



## Evaluation of BECLINE-1 and LC3 gene expression in endometriosis rats following regular aerobic exercise and omega-3 intake

### Abstract

### Article Info

**Introduction:** Endometriosis is a systemic endocrine, immunological and gastrointestinal disease. Various cellular pathways are involved in the pathogenesis of endometriosis. One of these pathways is autophagy. The aim of this study was to evaluate the expression of BECLINE-1 and LC3 genes in endometriosis mice following regular aerobic exercise and omega-3 intake.

**Methods:** In this experimental study, 35 adult male Wistar rats were randomly divided into healthy control groups, endometriosis, endometriosis+exercise, endometriosis+omega 3, endometriosis+omega3+exercise after creating an endometriosis model. The duration of training in water was 30 minutes daily until the end of the training period. At the same time, the mice received omega-3 supplementation daily in the form of gavage at a dose of 2 ml / kg. One-way analysis of variance was applied to analyze the data.

**Results:** The results showed that the expression of BECLINE-1 and LC3 gene in the endometriosis group have a statistically significant increase compared to the healthy control group. All three groups of endometriosis+exercise, endometriosis+omega and endometriosis+exercise+omega had a statistically significant decrease as compared to the endometriosis group. The endometriosis+exercise+omega group showed decrease more than the other groups.

**Conclusion:** In general, the results of the present study indicate that the increased expression of autophagic genes produced in endometriosis can be inhibited by regular aerobic exercise such as swimming and also omega-3 supplementation. Pathological disorders in autophagy with exercise and also omega-3 supplementation may help recovery endometriosis by regulating the expression of LC3 and Beclin-1 genes.

**Keywords:** Autophagy, Endometriosis, Aerobic exercise, Omega 3

### Authors:

Zahra Rezaeei<sup>1</sup>

Parvin Farzanegi<sup>\*2</sup>

Hajar Abbaszadeh<sup>3</sup>

### Affiliations

1 . Ph.D Candidate, Exercise Physiology Department, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

ORCID: 0000-0001-8049-1740 , Email: zzahra.rezaeei1371@gmail.com.

2 .A2Associate Professor, Exercise Physiology Department, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

ORCID: 0000-0003-2128-3068, Email:parvin.farzanegi@gmail.com

3 .Associate Professor, Exercise Physiology Department, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

ORCID: 0000-0002-5159-5310, Email:h.abaszade61@gmail.com



## در موش های مدل اندومتريوز LC3 و BECLINE-1 بررسی میزان بیان ژن متعاقب تمرینات هوازی منظم و مصرف امگا ۳

### چکیده

### اطلاعات مقاله

زهرا رضایی<sup>۱</sup>  
پروین فرزانه‌گی<sup>۲\*</sup>  
هاجر عباس زاده<sup>۳</sup>

**مقدمه:** اندومتريوز یک بیماری سیستمیک اندوکراین، ایمونولوژیک و گوارشی است. در پاتوژنز بیماری اندومتريوز مسیرهای سلولی مختلفی درگیر هستند. یکی از این مسیرها اتوفاژی می باشد. هدف پژوهش حاضر بررسی میزان بیان ژن BECLINE-1 و LC3 در موش های مدل اندومتريوز متعاقب تمرینات هوازی منظم و مصرف امگا ۳ بود.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار پس از ایجاد مدل اندومتريوز به صورت تصادفی به گروه های کنترل-سالم، اندومتريوز، اندومتريوز+تمرین، اندومتريوز+امگا ۳، اندومتريوز+امگا ۳+تمرین دسته بندی شدند. مدت زمان تمرین در آب، روزانه ۳۰ دقیقه تا پایان مدت تمرین بود. همزمان موش ها مکمل امگا ۳ را به صورت روزانه و به شکل گاوآذ با دوز ۲ میلی لیتر در کیلوگرم دریافت می کردند. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید.

**یافته ها:** نتایج نشان داد بیان ژن BECLINE-1 and LC3 در گروه اندومتريوز نسبت به گروه کنترل- سالم افزایش معناداری به لحاظ آماری داشته است. هر سه گروه اندومتريوز+تمرین، اندومتريوز+امگا و اندومتريوز+تمرین+امگا نسبت به گروه اندومتريوز کاهش معناداری به لحاظ آماری داشته اند.

