Investigation of targeted metabolites and organic acids resulting from cellular metabolism in the culture medium of cells extracted from endometriosis tissue using the GC/MS technique: a metabolomics approach

Ali Mohebbi[1], Vida Hojati[2*], Reza Aflatoonian[3], Masoumeh Majidi Zolbin[4]**

1- Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

2- Associate Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

3- Department of Endocrinology and Female Infertility at Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran.

4-Iranian tissue bank and research center, Tehran University of medical sciences, Tehran,Iran

Abstract

Aim and Background: Endometriosis, a chronic inflammatory gynecological disorder, features ectopic endometrial-like glands and stroma, impacting ~10% of reproductive-age women and causing substantial morbidity. Limited insights into its pathogenesis prompted this metabolomics-based investigation to delineate metabolic perturbations in ectopic tissues under controlled physiological conditions, minimizing confounders.

Materials and Methods: Ectopic endometrial tissues from endometriosis patients were procured laparoscopically, while eutopic endometrial tissues from controls were sampled via aspiration during the proliferative menstrual phase. Post-collagenase digestion, 200,000 cells/well were cultured to confluence; media were then static for 72 h. Secreted metabolites were extracted and profiled using Shimadzu's organic acid diagnostic panel on a GC/MS system.

Results: Twenty-four metabolites were quantified. Ectopic samples exhibited significant reductions in fumaric acid and 2-ketoglutarate ($P<0.05$), alongside elevations in 4-hydroxyphenyllactic acid, palmitic acid, and lactate ($P<0.05$). Pyruvate, citrate, and 2-hydroxyisovalerate were nominally higher, albeit non-significantly. Pathway enrichment revealed disruptions in arginine biosynthesis, pyruvate metabolism, glycolysis/gluconeogenesis, and fatty acid pathways (including unsaturated fatty acid synthesis, β-oxidation, elongation, and GPI-anchor biosynthesis).

Conclusion: Krebs cycle dysregulation, coupled with upregulated inflammatory/oxidative stress metabolites, likely promotes ectopic cell survival and immune evasion. These metabolomic signatures underscore potential biomarkers for early endometriosis diagnosis and novel therapeutic targets.

Keywords: Metabolomics, Endometriosis, Organic acids, GC/MS.

***Corresponding author:**
Vida Hojati Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
Email: vida.hojati@iau.ac.ir
Masoumeh Majidi Zolbin[2]; Tehran, End of Keshavarz Boulevard, Imam Khomeini Hospital Complex, Research Center of the Bank of Transplantation
Email: Masoumeh.majidizolbin@gmail.com

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

بررسی متابولیت‌های هدفمند و اسیدهای ارگانیک ناشی از متابولیسم سلولی در محیط‌کشت سلول‌های استخراج‌شده از بافت اندومتریوز با استفاده از تکنیک GC/MS: رویکردی از منظر متابولومیکس

علی محبی[۱]، ویدا حجتی[۲*]، رضا افلاطونیان[۳]، معصومه مجیدی ذوالبین[۴]**

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
۳- دانشیار، گروه بیولوژی تولیدمثل زنان، پژوهشگاه رویان، تهران ایران
۴- استادیار علوم تشریح، مرکز تحقیقات بانک فراوره های پیوندی , دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران ایران

چکیده

سابقه و هدف: اندومتریوز، اختلال التهابی مزمن زنانگی، با وجود غدد و استرومای شبیه اندومتر خارج از رحم مشخص می‌شود و حدود ۱۰٪ زنان در سن باروری را تحت تأثیر قرار می‌دهد و منجر به نرخ ابتلای قابل توجهی می‌گردد. محدودیت دانش در مورد پاتوژنز آن، این مطالعه متابولومیک را برای تبیین اختلالات متابولیک در بافت‌های اکتوپیک تحت شرایط فیزیولوژیک کنترل‌شده و با حداقل عوامل مخدوش کننده برانگیخت.

مواد و روش‌ها: بافت‌های اندومتریال اکتوپیک از بیماران اندومتریوز به روش لاپاروسکوپی تهیه شد، در حالی که بافت‌های اندومتریال یوتوپیک از گروه کنترل طی فاز پرولیفراتیو سیکل قاعدگی با آسپیراسیون نمونه‌برداری گردید. پس از هضم با کلاژناز، ۲۰۰،۰۰۰ سلول در هر چاهک کشت داده شد تا به همگرایی رسید؛ سپس محیط کشت برای ۷۲ ساعت استاتیک ماند. متابولیت‌های ترشح‌شده استخراج و با پنل تشخیصی اسیدهای آلی روی سیستم GC/MS ساخت کمپانی Shimadzu آنالیز شد.

