

Effect of Eight Weeks of Swimming Exercise and Vitamin E Supplementation on NFKβ1 and P65 Genes Expression in a Rat Model of Endometriosis

Soheila Heydarzadi¹,
Lida Moradi²,
Parvin Farzangi³,
Bahram Abedi⁴

¹ PhD Student, Department of Physical Education and Sports Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³ Associate Professor, Department of Sports Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

⁴ Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received April 10, 2023 ; Accepted June 1, 2023)

Abstract

Background and purpose: Disturbance in the immune system is one of the main causes of endometriosis. Previous studies have shown the role of physical activity and antioxidant supplements on regulating the expression of genes related to improving the immune system, and reducing inflammation and infection. The present study examines the effect of swimming and vitamin E supplementation on the expression of NFKβ1 and P65 genes in endometriosis model rats.

Materials and methods: Thirty female rats were divided into six groups (n=5 per group); healthy, endometriosis, without exercise-saline-endometriosis, exercise-saline-endometriosis, without exercise supplement-endometriosis, and exercise-supplement-endometriosis. Endometriosis was surgically induced. Physical activity included swimming for eight weeks, five sessions/week and 30 minutes/session, and supplement was provided by daily gavage of 200 mg of vitamin E/kg for eight weeks. Twenty four hours after the last swimming session, the animals were sacrificed and the endometriosis tissue was removed. Relative expression levels of NFKB1 and P65 genes were measured using Real-Time PCR. Data were analyzed using one-way and two-way ANOVA.

Results: Induction of endometriosis caused a significant increase in the expression of genes studied (P<0.05). Exercise and vitamin E independently caused a significant decrease in the genes expression in rats (P<0.05). No synergistic effect was observed regarding the effect of exercise and vitamin E on the dependent variables (P>0.05).

Conclusion: According to this study, swimming and vitamin E supplement can be considered in improving endometriosis.

Keywords: endometriosis, swimming training, vitamin E, NFKβ1, P65

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (223): 125-131 (Persian).

Corresponding Author: Lida Moradi - North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
(E-mail: moradi.lida@gmail.com)

اثر هشت هفته تمرین شنا و مکمل ویتامین E بر بیان ژن‌های FKβ1 و P65 در موش‌های مدل آندومتریوز

سهیلا حیدرزادی¹لیدا مرادی²پروین فرزادنگی³بهرام عابدی⁴

چکیده

سابقه و هدف: اختلال در سیستم ایمنی بدن، از عوامل مهم ابتلا به آندومتریوز است. نقش فعالیت بدنی و مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی بر تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با بهبود سیستم ایمنی بدن، کاهش التهاب و عفونت، توسط مطالعات پیشین نشان داده شده است. پژوهش حاضر به بررسی اثر تمرین شنا و مکمل ویتامین E بر بیان ژن‌های NFKβ1 و P65 در موش‌های مدل آندومتریوز می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، تعداد 30 سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار به 6 گروه مساوی با نام‌های سالم، آندومتریوز، بدون تمرین - سالی - آندومتریوز، تمرین - سالی - آندومتریوز، بدون تمرین - مکمل - آندومتریوز و تمرین - مکمل - آندومتریوز تقسیم شدند. مداخلات براساس نام گروه اعمال گردید. آندومتریوز با استفاده از جراحی ایجاد شد؛ فعالیت بدنی: هشت هفته تمرین شنا، پنج جلسه در هفته و 30 دقیقه در هر جلسه؛ مکمل: گاوآژ روزانه 200 میلی‌گرم ویتامین E به ازای هر کیلو وزن بدن به مدت هشت هفته. 24 ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی حیوانات کشته شدند و بافت آندومتریوز برداشته شد. بیان نسبی ژن‌های NFKB1 و P65 با استفاده از روش Real-Time PCR اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون‌های آنالیز وریانس یک‌طرفه و دوطرفه تحلیل شدند.