**نتیجه گیری:** به طور کلی نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که افزایش بیان ژن های اتوفاژی که در اندومتريوز ایجاد شده، می تواند با فعالیت ورزشی منظم هوازی مانند شنا و مکمل امگا ۳ مهار شود. احتمالاً اختلال پاتولوژیک ایجاد شده در اتوفاژی با انجام فعالیت ورزشی و مکمل امگا ۳ از طریق کاهش تنظیمی بیان ژن های LC3 و Beclin-1 در بهبود اندومتريوز کمک کننده خواهد بود.

**واژه های کلیدی:** اتوفاژی، اندومتريوز، تمرینات هوازی، امگا ۳

### وابستگی سازمانی نویسندگان

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

## مقدمه

اندومتریوز یک بیماری مزمن و یک علت شایع درد مزمن لگنی است که در ۱۵-۵ درصد زنان در سنین باروری رخ می‌دهد (۱). با یک نگاه وسیع‌تر، اندومتریوز یک بیماری سیستمیک اندوکراین، ایمونولوژیک و گوارشی است (۲). شایع‌ترین محل های اندومتریوز در لگن می‌باشند و به ترتیب شامل تخمدان‌ها، بن‌بست دوگلاس، لیگامن های رحمی، پریتون لگنی و دیواره رکتوواژینال (بافت بین رکتوم و واژن) می‌باشد (۳). از علت ایجاد اندومتریوز می‌توان به ناباروری، سابقه خانوادگی اندومتریوز، انسداد راه خروج طبیعی قاعدگی از بدن، سابقه عفونت لگنی و اختلال رحمی اشاره کرد (۲). براساس تحقیقات انجام شده علاوه بر عوامل محیطی، عوامل ارثی هم در ابتلا در این بیماری نقش مهمی دارد (۲، ۳). در پاتوژنز بیماری اندومتریوز مسیرهای سلولی مختلفی درگیر هستند. یکی از این مسیرها اتوفازای می‌باشد. اتوفازای یک فرایند برنامه‌ریزی شده از نظر ژنتیکی و تکاملی حفاظت شده است که پروتئین‌های سلولی با عمر طولانی و ارگانلها را تخریب می‌کند. در واقع اتوفازای شامل تشکیل وزیکول دو غشایی است که سیتوپلاسم و ارگانلها را احاطه می‌کند و سپس با لیزوزومها ادغام می‌شود، بنابراین محتوای لیزوزوم را تخریب می‌کند (۴). اتوفازای پاسخی به فرایند آنابولیکی ساختن ماکرومولکولهاست و به‌منظور حفظ هموستاز انرژی، تامین کننده انرژی است (۵). دانشمندان با ارایه شواهد ثابت کرده‌اند که بین انواع مختلف مرگ سلولی، ارتباطی درونی وجود دارد (۶). مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و نکروز به موازات یکدیگر عمل کرده و اتوفازای را هم درگیر میکنند. شرایط و عوامل درونی می‌توانند تعادل بین مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و نکروز را تعیین کنند. در حالت ناتوانی برای سازگار شدن با شرایط گرسنگی، مسیر اتوفازای به سمت مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یا نکروز می‌رود (۶، ۷). حدود ۳۰ ژن ویژه، اتوفازای را تنظیم می‌کنند که از بین این ژن‌ها، LC3 (پروتئین زنجیره سبک ۳ مرتبط با میکروتوبول) نقش مهمی در اتوفازای پستانداران ایفا می‌کند و معمولا به عنوان نشانگر تشکیل اتوفاگوزوم مورد استفاده قرار می‌گیرد که تعداد اتوفاگوزومهای مشاهده شده در بافت به نوبه خود می‌توانند به عنوان مقیاس فعالیت اتوفازایک در نظر گرفته شود (۸). همچنین پروتئین Beclin-1 جزئی از کمپلکس فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کلاس III (PIK3C3) است که نقش اساسی در هسته‌گذاری و تشکیل اتوفاگوزوم بر عهده دارد و همچنین به‌نظر می‌رسد در نروژنز و مرگ سلولی نیز دخالت داشته باشد (۹). مشخص شده است که تمرین ورزشی می‌تواند اتوفازای و ترویج تخریب پروتئین‌های آسیب‌دیده را بهبود دهد (۱۰).