یافته ها: بیست و چهار متابولیت کمی‌سازی شد. نمونه‌های اکتوپیک کاهش معنی‌دار اسید فوماریک و ۲-کتوگلوتارات ($P<0.05$) و افزایش ۴-هیدروکسی‌فنیل‌لاکتیک اسید، اسید پالمیتیک و لاکتات ($P<0.05$) نشان دادند. پیروات، سیترات و ۲-هیدروکسی‌ایزوالرات به طور اسمی بالاتر بودند، هرچند غیرمعنادار. غنی‌سازی مسیرها اختلالات در بیوسنتز آرژنین، متابولیسم پیروات، گلیکولیز/گلوکونئوژنز و مسیرهای اسیدهای چرب (شامل سنتز اسیدهای چرب غیراشباع، -βاکسیداسیون، الونگاسیون و بیوسنتز لنگر (GPI) را آشکار کرد.

نتیجه‌گیری: اختلال تنظیم در چرخه کربس، همراه با متابولیت‌های التهابی/استرس اکسیداتیو بالا، احتمالاً بقای سلول‌های اکتوپیک و فرار ایمنی را تسهیل می‌کند. این سیگنال‌های متابولومیک، نشانگرهای زیستی بالقوه برای تشخیص زودهنگام اندومتریوز و اهداف درمانی نوین را برجسته می‌سازد.

واژگان کلیدی: متابولومیک، اندومتریوز، اسیدهای آلی، GC/MS.

نویسنده مسئول: *گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
**تهران، انتهای بلوار کشاورز، مجتمع بیمارستانی امام خمینی(ره) ، مرکز تحقیقات بانک فراوره های پیوندی
- **پست الکترونیکی**:vida.hojati@iau.ac.i, :Masoumeh.majidizolbin@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۵

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

۱- مقدمه

آندومتریوز یک بیماری مزمن در زنان است که با وجود بافتی از جنس اپیتلیوم و یا آستروما‌ی آندومتر در خارج از آندومتر و معمولاً با یک فرایند التهابیِ همراه مشخص می‌شود (۱). این بیماری یک وضعیت مزمن عصبی و التهابی با درد مزمنِ لگنیِ ناتوان‌کننده است که حدود ۶ تا ۱۰ درصد از زنان در سنین باروری و تا ۵۰ درصد در زنان نابارور را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۲). اگرچه برخی از زنان بدون علامت هستند، اما آن‌هایی که این علائم مزمن را تجربه می‌کنند اغلب از مشکلات عاطفی و کاهش کیفیت زندگی، با سطوح بالایی از استرس، اضطراب و افسردگی رنج می‌برند؛ بنابراین، ابتلا به این بیماری ممکن است چرخه‌ای از مشکلات عاطفی ایجاد کند که علائم را به‌طور مداوم بدتر می‌کند (۳). طبق یک نظریهٔ کلاسیک، قاعدگی رتروگراد یعنی خروج قطعه‌های بافت، سلول‌ها و خون از طریق لوله‌های فالوپ، معادل یک دانه است که در خاکِ دیوارهٔ صفاق رشد می‌کند و باعث ایجاد اندومتریوز می‌شود (۴). سلول‌های آزادشده از آندومتر در طی قاعدگی شامل سلول‌های اپیتلیال (غدد و مجرا)، فیبروبلاست‌های استرومایی/سلول‌های دسیدوال، سلول‌های عروقی (پیراواسکولار و اندوتلیال) و جمعیت متنوعی از سلول‌های ایمنی (به‌ویژه نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها/ماکروفاژها و سلول‌های کشندهٔ طبیعی) رحم هستند (۵، ۶). تمام این انواع سلولی، پتانسیل ایجاد ضایعات صفاقی را دارند به شرط آن‌که بتوانند زنده بمانند و از نظارت سیستم‌ایمنی در حفرهٔ صفاقی فرار کنند. آندومتریوز ویژگی‌های مشابه سرطان را نشان می‌دهد و هم آندومتریوز و هم سرطان را می‌توان به‌عنوان اختلال‌های متابولیکی درنظر گرفت (۷).