یافته‌ها: القای آندومتریوز در حیوانات باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن‌ها شد ($P < 0/05$). تمرین و ویتامین E به‌طور مستقل باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن‌ها در موش‌های مدل آندومتریوز شدند ($P < 0/05$). اثر سینرژیکی در مورد اثر تمرین و ویتامین E بر متغیرهای وابسته پژوهش حاضر مشاهده نشد ($P > 0/05$).

استنتاج: براساس پژوهش حاضر، استفاده از تمرین شنا و مکمل ویتامین E ممکن است به‌عنوان راهی در جهت بهبود آندومتریوز مطرح باشد.

واژه‌های کلیدی: آندومتریوز، تمرین شنا، ویتامین E، NFKβ1، P65

مقدمه

مانند تخمدان‌ها و لوله‌های فالوپ رشد می‌کند (1،2). کلونیزاسیون و رشد آندومتر نابه‌جا می‌تواند منجر به درد

آندومتریوز (Endometriosis)، شرایطی است که در آن بافتی شبیه به لایه داخلی رحم در مکان‌های دیگر

E-mail: moradi.lida@gmail.com

مؤلف مسئول: لیدا مرادی - تهران: دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

1. دانشجوی دکتری، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

2. استادیار، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

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

4. استاد، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 1402/1/21 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/1/27 تاریخ تصویب: 1402/4/10

استاندارد بود و تمام اصول اخلاقی مراقبت و کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. هم‌چنین پژوهش حاضر دارای کد اخلاق از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت به شماره IR.IAU.M.REC.1400.034 می‌باشد. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی و مساوی (5 سر در هر گروه) به 6 گروه با نام‌های سالم، آندومتريوز، بدون تمرین - سالمین - آندومتريوز، تمرین - سالمین - آندومتريوز، بدون تمرین - مکمل - آندومتريوز و تمرین - مکمل - آندومتريوز تقسیم شدند و مداخلات بر اساس نام گروه اعمال گردید.

نحوه ایجاد مدل آندومتريوز

موش‌های گروه‌های آندومتريوز با استفاده از ترکیب مناسب زایلزین و کتامین بیهوش شدند. پس از ضدعفونی، ناحیه لگنی با استفاده از تیغ شکاف داده شد. بافت تخمدانی به همراه بخشی از بافت لوله رحمی برداشته و به نواحی: (1) دیواره عضلانی لگنی سمت راست، (2) ناحیه صفاق شکمی، (3) ناحیه عضله قدامی دیواره شکمی و (4) چربی اطراف تخمدان پیوند زده شد (14). پس از جراحی، حیوانات در قفس به مدت دو هفته جهت بهبودی استراحت کردند.

برنامه تمرینی

حیوانات گروه‌های تمرینی به انجام هشت هفته تمرین شنا (پنج جلسه در هفته و 30 دقیقه در هر جلسه) پرداختند. لازم به ذکر است که قبل از شروع برنامه تمرینی، حیوانات پنج جلسه 20 دقیقه‌ای به منظور آشنایی آن‌ها با آب و تمرین در داخل استخر آب (50×50×100 سانتی‌متری با درجه حرارت 32-30 درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند (15).

مکمل سازی ویتامین E

موش‌های گروه‌های مکمل، روزانه به مدت هشت هفته با 200 میلی‌گرم ویتامین E به ازای هر کیلو وزن بدن گاوآژ شدند (15). ویتامین استفاده شده ساخت شرکت آلمانی BASF بود.