مختلفی در مورد تأثیر فعالیت ورزشی بر اتوفازای انجام شده است، جوکار و همکاران نشان دادند که هشت هفته تمرین ورزشی منجر به کاهش محتوای پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 بافت قلب و مهار اتوفازای در موش‌های مبتلا به دیابت می‌شود (۱۱). همچنین، آقاعلینژاد و همکاران اثر تمرینات ورزشی در مقابله با رشد تومور از طریق تغییر در بیان ژن‌های LC3 و Bcl-2 در موش‌های مبتلا به سرطان را نشان داده‌اند (۱۲). مطالعات نشان داده است که انجام فعالیت‌های ورزشی می‌توانند حداقل در مورد درمان اندومتریوز، سودمند باشد (۱۳). با این حال سازوکارهای مکانیسم سلولی و مولکولی هنوز به خوبی شناخته نشده است. نشان داده شده که علاوه بر تمرین ورزشی عوامل دیگری مانند اسیدهای چرب چندگانه غیر اشباع امگا ۳ (O-PuFA) دارای پتانسیل کاهش نشانه های دردناک مربوط به اندومتریوز، کاهش اندازه ضایعه، حفظ توانایی بارداری در بیمار و بروز حداقل اثرات جانبی، می‌باشد (۱۴). مصرف غذاهایی با محتوای بالای اسیدهای چرب امگا ۳ دارای تأثیر ضد التهابی در عارضه‌هایی مانند آترواسکلروزیس می‌باشد. مهم این است که نشان داده اند که اسید چرب امگا ۳ ها می‌توانند به عنوان پیش ساز طیف گسترده‌ای از واسطه‌های دخیل در رفع التهاب عمل کنند (۹). محققان پیشنهاد کرده اند که انجام فعالیت‌های ورزشی و نیز افزایش مصرف اسیدهای چرب امگا ۳ می‌تواند موجب کاهش احتمال خطر اندومتریوز شود (۱۱). کمبود تحرک و مکمل امگا ۳ منجر به ایجاد زمینه‌های مختلفی در توسعه بیماری‌های التهابی می‌شوند (۱۴). آزمایش‌های متعددی برای مشاهده تأثیرات گسترده فعالیت بدنی و مصرف مکمل امگا ۳ بر مشکلات بهداشتی انسان مانند پیشگیری و بهبود بیماری‌های التهابی انجام شده است (۱۱، ۱۰، ۸). از مزایای مصرف مکمل امگا ۳ به همراه انجام فعالیت بدنی، می‌توان به نقش آن به عنوان کوفاکتور اشاره کرد (۱۱). لذا، با توجه به بررسی‌های انجام شده، تأثیر فعالیت بدنی و مصرف اسید چرب غیر اشباع به ویژه امگا-۳ بر میزان بیان ژن Beclin-1 و LC3 در موش های مدل اندومتریوز بررسی نشده، بنابراین در این تحقیق به بررسی میزان بیان ژن Beclin-1 و LC3 در موش های مدل اندومتریوز متعاقب تمرینات هوازی منظم و مصرف امگا ۳ پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بود. نمونه آماری مورد مطالعه این پژوهش شامل ۳۵ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با سن حدود ۸ هفته ای بودند. موش ها پس از انتقال به محیط

دریافت می‌کردند (۱۷). نمونه‌گیری بافتی موش‌ها جهت حذف اثر حاد تمرین، پس از ۴۸ ساعت بعد از آخرین برنامه تمرینی شنا انجام گرفت. برای این منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین ( $30 \text{ mg/kg} - 50$ ) و زایلازین ( $\text{mg/kg}$ ) (۳-۵) بیهوش و سپس فدا شدند و پس از آن، جهت بررسی و مطالعات ژنی بافت‌های پیوند شده مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین منظور نمونه‌های بافتی با فرمالین ۱۰ درصد به تانک ازت منتقل شدند. برای بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه تحقیق در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک PCR Real Time استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های BECLINE-1 و LC3 مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل یافته‌های این پژوهش از آزمون‌های شاپیروویک، آنالیز واریانس یک طرفه و توکی برای مقایسه بین گروه‌های مختلف استفاده شد. کلیه محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS با ورژن ۲۳ و در سطح معنی داری  $P < 0.05$  انجام شد.

