشود نسبت بیان ژنهای مورد بررسی در ایـ ن مطالعه، با روش مقایسهای چرخه آستانه (:Cycle Thereshold CT)مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قراردادن 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 به ترتیب رقیق شونده از کنترل مثبت هر ژن رسم گردید .

میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

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

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

در فرمول فوق E معرف Efficiency است و با استفاده از رسم منحنی استاندارد برای ژن به دست می آید.

جدول ۱ .توالی پرایمرهای ژن NF-KB

نام ژن	پرایمرها	توالی
NF-KB	**Forward**	**5´-AGAAGAAGTGCAGAGGAAACGT-3´**
	Reverse	**5´-CCACCGCCACTACCAAACAT-3´**

روش های آماری و تجزیه و تحلیل اطلاعات

جهت توصیف کمی دادهها از شاخص ها ی آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت تعیین طبیعی بودن توزیع دادهها از آزمون شاپیروویلک 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 یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی

داری$p\leq ۰/۰۵$ برای برسی تغیرات بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا B استفاده شد. برای انجام کلیه امور آماری از نرم افزار SPSS نسخه۲۳ استفاده شد و برای رسم نمودار از نرم افزار اکسل استفاده گردید.

یافته ها

جدول ۲ ،میانگین وزن رت ها درگروه ها ی مختلف تحقیق را نشان می دهد. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معناداری در وزن رت های گروه های مختلف تحقیق وجود ندارد.

جدول : میانگین وزن در گروه های مختلف تحقیق

گروه	کنترل سالم	کنترل بیمار	بیمار+ورزش	بیمار+ویتامین	بیمار+تمرین+ویتامین
شاخص	میانگین	میانگین	میانگین	میانگین	میانگین
وزن(گرم)	۲۰۵/۸ ± ۵/۱۶	۲۰۲/۵±۱۴/۱۸	۲۱۱/۵±۶/۱۱	۲۱۶/۷±۳/۱۸	۲۱۰/۷±۱۵/۵۰

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار NF-KB در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه	کنترل سالم	اندومتریوز	شم	ویتامین B6 +	امگا۳+	تمرین+	تمرین+ویتامین B6	تمرین+امگا۳+
شاخص				اندومتریوز	اندومتریوز	اندومتریوز	+ اندومتریوز	اندومتریوز
NF-KB	۰/۰۷۴ ±۰/۰۱۷	۰/۳۷۵± ۰/۱۳۷	۰/۳۷۷ ±۰/۱۸۱	۰/۳۱۲ ± ۰/۰۸۴	۰/ ۳۲۱ ± ۰/۰۵۲	۰/۲۰۳ ± ۰/۰۳۹	۰/۱۴۴ ± ۰/۱۶۶	۰/۱۵۷ ±۰/۰۵۸

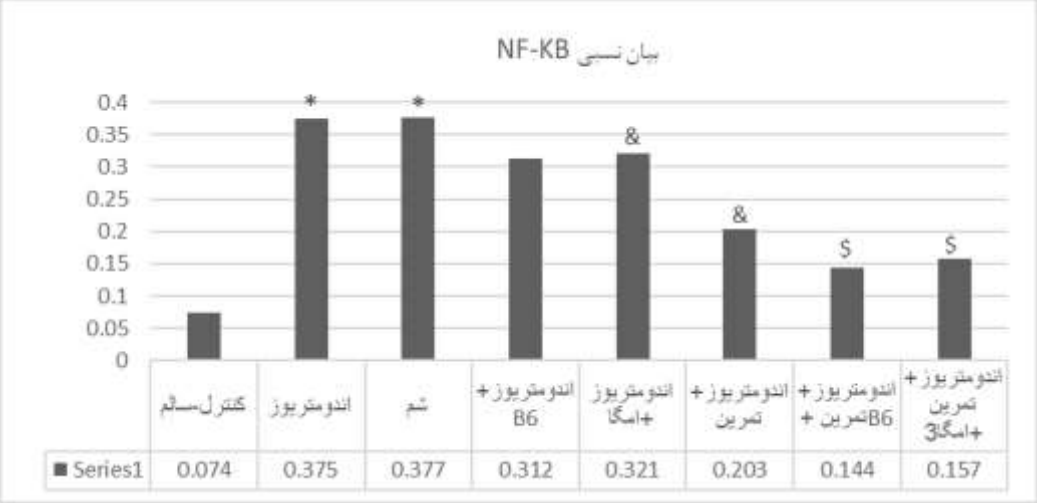
نتایج تحلیل واریانس یک طرفه برسطوح NF-KB گروه های مختلف پژوهش در جدول ۴ ارائه شده است. ارزش F محاسبه شده (۲/۳۷۳) و معنی دار بودن آن در سطح P =۰/۰۴۵ ، بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین سطوح NF-KB در گروه های مختلف پژوهش است.