مزمین لگن، ناباروری، دیسمنوره و سایر علائم بالینی در بیماران آندومتريوز شود (3). مشخص شده است که فعال شدن فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-κB) در بیماران مبتلا به آندومتريوز، نقش حیاتی در تنظیم پیشرفت بیماری از طریق مکانیسم‌های پیچیده ایفا می‌کند (1). NF-κB یک عامل رونویسی است که نقش حیاتی در ایمنی ذاتی و سایر فرآیندهای مربوط به بقا، تکثیر و تمایز سلولی دارد (1). NF-κB دارای پنج عضو به نام‌های NF-κB1 (p105/p50)، c-Rel، RelB، RelA (p65) و NF-κB2 (p100/p52) می‌باشد (4). نشان داده شده است که یک پلی مورفیسم پروموتور عملکردی (Functional promoter polymorphism) در NFκB1، حساسیت به آندومتريوز را افزایش می‌دهد (5). هم‌چنین بیان زیر واحد p65 فاکتور هسته‌ای کاپا-B در آندومتريوتوپیک و آندومتريوم تخمدان زنان مبتلا به آندومتريوز افزایش می‌یابد (6). به نظر می‌رسد انجام فعالیت بدنی و تغذیه مناسب از عوامل مؤثر در درمان آندومتريوز هستند. براساس نتایج مطالعات گذشته، تمرینات ورزشی منظم از طریق اثر بر سایتوکین‌های التهابی، دارای نقش محافظتی در برابر عوامل التهابی هستند (8، 7) که ممکن است علائم بیماری آندومتريوز را کاهش دهد (9، 10). ویتامین E نیز دارای نقش محافظتی در برابر عوامل التهابی است (11) و از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند. کمبود این ویتامین موجب اختلال در باروری (12) و سطوح مناسب آن موجب کاهش استرس اکسیداتیو و درد بیماران آندومتريوز می‌شود (13). هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات مستقل و تعاملی هشت هفته تمرین شنا و مکمل سازی ویتامین E بر بیان ژن‌های NFκB1 و P65 بافتی در موش‌های مدل آندومتريوز می‌باشد.

طرح تحقیقی و ملاحظات اخلاقی

تعداد 30 سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار (سن: 6 تا 8 هفته، وزن 220 الی 250 گرم) از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. شرایط محل نگهداری حیوانات

بافت‌برداری و سنجش بیان ژن

مستقل باعث کاهش بیان NFkB شده است. اما آنالیز آماری اثر سینرژیکی را نشان نداد ($F=2/26$, $P=0/15$) و ($ES=0/12$) (نمودار شماره 1-الف). تمرین ($P=0/001$ ، $F=21/14$ و $ES=0/56$) به صورت مستقل باعث کاهش بیان P65 شد. مکمل سازی ویتامین E اثر معنی‌داری بر بیان P65 نداشت ($F=2/25$, $P=0/15$ و $ES=0/12$). هم‌چنین اثر سینرژیکی مشاهده نشد ($F=3/11$, $P=0/09$) و ($ES=0/16$) (نمودار شماره 1-ب). رابطه معکوس فعالیت بدنی با آندومتريوز در گذشته به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (21-18,9). با این حال، نتایج آن‌ها غیرقطعی بوده است زیرا: 1) برخی از آن‌ها از مطالعات مشاهده‌ای استفاده کرده‌اند (۱۹،۱۸،۱۹)، 2) برخی از آن‌ها طب سوزنی، یوگا و الکتروتراپی را نیز جزو فعالیت‌های بدنی به حساب آورده‌اند (۲۱،۲۰). انقباض عضلانی ناشی از فعالیت بدنی باعث آزاد شدن میوکین‌ها می‌شود (22). علاوه بر این، فعالیت بدنی تولید لکوسیت‌ها، کورتیزول و آدرنالین را افزایش می‌دهد که همگی اثرات ضدالتهابی حاد قوی دارند (23). فعالیت بدنی منظم از طریق اثر بر سایتوکین‌های التهابی، دارای نقش محافظتی در برابر عوامل التهابی هستند (۸،۷) که می‌تواند سبب بافت و بیماری آندومتريوز را کاهش دهد (۱۰،۹). نشان داده شده است که زنان آندومتريوز در مقایسه با گروه کنترل مصرف آنتی‌اکسیدان کم‌تری دارند. پس از مصرف آنتی‌اکسیدان قوی توسط زنان آندومتريوز، نشانگرهای استرس اکسیداتیو محیطی در آن‌ها کاهش یافت و نشانگرهای آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرد (24). ویتامین E، یک آنتی‌اکسیدان طبیعی قوی محلول در چربی، توانایی خاموش کردن مستقیم رادیکال‌های آزاد را دارد و به عنوان یک تثبیت‌کننده غشاء عمل می‌کند. نتایج یک مطالعه که در سال 2021 انجام شده است نشان داد مصرف مکمل‌های ویتامین C و ویتامین E به طور مؤثری شدت دیسمنوره را کاهش می‌دهد و دیسپارونی و شدت درد لگن را بهبود می‌بخشد (13). دیسمنوره، دیسپارونی و درد لگن از علائم شناخته شده آندومتريوز هستند. نتایج