#### یافته‌ها

نتایج آزمون‌ها نشان داد که بین گروه‌های مختلف پژوهش در سطوح بیان ژن Beclin-1 و LC3 تفاوت معناداری به لحاظ آماری وجود دارد ( $p\text{-value} \leq 0.0001$ ). نتایج آزمون تعقیبی نیز نشان داد میزان بیان ژن BECLINE-1 and LC3 در گروه اندومتريوز نسبت به گروه کنترل-سالم افزایش معناداری به لحاظ آماری داشته است ( $p\text{-value} \leq 0.0001$ ). هر سه گروه اندومتريوز+تمرین، اندومتريوز+امگا و اندومتريوز+تمرین+امگا نسبت به گروه اندومتريوز کاهش معناداری به لحاظ آماری در میزان بیان ژن BECLINE-1 and LC3 داشته اند ( $p\text{-value} \leq 0.0001$ ). گروه اندومتريوز+تمرین+امگا نسبت به گروه‌های دیگر کاهش بیشتری داشته است (جدول ۱).

#### بحث

نتایج پژوهش نشان داد که با القای مدل اندومتريوز بیان ژن‌های LC3 و Beclin-1 در موشها نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت. از طرفی با اجرای روش‌های درمانی تمرین و امگا بیان ژن‌های ذکر شده در موش‌ها نسبت به گروه اندومتريوز کاهش معینار نشان داد که این کاهش در گروه ترکیبی تمرین+امگا بیشتر بود. تحقیقات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌توانند یک عامل کلیدی در تنظیم پروتئین‌های درگیر در مسیر اتوفازای باشند و تنظیم

آزمایشگاه به طور تصادفی به گروه‌های پنج گانه کنترل-سالم (۷سر)، اندومتريوز (۷سر)، اندومتريوز+تمرین (۷سر)، اندومتريوز+امگا (۷سر)، اندومتريوز+تمرین+امگا (۷سر) تقسیم شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شده است. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. از آنجا که انتقال و جابجایی موش‌ها باعث ایجاد استرس در آن‌ها می‌گردد، آن‌ها به منظور سازگاری با محیط به مدت یک هفته پس از انتقال در آن محیط نگهداری شدند و برای آشنایی با آب به تمرینات کوتاه مدت شنا به مدت یک هفته پرداختند. در طی یک هفته آشنایی آزمودنی‌ها ۵ جلسه تمرین انجام می‌دادند که هر دفعه به مدت ۲۰ دقیقه جهت آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی به تمرین می‌پرداختند. آزمودنی‌ها پس از هر بار تمرین شنا پس از خشک کردن کامل با استفاده از حوله و خشک کن مخصوص به داخل قفس‌ها بازگردانده می‌شدند. برای ایجاد مدل اندومتريوز، ابتدا رتهای بالغ با استفاده از کتامین و زایلازین 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. بعد از شکافتن 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 (phosphate buffer solution) PS قرار داده شد. سپس هر بافت به یک قطعه یک در یک در یک 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. سپس ناحیه جراحی شده بخیه شدند و موشها به قفس مربوطه انتقال داده شدند (۱۵). موش‌های گروه اندومتريوز+تمرین و اندومتريوز+تمرین+امگا ۳ قبل از شروع پروتکل اصلی، به مدت یک هفته (۵ روز) هر دفعه به مدت ۲۰ دقیقه به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، در داخل استخر آب قرار می‌گرفتند. سپس ۵ روز در هفته تا پایان دوره تحقیق در یک مخزن آب به ابعاد  $50 \times 50 \times 100$  سانتیمتری با درجه حرارت ۳۰-۳۲ درجه سانتیگراد در طی ۸ هفته به شنا می‌پرداختند. مدت زمان تمرین در آب، روزانه ۳۰ دقیقه تا پایان مدت تمرین بود (۱۳، ۱۶). همزمان موش‌ها مکمل امگا ۳ را به صورت روزانه و به شکل گاوآذ با دوز ۲ میلی لیتر در کیلوگرم (یعنی ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)

جدول ۱: شاخص‌های مرکزی و پراکندگی سطوح بیان ژن Beclin و LC3 در گروه‌های مختلف پژوهش