جدول ۴: نتایج آزمون ANOVA برای بیان ژن NF-KB بین گروه‌های مختلف پژوهش

متغیر/آماره	منبع تغییرات	جمع مربعات	df	میانگین مربعات	F	P
بیان ژن NF-KB	بین گروهی	۰/۵۷۶	۷	۰/۰۸۲	۲/۳۷۳	۰/۰۴۵
	درون گروهی	۱/۱۱۰	۳۲	۰/۰۳۵		
	کل	۱/۶۸۶	۳۹			

نتایج آزمون نشان داد میزان بیان ژن NF-KB در گروه اندومتریوز نسبت به گروه کنترل–سالم افزایش معناداری به لحاظ آماری داشته است (P=۰/۰۱۵). گروه های اندومتریوز+تمرین+B6 و اندومتریوز+تمرین+امگا–۳ نسبت به گروه اندومتریوز کاهش معناداری به لحاظ آماری در میزان بیان ژن NF-KB داشته اند (P=۰/۰۰۶ و P=۰/۰۵۰). گروه اندومتریوز+تمرین+B6 نسبت به گروه های اندومتریوز +تمرین و اندومتریوز +امگا کاهش معناداری (P=۰/۰۲۵ و P=۰/۰۳۲) داشته است.

بر اساس یافته های تحقیق هر مداخله ی هشت هفته تمرین منظم شنا، و ترکیبی از ورزش و ویتامینB6 و امگا۳ منجر به کاهش معنی داری سطوح NF-KB در رت های مدل آندومتریوز شد.



نمودار ۱: میانگین و انحراف معیار NF-KB (بیان ژن نسبی) در گروه‌های مختلف پژوهش

*: تغییرات معنادار نسبت به گروه کنترل سالم. $: تغییرات معنادار نسبت به گروه اندومتریوز. &: تغییرات معنادار نسبت به گروه اندومتریوز+تمرین+ B6.

بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر اثر هشت هفته تمرین شنای منظم به همراه مصرف ویتامین B6 و امگا ۳[1] بر بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B بر بافت آندومتر در موش های مدل آندومتریوز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش نشان داد که با القای مدل آندومتریوز بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B در گروه اندومتریوز نسبت به گروه کنترل–سالم افزایش معناداری داشته است. نتـایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه برخی از محقـقین

[1] .omega-3

کـه در تحقیق خود اظهار داشتند بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B در افراد مبتلا به اندومتریوز افزایش می یابد همسو است(شوکا[1] همکاران، ۲۰۱۹ ؛ باستامی[2] و همکاران،۲۰۲۰).