24 ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی حیوانات قربانی شدند. بافت‌های پیوند زده شده به نواحی آندومتريوز برداشته شد و با استفاده از نیتروژن مایع منجمد گردید. بیان ژن با استفاده از کیت‌های مخصوص (یکتاتجهیز، شماره کاتالوگ: 9065، 4509 و 2551)، طبق دستورالعمل شرکت سازنده و با روش Real-Time PCR ارزیابی شد (16). پرایمرهای اختصاصی استفاده شده در جدول شماره 1 آورده شده است.

جدول شماره 1: آغازگرهای اختصاصی استفاده شده در مرحله

Real-Time PCR		
نام ژن	آغازگر رفت	آغازگر برگشت
NFKβ1	CATACGCTGACCCTAGCCTG	TTTCTCAATCCGGTGCGCA
P65	CATACGCTGACCCTAGCCTG	TTTCTCAATCCGGTGCGCA
GAPDH	AAGTTCACCGCAGTCAAGG	CATACTCAGCACCAGCATCAC

NFKβ1 و P65 پرایمر اختصاصی و GAPDH پرایمر غیراختصاصی است.

روش‌های آماری

داده‌های به دست آمده از Real-Time PCR با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ به بیان نسبی ژن تبدیل شدند. همه داده‌ها به عنوان میانگین و انحراف استاندارد توصیف شدند. توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک آزمون شد. از آنالیز واریانس یک طرفه و دوطرفه جهت بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد (17). سطح معنی‌داری برابر با $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. جهت انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه 24 استفاده شد.

یافته‌ها و بحث

القای آندومتريوز در پژوهش حاضر به طور معنی‌داری باعث افزایش بیان ژن‌هایی شده است ($P65$ و $NFK\beta$) که نقشی کلیدی در تنظیم پاسخ ایمنی به عفونت دارند (جدول شماره 2). در پژوهش حاضر، تمرین ($F=36/84$ و $ES=0/69$ ، $P=0/001$) و مکمل تمرین ($F=9/33$ و $ES=0/36$ ، $P=0/008$) هر کدام به صورت

جدول شماره 2: بیان ژن‌های NFKB و P65 در گروه‌های سالم و

اندازه اثر	F	سطح معنی داری	میانگین و انحراف استاندارد	نام گروه	نام ژن
			00±24/03	سالم	NFKB β
097	286/40	0001	00±92/04	آندومتریوز*	
			00±89/06	سالم-آندومتریوز*	
			00±01/001	سالم	P65
088	45/02	0001	00±40/001	آندومتریوز*	
			00±41/001	سالم-آندومتریوز*	

*: تفاوت معنی دار نسبت به گروه سالم

با توجه به نتایج مطالعه حاضر که تعدیل بیان NFKB1 و P65 بافتی را در مدل آندومتریوز متعاقب تمرین شنا و استفاده از مکمل ویتامین E نشان داد، به نظر می‌رسد استفاده از هر یک از مداخلات (تمرین منظم شنا و مکمل سازی ویتامین E) به تنهایی ممکن است به عنوان راهی در جهت بهبود بیماری آندومتریوز مطرح باشد.