گروه	کنترل-سالم	اندومتریوز	اندومتریوز+تمرین	اندومتریوز+امگا	اندومتریوز+تمرین+امگا
میانگین $\pm$ انحراف معیار (Beclin-1)	۰.۰۰۲۷ $\pm$ ۰.۰۰۰۹	۰.۰۱۸۳ $\pm$ ۰.۰۰۶۱	۰.۰۰۸۳ $\pm$ ۰.۰۰۱۳	۰.۰۰۷۴ $\pm$ ۰.۰۰۱۲	۰.۰۰۵۷ $\pm$ ۰.۰۰۱۲
میانگین $\pm$ انحراف معیار (LC3)	۰.۰۰۰۰۲۳ $\pm$ ۰.۰۰۰۰۷۵	۰.۰۰۰۰۱۷ $\pm$ ۰.۰۰۰۰۴۸۷	۰.۰۰۰۰۱۳ $\pm$ ۰.۰۰۰۰۲۸۴	۰.۰۰۰۰۱۴۵ $\pm$ ۰.۰۰۰۰۲۲۳	۰.۰۰۰۰۱۷ $\pm$ ۰.۰۰۰۰۱۰۲
		*	#	#	\$

\*: تغییرات معنادار نسبت به گروه کنترل-سالم، \$: تغییرات معنادار نسبت به گروه اندومتریوز، # تغییرات معنادار نسبت به گروه اندومتریوز+تمرین+امگا.

مولکول‌های تنظیمی مهمی نقش ایفا می‌کنند. ژن بکلین 1 (Beclin-1) دارای نقش مهمی در مسیرهای مرگ سلولی است. اتوفژی تحت شرایط استرس مانند گرسنگی، ایسکمی/ خون رسانی مجدد و عفونت پاتوژن فعال می‌شود و در شرایط پاتولوژیکی مختلف شامل سرطان و بیماریهای دژنراسیون مغزی ایجاد می‌شود. معمولاً پذیرفته می‌شود که ROS، اتوفژی را القا می‌کند. اتوفژی برای کاهش آسیب اکسیداتیو عمل می‌کند (۲۲). مطالعات زیادی، درگیری این مسیر، یا اختلال در این مسیر را در بیماری‌های مختلف گزارش داده‌اند. با عنوان مثال؛ تغییر در سطح پروتئین Beclin-1 قلب در بسیاری از شرایط بیماری مشاهده شده است. این پروتئین نقش احتمالی تنظیم اولیه در توسعه اتوفژی را نشان می‌دهد. Beclin-1 یک مولکول کلیدی در کنترل فعالیت اتوفژی است؛ فعالیت آن توسط سازوکارهای متعددی از جمله اصلاح پس از ترجمه، تعامل پروتئین با پروتئین و محل‌سازی درون سلولی تنظیم می‌شود. باین حال، Beclin-1 با تنظیم اتوفژی و آپوپتوز نقش مهمی را به‌عنوان "چهارراه مرگ سلولی" ایفا می‌کند (۲۳). اتوفژی دارای عملکردی دوگانه است، از یک طرف باعث افزایش مدت و میزان بقای سلول و از طرف دیگر در مراحل پیشرفته باعث مرگ سلول می‌شود. به‌طور کلی تاکنون در خصوص نقش اتوفژی در فرآیند مرگ سلولی توافقی حاصل نشده است و ناهمگونی در نتایج بسیاری از مطالعه‌ها، بحث برانگیز بوده است. مانتسو و شرز شوال نشان دادند که استرس‌های اکسیداتیو، فقر غذایی، میتوکندری با عملکرد ناقص و هم چنین استرس‌های رتیکولوم، اندوپلاستیک، می‌توانند باعث القای اتوفژی شوند (۲۴).