گزارش شده است که ژن های بسیاری در توسعه و بهبود این بیماری درگیر هستند. فاکتور هسته ای کاپا–B نشان دهنده خانواده ای از عوامل رونویسی القایی است که مجموعه ای از ژن های درگیر در فرآیندهای مختلف پاسخ های ایمنی و التهابی را تنظیم می کند و یک تنظیم کننده ایمنی ذاتی محسوب می شود (آلبنسی[3] ۲۰۱۹). در مطالعه حاضر، شروع قابل توجه سیگنالینگ فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B پس از شروع القای آندومتریوز مشاهده شد همانطور که در افزایش سطح بیان فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B p65 در هسته و فعال شدن سیگنال از طریق فسفوریلاسیون تنظیم کننده اصلی ،IKKα، IKKβ و IKBα مشاهده شد، کینازها در شرایط طبیعی فیزیولوژیکی، در غیاب محرک، فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B در سیتوزول یافت می شود که به پروتئین های مهار کننده (خانواده پروتئین های IkB) متصل هستند. با این حال، به دنبال یک محرک، فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B فعال می شود و فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B p65 به هسته منتقل می شود و در نتیجه بیان ژن های هدف پایین دست که پروتئین های مسیرهای التهابی را کد می کنند، بیان می شود. مهار آبشارهای التهابی از طریق تنظیم سیگنالینگ فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B در درمان آندومتریوز بسیار مهم است. با این حال ، عوامل قابل اصـلاحی ماننـد تغذیـه و فعالیـت بدنی وجود دارند که به پیشگیری و درمـان از طریـق تنظیم و تعدیل این بیمـاری کمـک مـی‌کنند. تحقیقات نشان دادند که رژیم غذایی سرشار از آنتی اکسیدان ها در پیشگیری از رشد و متاستاز آندومتریوز نقش دارند. اثر اسیدچرب امگا –۳ بر ضایعات مشابه آندومتریوز به عنوان یک هدف درمانی ضد التهابی بالقوه ارزیابی می شود. فعالیت ورزشی یک استراتژی ثابت برای کنترل بیماری های التهابی است (سید حسینی[4] همکاران ، ۲۰۱۸). ویدر[5] همکاران (۲۰۰۴)، در پژوهشی دریافتند که فعالیت ورزشی شدید باعث افزایش فعالیت سیکنالینگ فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B می شود. از طرف دیگر ، به نظر می رسد فعالیت بدنی با شدت متوسط و منظم دارای اثر محافظتی در برابر بیماریهای التهابی میباشد (مونتنگرو[6] و همکاران ،۲۰۱۹). از نتایج مهم تحقیق حاضر کاهش سطح معنا داری بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا–B در رت های گروه اندومتریوز که فعالیت ورزشی انجام داده بودند نسبت به گروه رت های بیمار مدل آندومتریوز بود. تمرینات ورزشی متوسط باعث کاهش فعال شدن فاکتور رونویسی هسته ای

[1] . Shukla
[2] . Bustami
[3] . Albensi
[4] . Seyed, Hoseini
[5] . Vider
[6]. Montenegro

کاپا-B و سرکوب بیان ژن های التهابی می شود. به همین دلیل، تمرینات ورزشی با شدت متوسط انجام شد تا از فعال شدن بیش از حد سیگنالینگ فاکتور رونویسی هسته ای کاپا-B جلوگیری شده باشد.

مونتنکرو[1] و همکاران(۲۰۱۹)، در مطالعه خود گزارش کردند که بعد از القاء آندومتریوز ،ورزش سبک (یک بار در هفته شنا)، ورزش متوسط (۳ بار در هفته شنا) و ورزش شدید (۵ بار در هفته شنا) منجر به کاهش در اندازه ضایعات آندومتریوتیک میگردد و البته در گروه هایی که فعالیت متوسط و پایین تری داشتند، کاهش بیشتری مشاهده شد(مونتنگرو و همکاران،۲۰۱۹). تحقیقی دیگر هانسن[2] همکاران (۲۰۲۱) در بررسی سیستماتیک در مورد زنان در سن باروری، با تشخیص آندومتریوز از طریق لاپاراسکوپی و مداخله در هر نوع ورزش بود. بررسی حاضر هیچ تأثیر مفیدی از ورزش را بر درد در زنان مبتلا به آندومتریوز را نشان نداد (هانسن و همکاران،۲۰۲۱). همچنین آدریانا[3] همکاران در مطالعه خود اظهار داشتند که از جمله روشهای درمانی در زنان مبتلا به آندومتریوز، درمان دارویی و جراحی و فعالیت ورزشی هوازی و مصرف آنتی اکسیدانها می باشد(آدرینا و همکاران ،۲۰۱۹). بااین حال، عوامل قابل اصلاحی مانند تغذیه و فعالیت بدنی وجود دارند که به پیشگیری و درمان از طریق تنظیم و تعدیل این بیماری کمک می کنند(روبل[4] همکاران،۲۰۱۶؛ باکر[5] همکاران،۲۰۱۳).