تضاد منافع

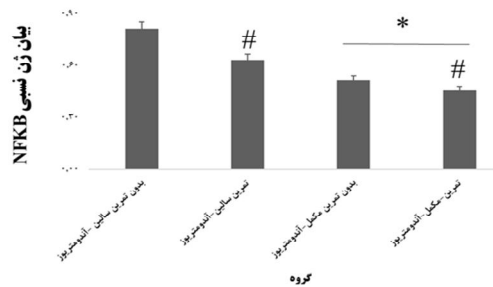
هیچگونه تضاد منافی در ارتباط با این مقاله وجود ندارد.

سپاسگزاری

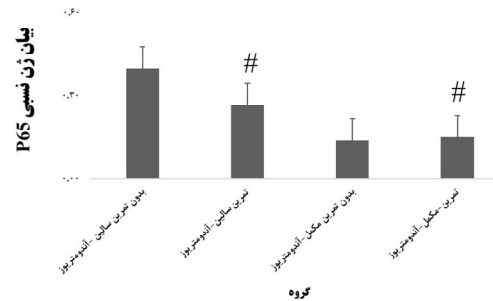
پژوهشگران نهایت سپاس و قدردانی خود را از مسئولان دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال که با مشارکت خود ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، اعلام می‌نمایند.

مطالعه دیگر نشان می‌دهد مکمل ویتامین E به مدت 12 هفته در بین زنان مبتلا به شکست لانه‌گزینی اثرات مفیدی بر ضخامت آندومتر، مقادیر MDA و بیان ژن LDLR، IL-1 و TNF- α دارد (25). از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم اندازه‌گیری ضخامت و اندازه بافت آندومتر می‌باشد که نیاز است مطالعات بعدی در این رابطه انجام شود.

بیان ژن NFKB در گروه‌های مختلف پژوهش



بیان ژن P65 در گروه‌های مختلف پژوهش



نمودار شماره 1: بیان ژن NFKB (الف) و P65 (ب) در گروه‌های مختلف پژوهش.

*: تفاوت معنی دار متعاقب مصرف مکمل نسبت به بدون مکمل.

#: تفاوت معنی دار متعاقب تمرین شنا نسبت به بدون تمرین

References

- Liu Y, Wang J, Zhang X. An Update on the Multifaceted Role of NF-kappaB in Endometriosis. *Int J Biol Sci* 2022; 18(11): 4400-4413.
- Smolarz B, Szyłło K, Romanowicz H. Endometriosis: Epidemiology, Classification, Pathogenesis, Treatment and Genetics (Review of Literature). *Int J Mol Sci* 2021; 22(19): 10554.
- Kapoor R, Stratopoulou CA, Dolmans MM. Pathogenesis of Endometriosis: New Insights into Prospective Therapies. *Int J Mol Sci* 2021; 22(21): 11700.
- Zhou Y, Cui C, Ma X, Luo W, Zheng SG, Qiu W. Nuclear Factor κ B (NF- κ B)-Mediated Inflammation in Multiple Sclerosis. *Front Immunol* 2020; 11: 391.