مطالعات نشان می‌دهد که تمرین هوازی با شدت پایین

اتوفژی توسط تمرینات ورزشی می‌توانند فرایندی کلیدی در سازوکارهای سلولی و مولکولی باشد (۱۱، ۱۲). برنندت و همکاران افزایش محتوای پروتئین Beclin-1 موش‌های سالم را نشان داده‌اند (۱۸). اگر اتوفژی تنظیم شود، می‌تواند از طریق تخریب پروتئین‌های دنا تورهشده و تولید اسیدهای آمینه در سلولها زمینه اصلی رشد و بقای سلول را فراهم می‌کند (۱۱). اتوفژی یک فرایند ضروری برای عملکرد طبیعی بافتها می‌باشد، بنابراین، تنظیم فرایند اتوفژی از طریق فعالیت‌های ورزشی می‌تواند یک روش درمانی مفید در شرایط پاتولوژیک باشد (۱۹). مسیر اصلی پروتئین‌های درگیر در فرایند اتوفژی توسط سازوکارهای تنظیمی پیچیده‌ای تنظیم می‌شود که می‌توان به سیگنالهای ورودی گوناگون از جمله مواد مغذی، فاکتورهای رشدی، هورمون‌ها، غلظت کلسیم داخل سلولی، میزان ATP، هیپوکسی و ... اشاره داشت (۱۲). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که LC3 می‌تواند مرگ سلولی و یا بقای آنرا افزایش دهد، همچنین به‌عنوان یکی از عوامل موثر در اتوفژی نیز شناخته شده است که بر اساس شواهد موجود می‌تواند عملکرد آپوپتوتیک داشته باشد (۲۰). گزارش شده است که کاهش فعالیت اتوفژیک به‌دلیل کم شدن میزان بیان LC3 و Beclin-1 می‌تواند با توموروز و افزایش رشد تومور همراه باشد. اما در شرایط پاتولوژیک متفاوت است. در شرایط استرس متابولیک، اتوفژی، برای محدود کردن نکروز و التهاب توموری، سلول را حمایت می‌کند، به‌گونه‌ای که در زمان عمل کردن اتوفژی به‌عنوان سدی در برابر استرس متابولیک، به علت اینکه در فرایند مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و اتوفژی اختلال وجود دارد، اتوفژی منجر به ایجاد نکروز و مرگ سلولی در آزمایشگاه و محیط طبیعی می‌شود (۲۱). در تداخل بین مسیرهای مرگ سلولی،



۳ می‌توانند موجب کاهش احتمال خطر اندومتريوز شود (۱۴).

### نتیجه گیری

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که افزایش بیان ژن‌های اتوفازی که در اندومتريوز ایجاد شده، می‌توانند با فعالیت ورزشی منظم هوازی مانند شنا و مکمل امگا ۳ مهار شود. احتمالاً اختلال پاتولوژیک ایجاد شده در اتوفازی با انجام فعالیت ورزشی و مکمل امگا ۳ از طریق کاهش تنظیمی بیان ژن های LC3 و Beclin-1 در بهبود اندومتريوز کمک کننده خواهد بود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدینوسیله نویسندگان تشکر خود را از تمامی کسانی که در پیشبرد اهداف رساله یاری نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

### تأییدیه اخلاقی

این پژوهش توسط کمیته مراقبت از حیوانات و استفاده از آن در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تأیید شده است (شماره مجوز تصویب: 1399.120.REC.SARI.IAU.IR).

### تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

می‌توانند با ایجاد مکانیسم حفاظتی منجر به کاهش بیان سایتوکینهای التهابی، استرس اکسیداتیو در بافت رحم، التهاب سیستمیک و در نتیجه بهبود پاسخ‌های ایمنی شود (۲۵). موتنگرو و همکاران در مطالعه خود به بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر اندومتريوز در موش صحرایی پرداختند. هفتاد موش ماده نژاد ویستار به ۷ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند: موش‌هایی با ورزش سبک (شنا یک بار در هفته)، ورزش متوسط (شنا ۳ بار در هفته) و ورزش شدید (شنا ۵ بار در هفته) قبل یا بعد از ایجاد اندومتريوز در آن‌ها. در انتهای این پروتکل تجربی، پس از انجام فعالیت بدنی و بدون در نظر گرفتن تعداد آن، شاهد کاهش اندازه آسیب اندومتريک بودند و در گروه‌های دارای فعالیت متوسط و شدید کاهش بیشتری مشاهده شد (۱۳). کروپا در مطالعه خود به بررسی روش‌های درمانی اندومتريوز پرداختند این محققان از جمله روش‌های درمانی در زنان مبتلا به اندومتريوز را درمان دارویی و جراحی و فعالیت ورزشی و مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها نامیدند (۲۶). از طرفی تحقیقات نشان می‌دهد که اسیدهای چرب چندگانه غیر اشباع امگا ۳ خوراکی (o-pufa)؛ اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) و اسید دکوزاهگزا نوئیک (DHA) دارای پتانسیل کاهش نشانه‌های دردناک مربوط به اندومتريوز، کاهش اندازه ضایعه، حفظ توانایی بارداری در بیمار در حین دارو درمانی، و دارای اثرات جانبی اندک یا بدون آن می‌باشند (۲۷). اسیدهای چرب چندگانه غیر اشباع امگا ۳ بواسطه رقابت با اسیدهای چرب امگا ۶ جهت تولید واسطه‌های لیپیدی ضد التهابی، نقش مهمی در تنظیم پروستاگلاندین‌ها و سیتوکین‌ها که از عوامل مهم اندومتريوز هستند، ایفا می‌کنند. مصرف غذاهایی با محتوای بالای (o-pufa) دارای تأثیر ضد التهابی می‌باشد. مهم این است که نشان داده شده است که (o-pufa) ها می‌توانند به عنوان پیش ماده‌ی تشکیل دامنه گسترده‌ای از واسطه‌های دخیل در رفع التهاب، عمل کنند (۲۸). در یک مدل اندومتريوز بر روی موش‌ها اسید چرب امگا ۳ موجب کاهش اندازه ضایعات و تولید سیتوکین و پروستاگلاندین موضعی شده است. در یک مدل اندومتريوز با استفاده از موش‌های Fat-1 که در آن‌ها امگا ۶ می‌تواند به امگا ۳ تبدیل شود، تعداد ضایعات ایجاد شده در گروه موش‌های Fat-1 در مقایسه با گروه کنترل، به نحوه چشمگیری کمتر شده است (۱۴) در مطالعات آزمایشگاهی با استفاده از اندومتريوم گرفته شده از زنان مبتلا به اندومتريوز نشان داده شده است که اسیدهای چرب امگا ۳ دارای تأثیر سرکوب‌گر ایمنه بر روی بقای سلول اندومتري می‌باشد (۲۹). یک مطالعه منسجم در مقیاس بزرگ در مورد نوع رژیم غذایی و احتمال خطر اندومتريوز در زنان تحقیق نموده و نتیجه گرفته است که افزایش مصرف اسیدهای چرب امگا