در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد در مدل آندومتریوز که همراه با تمرین شنا با شدت متوسط به همراه مصرف مکمل ویتامین B6 منجر به کاهش بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا-B نسبت به گروه بیمار شد و گروه ترکیبی B6 نسبت به گروه های اندومتریوز +تمرین و اندومتریوز +امگا۳ کاهش معناداری در بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا-B داشته است. این نتایج نقش محافظتی ویتامین B6 در التهاب بیش از حد را نشان می دهد(دیو[6] و همکاران،۲۰۲۰). مکمل ویتامین B6 با سرکوب مسیرهای سیگنالینگ فاکتور هسته ای کاپا-B و پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن، بیان سیتوکین های پیش التهابی را کاهش می دهد چون ویتامین B6 خاصیت آنتی اکسیدانی دارد، بعد از تمرینات ورزشی باعث بازسازی سریع سلول‌های تخریب شده از ورزش می‌شود و باعث می‌شود که بدن بتواند مواد مغذی حل شده در چربی را جذب کند و باعث گشادی رگ ها شده منجر به روان کردن جریان خون گردد (قاسمی لنگرودی[7] و همکاران،۲۰۲۱).

---

[1] . Montenegro
[2] . Hansen
[3] . Adrianna
[4] . Rubel
[5] . Bakker
[6] . Du
[7] . Ghasemian Langharodi

نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که در گروه های مبتلا به آندومتریوز که از مکمل اسیدچرب امگا -۳ استفاده کرده بودند و هم در گروه بیمار که همزمان از امگا۳ و تمرین بهره بردند منجر به کاهش بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا-B نسبت به گروه مدل آندومتریوز شد. اثر اسیدچرب امگا -۳ بر ضایعات مشابه آندومتریوز به عنوان یک هدف درمانی ضد التهابی بالقوه ارزیابی می شود. سطوح سیستمیک اسیدچرب امگا-۳ بر فاکتورهای ایمنی، رگ زایی و تکثیری دخیل در ایجاد اولیه اندومتریوز تأثیر می گذارد و اندازه ضایعه و تولید پروستاگلاندین و سیتوکین موضعی را کاهش می دهد(سیا[1]و همکاران،۲۰۲۱ ؛ سی کالدر[2]و همکاران،۲۰۰۶). از مزایای مصرف مکمل امگا۳ و فعالیت بدنی میتوان به نقش آنها به عنوان کوفاکتور در فرآیندهای بهبودی اشاره کرد. اسیدهای چرب امگا -۳ ، با مهار سیکلواکسیژناز-۲، به طور بالقوه از طریق القای آپوپتوز یا کاهش رگ زایی تومور، رشد سلول را سرکوب می کند و منجر به پسروی تومورهای موجود می شود ، همچنین از تخریب و انتقال بعدی کمپلکس فاکتور رونویسی هسته ای کاپا-B به هسته که در آن باعث رونویسی سیتوکین ها می شود ، جلوگیری می کنند (گامون[3]و همکاران،۲۰۱۹). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که در گروه های مبتلا به آندومتریوز که از مکمل اسیدچرب امگا -۳ استفاده کرده بودند و هم در گروه بیمار که همزمان از امگا۳ و تمرین بهره بردند منجر به کاهش بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا-B نسبت به گروه مدل آندومتریوز شد.