5. Zhou B, Rao L, Peng Y, Wang Y, Qie M, Zhang Z, et al. A functional promoter polymorphism in NFKB1 increases susceptibility to endometriosis. *DNA Cell Biol* 2010; 29(5): 235-239.
6. Kim SH, Ihm HJ, Oh YS, Chae HD, Kim CH, Kang BM. Increased nuclear expression of nuclear factor kappa-B p65 subunit in the eutopic endometrium and ovarian endometrioma of women with advanced stage endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2013; 70(6): 497-508.
7. Scheffer DDL, Latini A. Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2020; 1866(10): 165823.
8. Docherty S, Harley R, McAuley JJ, Crowe LAN, Pedret C, Kirwan PD, et al. The effect of exercise on cytokines: implications for musculoskeletal health: a narrative review. *BMC Sports Sci Med Rehabil* 2022; 14(1): 5.
9. Bonoche CM, Montenegro ML, Rosa E Silva JC, Ferriani RA, Meola J. Endometriosis and physical exercises: a systematic review. *Reprod Biol Endocrinol* 2014; 12: 4.
10. Montenegro ML, Bonoche CM, Meola J, Portella RL, Ribeiro-Silva A, Brunaldi MO, et al. Effect of Physical Exercise on Endometriosis Experimentally Induced in Rats. *Reprod Sci* 2019; 26(6): 785-793.
11. Nazrun AS, Norazlina M, Norliza M, Nirwana SI. The anti-inflammatory role of vitamin e in prevention of osteoporosis. *Adv Pharmacol Sci* 2012; 2012: 142702.
12. Rengaraj D, Hong YH. Effects of dietary vitamin E on fertility functions in poultry species. *Int J Mol Sci* 2015; 16(5): 9910-9921.
13. 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 Res Manag* 2021; 2021: 5529741.
14. Bruner-Tran KL, Mokshagundam S, Herington JL, Ding T, Osteen KG. Rodent Models of Experimental Endometriosis: Identifying Mechanisms of Disease and Therapeutic Targets. *Curr Women's Health Rev* 2018; 14(2): 173-188.
15. Shahidian Akbar F, Farzanegi P, Abbaszadeh H. Evaluation of ESR and IGFBP1 genes of ovarian tissue of endometriosis model mice after a period of regular exercise and vitamin E intake. *Razi Journal of Medical Sciences* 2020; 27(3): 38-48 (Persian).
16. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani M, Nasehi M. The Effects of High-Intensity Interval Training with Supplementation of Flaxseed Oil on BDNF mRNA Expression and Pain Feeling in Male Rats. *Ann Appl Sport Sci* 2017; 5(4): 1-12 (Persian).
17. Shirvani H, Rahmati-Ahmadabad S, Broom DR, Mirnejad R. Eccentric resistance training and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid affects muscle PGC-1alpha expression and serum irisin, nesfatin-1 and resistin in rats. *J Exp Biol* 2019; 222(Pt 10): jeb 198424.
18. Shafir AL, Farland LV, Shah DK, Harris HR, Kvaskoff M, Zondervan K, et al. Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2018; 51: 1-15.
19. Ricci E, Viganò P, Cipriani S, Chiaffarino F, Bianchi S, Rebonato G, et al. Physical activity and endometriosis risk in women with infertility or pain: Systematic review and meta-analysis. *Medicine* 2016; 95(40): e4957.
20. Evans S, Fernandez S, Olive L, Payne LA, Mikocka-Walus A. Psychological and mind-

- body interventions for endometriosis: A systematic review. *J Psychosom Res* 2019; 124: 109756.
21. Mira TAA, Buen MM, Borges MG, Yela DA, Benetti-Pinto CL. Systematic review and meta-analysis of complementary treatments for women with symptomatic endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2018; 143(1): 2-9.
22. Shirvani H, Rahmati-Ahmadabad S. Irisin interaction with adipose tissue secretions by exercise training and flaxseed oil supplement. *Lipids Health Dis* 2019; 18(1): 15.
23. Nimmo MA, Leggate M, Viana JL, King JA. The effect of physical activity on mediators of inflammation. *Diabetes Obes Metab* 2013; 15(Suppl 3): 51-60.
24. Mier-Cabrera J, Aburto-Soto T, Burrola-Méndez S, Jiménez-Zamudio L, Tolentino MC, Casanueva E, et al. Women with endometriosis improved their peripheral antioxidant markers after the application of a high antioxidant diet. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7(1): 54.
25. Hashemi Z, Sharifi N, Khani B, Aghadavod E, Asemi Z. The effects of vitamin E supplementation on endometrial thickness, and gene expression of vascular endothelial growth factor and inflammatory cytokines among women with implantation failure. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2019; 32(1): 95-102.