## منابع

phagy pathway in acute lymphoblastic leukemia patients. *SJKU* 2018; 23 (6): 142-151.

10. Chen CY, Hsu HC, Lee BC, Lin HJ, Chen YH, Huang HC, et al. Exercise training improves cardiac function in infarcted rabbits: involvement of autophagic function and fatty acid utilization. *European journal of heart failure* 2010; 12(4):323-30.

11. Jokar M, Sherafati Moghadam M. High intensity interval training inhibits autophagy in the heart tissue of type 2 diabetic rats by decreasing the content of FOXO3A and BECLIN-1 proteins. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*; Vol.18, No 6, 2019.

12. Agha-Alinejad H, Hashemi Jokar E. Effect of Six Weeks of Interval Exercise Training along with Selenium Nanoparticle Ingestion on Bcl-2 and LC3 Genes expression in the Tumor Tissue of Breast Tumor-Bearing Mice. *Iranian Quarterly Journal of Breast Disease*. 2019;12(2):26-37.

13. Montenegro, M. L., Bonoche, C. M., Meola, J., Portella, R. L., Ribeiro-Silva, A., Brunaldi, M. O., ... & Rosa-e-Silva, J. C. (2019). Effect of Physical Exercise on Endometriosis Experimentally Induced in Rats. *Reproductive Sciences*, 26(6), 785-793.

14. Abokhrais, I. M., Denison, F. C., Whitaker, L. H., Saunders, P. T., Doust, A., Williams, L. J., & Horne, A. W. (2020). A two-arm parallel double-blind randomised controlled pilot trial of the efficacy of Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment of women with endometriosis-associated pain (PurFECT1). *PloS one*, 15(1), e0227695

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

16. Manna I, Jana K, Samanta PK. Effect of in-

1. Nisenblat V, Bossuyt PM, Farquhar C, Johnson N, Hull ML (February 2016). "Imaging modalities for the non-invasive diagnosis of endometriosis". *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2: CD009591.

2. Fang J, Piessens S (June 2018). "A step by step guide to sonographic evaluation of deep infiltrating endometriosis". *Sonography*. 5 (2): 67-75.

3. Colette S, Donnez J (July 2011). "Are aromatase inhibitors effective in endometriosis treatment?". *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 20 (7): 917-31.

4. Hippert MM, O'Toole PS, Thorburn A. Autophagy in cancer: good, bad, or both? *Cancer research*. 2006; 66(19):9349-51.

5. Adraskela K, Veisaki E, Koutsilieris M, Philippou A. Physical exercise positively influences breast cancer evolution. *Clinical breast cancer*. 2017 Oct 1;17(6):408-17.

6. Ardery S, Horn A, Opoku Acheampong A, Baumfalk D, Behnke B. EXERCISE TRAINING DOES NOT ALTER PROSTATE TUMOR CELL GROWTH IN RAT SERUM OR PROSTATE CONDITIONED MEDIA. *The FASEB Journal*. 2018 Apr;32:855-19.