به طور خلاصه نتایج پژوهش حاضر نشان داد هشت هفته تمرین شنا با شدت پایین به همراه مصرف مکمل ویتامین B6 و اسیدچرب امگا ۳ موجب کاهش معنادار در بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا-B در رت های مدل آندومتریوز شد بر این اساس به نظر می رسد مصرف مکمل ویتامین B6 و امگا ۳ می تواند در کاهش بیان ژن فاکتور رونویسی هسته ای کاپا-B و کاهش عوارض بیماری آندومتریوز موثر باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته ازرساله دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان تشکرخـود را ازتمامی کسانی که درپیشبرد اهداف رساله یـاری نموده اند، اعلام می‌دارند.

[1] . Cai
[2] . C Calder
[3] . Gammone

References

Adrianna, K., Olga, P., Maciej, P., Michał, K., Ewa, P. (2019). Available treatment methods for endometriosis. J Educ Health Sport, 9(7),178-184.

Agostinis, C., Balduit, A., Mangogna, A., Zito ,G., Romano, F., Ricci, G., Kishore U. , Bulla, R.(2021). Immunological Basis of the Endometriosis: The Complement System as a Potential Therapeutic Target. Fronts in Immunol;11:599117,1-16. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.599117.

Albensi, B, C. (2019). What Is Nuclear Factor Kappa B (NF-κB) Doing in and to the Mitochondrion?. REVIEW. Front. Cell Dev, Biol, 7(154), 1-7.doi: 10.3389/fcell.2019.00154

Bakker, S.T., Passegue, E. (2013). Resilient and resourceful: genome maintenance strategies in hematopoietic stem cells. Exp Hematol,41(11),915-23. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2013.09.007

Bustami, A., Lestari, WP., Hayuningrum, CF., Puspita Eka Wuyung, P.E., Heri Wibowo ,H., Natadisastra, R.M.(2020). he Anti-Inflammatory Effect of Octyl Gallate Through Inhibition of Nuclear Factor-κB (NF-κB) Pathway in Rat Endometriosis Model.J Reprod Infertil, 21(3),169–175.

C. Calder, P. (2006). n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases.JA Clinical Nutrition, 83(6),1505 -1519. https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1505S.

Cai, M., Ni, W.J., Han, L., Chen, WD., Peng, D.Y. (2021). Research Progress of Therapeutic Enzymes and Their Derivatives: Based on Herbal Medicinal Products in Rheumatoid Arthritis,12(626342), 1-12, doi: 10.3389/fphar.2021.626342.

Darling, A.M., E. Chavarro, J., Malspeis, S., R. Harris, H., Missmer, S. (2013). A prospective cohort study of Vitamins B, C, E, and multivitamin intake and endometriosis. J Endometr,5(1), 17–26. doi: 10.5301/je.5000151.

Du, X., Yang, Y., Zhan, X., Huang, Y., Fu, Y., et al. (2020). Vitamin B6 prevents excessive inflammation by reducing accumulation of sphingosine-1-phosphate in a sphingosine-1-phosphate lyase–dependent manner,24(22), 13129-13138. DOI: 10.1111/jcmm.15917.

Fox, C., Morin, S., Jeong, J.W, Scott, R.T., Lessey, B.A. (2016). Local and systemic factors and implantation: what is the evidence? Fertil Steril; 105:873–84. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.018.

Gammone, MA., Riccioni, G., Parrinello, G., D,'Orazio, N. (2019). Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: Benefits and Endpoints in Sport, 11(1), 46: 1-16. https://doi.org/10.3390/nu11010046.

Ghasemian Langharodi ,S., Farzanegi, P., Moradi, L.(2019). The Effect of Swimming Training and Vitamin B6 Intake on GATA2 Gene Expression in Endometriosis Rat. Journal of Ardabil University of Medical Sciences,19(3), 354-365.

Ghasemian Langharodi, S., Farzanegi ,P., Moradi, L.(2021). The Effect of Swimming Training and Vitamin B6 Intake on ALDH1A2 gene Expression in Endometriosis Rat.Razi Jornal of Medical Sciences,28(3),152-162.

Giuliani, C., Bucci, I., Napolitano, G. (2018). The Role of the Transcription Factor Nuclear Factor-kappa B in Thyroid Autoimmunity and Cancer,9(471),1-8. https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00471.

Hansen, S. Á., Sverrisdóttir, U., Rudnicki, M. (2021). Impact of exercise on pain perception in women with endometriosis: A systematic review,100(9). https://doi.org/10.1111/aogs.14169.

Jamilian, MM., Jamilian, H.R. (2012). The effects of omega-3 and vitamin E on the treatment of primary dysmenorrheal: A randomized double-blind clinical trial. J Arak Medical University,15(62), 1-7.

K. Agarwal, S., S Singh, S., F. Archer, D., Mai, Y., Chwalisz, K., Gordon, K., Surrey., E. (2021). Endometriosis-Related Pain Reduction During Bleeding and Nonbleeding Days in Women Treated with Elagolix. J Pain Res,14, 263–271. doi: 10.2147/JPR.S284703.

Khanaki ,K., Sadeghi, M.R., Akhondi ,M.M., et al.(2014). High ω-3: ω-6 fatty acids ratio increases fatty acid binding protein 4 and extracellular secretory phospholipase A2IIa in human ectopic endometrial cells.J Reprod Med, 12(11), 755-764.

Kiani, K., Movahedin, M., Malekafzali, H., Mirfasihi, F., Nargess Sadati, S.N., Moini, A., et al. (2018). Effect of the estrus cycle stage on the establishment of murine endometriosis lesions. Int J Reprod Biomed (Yazd),16(5), 305–314.

Montenegro, M.L., M. Bonocher, C., Meola, J., L. Portella ,R., Ribeiro-Silva ,A., O. Brunaldi, M., M Ferriani, R.A., Rosa-e-Silva ,J.C.(2019). Effect of Physical Exercise on Endometriosis Experimentally Induced in Rats. Sec. Exercise Physiology,26, 785–793. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00636

Niu, X., Luo, Q., Wang, C., Zhu, L., Huang, L. (2021). Effects of Etonogestrel implants on pelvic pain and menstrual flow in women suffering from adenomyosis or endometriosis. Medicine (Baltimore); 100(6): e24597. doi: 10.1097/MD.0000000000024597

Rasha H, M. (2011). The Impact of Vitamin B 6 Supplementation on Experimental Colitis and Colonic Mucosal DNA Content in Female Rats Fed High Sucrose Diet. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(5), 1051-1060.

Rubel, C.A, Wu, S.P., Lin, L., Wang, T., Lanz, R.B., Li, X, et al.(2016). A Gata2-Dependent Transcription Network Regulates Uterine Progesterone Responsiveness and Endometrial Function. Cell Rep ,17(5),1414-1425. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.09.093.

Seyed, Hoseini, M.A., Eizadi, M., Amini, A., Mirakhori, Z. (2018). Acute and recovery changes of TNF-α and IL-1β in response to aerobic exercise in smokers and non-smokers. Int J Basic Sci Med. ,3(3),109 – 113.

Shahidian Akbar, F., Farzanegi, P., Abbaszadeh, H. (2020). Evaluation of ESR and IGFBP1 genes of ovarian tissue of endometriosis model mice after a period of regular exercise and vitamin E intake. Razi J Med Sci;27(3):38-48.

Shukla,V., Kaushal,J.V.,Sankhwar,P.,Manohar,M.,Dwivedi,A.(2019). Inhibition of TPPP3 attenuates β-catenin/NF-κB/COX-2 signaling in endometrial stromal cells and impairs decidualization. Journal of Endocrinology,240(3), 417–429. https://doi.org/10.1530/JOE-18-0459.

Sutterwala, F.S., Haasken, S., Cassel, S.L. (2014). Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. Ann N Y Acad Sci, 1319(1), 82 –95. https://doi.org/10.1111/nyas.12458.

Vider, J, E., Laaksonen, D., Kilk, A., Atalay, M., Lehtmaa, J., Zilmer, M, K., Sen, C. (2004) Physical Exercise Induces Activation of NF-κB in Human Peripheral Blood Lymphocytes. 3(6), https://doi.org/10.1089/152308601317203639