7. Almeida PW, Gomes-Filho A, Ferreira AJ, Rodrigues CE, Dias-Peixoto MF, Russo RC, Teixeira MM, Cassali GD, Ferreira E, Santos IC, Garcia AM. Swim training suppresses tumor growth in mice. *Journal of applied physiology*. 2009 Jul;107(1):261-5.

8. He JH, Luo RZ, Cai MY, Li M, Lu JB, Yuan ZY. Decreased expression of light chain 3 (LC3) increased the risk of distant metastasis in triple-negative breast cancer. *Medical Oncology*. 2013; 30(1):468.

9. Hasanpour SZ, Allah Bakhshian Farsani M, Hajifathali A, Mohammadi MH. Evaluation of Beclin 1 and Atg10 gene expression of the auto-

- P, Vandenabeele P. Autophagy: for better or for worse. *Cell research*. 2012 Jan;22(1):43-61.
24. Scherz-Shouval R, Elazar Z. ROS, mitochondria and the regulation of autophagy. *Trends in cell biology*. 2007 Sep 1;17(9):422-7.
25. Siomara Hernandez, Myrella L. Cruz, Annelyn Torres-Reveron, Caroline B. Appleyard. Impact of physical activity on pain perception in an animal model of endometriosis. *J Endometr Pelvic Pain Disord*. 2015 Jul-Sep; 7(3): 89–114.
26. Krupa, A., Padała, O., Putowski, M., Konopelko, M., & Piasek, E. (2019). Available treatment methods for endometriosis. *Journal of Education, Health and Sport*, 9(7), 178-184.
27. Wakefield SL, Lane M, Schulz SJ, Hebart ML, Thompson JG, Mitchell M. Maternal supply of omega-3 polyunsaturated fatty acids alter mechanisms involved in oocyte and early embryo development in the mouse. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2008 Feb;294(2):E425-34.
28. Arem H, Neuhouser ML, Irwin ML, Cartmel B, Lu L, Risch H, Mayne ST, Yu H. Omega-3 and omega-6 fatty acid intakes and endometrial cancer risk in a population-based case-control study. *European journal of nutrition*. 2013 Apr;52(3):1251-60.
29. Hansen SO, Knudsen UB. Endometriosis, dysmenorrhoea and diet. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2013 Jul 1;169(2):162-71.
- tensive exercise-induced testicular gametogenic and steroidogenic disorders in mature male Wistar strain rats: a correlative approach to oxidative stress. *Acta Physiol Scand*. 2003; 178:33–40.
17. Ghule AE, Kandhare AD, Jadhav SS, Zanwar AA, Bodhankar SL. Omega-3-fatty acid adds to the protective effect of flax lignan concentrate in pressure overload-induced myocardial hypertrophy in rats via modulation of oxidative stress and apoptosis. *International Immunopharmacology*. 2015 Sep 1;28(1):751-63.
18. Brandt N, Gunnarsson TP, Bangsbo J, Pilegaard H. Exercise and exercise training induced increase in autophagy markers in human skeletal muscle. *Physiological reports* 2018; 6(7):e13651.
19. Lee Y, Kwon I, Jang Y, Song W, Cosio-Lima LM, Roltsch MH. Potential signaling pathways of acute endurance exercise-induced cardiac autophagy and mitophagy and its possible role in cardioprotection. *The Journal of Physiological Sciences* 2017; 67(6):639-54.
20. Tran TA, Ahn KS, Song YW, Moon JY, Cho M, Lim Y, Cho SK. Mechanism of 2', 3'-dimethoxyflavone-induced apoptosis in breast cancer stem cells: Role of ubiquitination of caspase-8 and LC3. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2014; 562:92-102.
21. Shamsi MM, Chekachak S, Soudi S, Gharakhanlou R, Quinn LS, Ranjbar K, Rezaei S, Shirazi FJ, Allahmoradi B, Yazdi MH, Mahdavi M. Effects of exercise training and supplementation with selenium nanoparticle on T-helper 1 and 2 and cytokine levels in tumor tissue of mice bearing the 4 T1 mammary carcinoma. *Nutrition*. 2019 Jan 1;57:141-7.
22. Jain A. P62/SQSTM1 is a target gene for transcription factor NRF2 and creates element-driven gene transcription. *J.Biol. Chem*; 2010. 285: 22576-22591.
23. Wirawan E, Berghe TV, Lippens S, Agostinis