انقلاب omics منجر به ظهور متابولومیکس، حوزه‌ای است که به تسریع درکِ ویژگی‌های کلیِ متابولیک، شناساییِ نشانگرهای زیستی و روشن‌سازی مکانیسم‌های متابولیکی کمک می‌کند (۸). متابولومیکس به اندازه‌گیری ترکیب‌ها یا متابولیت‌های با وزن مولکولی کم (کمتر از ۱/۵ کیلودالتون) در یک نمونهٔ بیولوژیکی پرداخته و مجموع این متابولیت‌ها را متابولوم تشکیل می‌دهد. برآورد می‌شود که متابولومِ انسان شامل حدود ۴۲۰۰۰ متابولیت باشد که سطح هرکدام از آن‌ها به وضعیت فیزیولوژیکی، تکاملی و پاتولوژیکِ خاصِ سلول یا بافت وابسته است. این پدیده، بیانگر تأثیرهای ژنتیکی و محیطی بر فنوتیپ‌های سلولی یا بافتی است (۹). متابولومیکس به‌عنوان ابزاری کارآمد و قابل اعتماد برای شناسایی متابولیت‌ها و بیومارکرها در سیستم‌های بیولوژیکی تحت شرایط مختلف، اطلاعات مهمی دربارهٔ وضعیت فیزیولوژیکیِ یک بافت یا سیال زیستی فراهم می‌آورد. متابولیت‌ها نه‌تنها محصولات نهایی فرایندهای تنظیم‌کنندهٔ بیولوژیکی‌اند، بلکه ارتباط‌دهنده‌ای بین ژنوم و فنوتیپ عملکردی محسوب نیز می‌شوند (۱۰). در حوزهٔ پزشکی، متابولومیکس دو هدف اصلی را پیگیری می‌کند: شناساییِ متابولیت‌های غیرطبیعی و مسیرهای متابولیکی برای فرضیه‌سازی دربارهٔ علل بیماری و شناساییِ بیومارکرهای قابل‌اعتماد برای تشخیص زودهنگام بیماری یا پایشِ درمان. با شناسایی این نشانگرهای زیستی، تجزیه‌وتحلیل مسیرهای متابولیک به درک بهتر پاتوفیزیولوژیِ بیماری و ارتباط متابولیت‌های خاص با آن کمک می‌کند (۱۱). تکنیک‌های متابولومیکس به‌ویژه در شناسایی متابولیت‌های کلیدی در مسیرهای مرتبط با پاتوفیزیولوژی آندومتریوز کاربرد دارند (۱۲). این رویکرد به‌دلیل قابلیت نظارت بر پیشرفت بیماری و تمایز بین افراد بیمار و سالم از طریق روش‌های کم‌تهاجمی، به‌عنوان ابزاری بالقوّه در تشخیص و درک پاتوفیزیولوژیِ بیماری موردتوجه قرار گرفته است (۱۳). در رویکرد متابولومیکسِ هدفمند، تمرکز بر اندازه‌گیری مجموعه‌ای از متابولیت‌هاست که براساس یک فرضیهٔ مشخص، مسیر بیوشیمیایی معین یا وضعیت پاتولوژیک موردنظر انتخاب شده‌اند. در این روش، به‌جای پایشِ گسترده و بدون تعریف همهٔ متابولیت‌های موجود در نمونه، تنها گروهی محدود و از پیش تعیین‌شده موردسنجش قرار می‌گیرند. اندازه‌گیری این متابولیت‌ها معمولاً با استفاده از فناوری‌های دقیق و حساس نظیر LC-MS/MS یا GC-MS انجام می‌شود و امکان اندازه‌گیریُ کمّی، معتبر و تکرارپذیر را فراهم می‌کند. در مجموع، هدف از متابولومیکس هدفمند، دستیابی به ارزیابیِ دقیق و قابل‌اعتماد از متابولیت‌هایی است که نقش کلیدی در پاسخ به سؤال بیولوژیک یا بالینی مطرح‌شده دارند. بررسی متابولیت‌ها و اسیدهای آلی حاصل از متابولیسم سلولی در محیط‌کشت، بدون تأثیر میکرومحیط و فیزیولوژیِ طبیعیِ بدن، می‌تواند اطلاعات

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

ارزشمندی دربارهٔ بروز، پیشرفت یا بهبود بیماری ارائه دهد. بنابراین، در این مطالعه به بررسی ارگانیک اسیدها و متابولیسم آن‌ها در محیط‌کشت سلول‌های اولیهٔ اندومتریوز نسبت به گروه کنترل پرداخته شد.

رایج‌ترین تکنیک‌های تحلیلی در مطالعه‌های متابولومیک شامل NMR و طیف‌سنجیِ جرمی (MS) هستند (۱۴) درحالی‌که MS به آماده‌سازیِ بافت نیاز دارد و معمولاً با تکنیک‌های جداسازی مانند کروماتوگرافیِ مایع (LC) یا کروماتوگرافیِ گازی (GC) همراه است، حساسیت بیشتری نسبت به NMR ارائه می‌دهد (۱۱). بر این اساس، در این مطالعه از روش GC/MS برای آنالیز استفاده شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

این مطالعه پس از تایید در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران با شناسه IR.TUMS.VCR.REC.1398.406 آغاز شد. نمونه‌گیری این مطالعه براساس تصادفیِ آسان صورت گرفته است. بیماران از بازهٔ سنی ۱۸ تا ۴۰ سال انتخاب شدند. در مجموع برای اجرای پروژه ۲۳ بیمار با احتمال ابتلا به بیماری اندومتریوز و ۱۲ بیمار به‌عنوان گروه کنترل وارد این مطالعه شدند. پس از توضیح دادن در مورد علت اجرای طرح و اخذ رضایت‌نامه، ابتدا از بیماران شرح حال گرفته شد. پس از اعمال معیارهای ورود و خروج، بیمارانی با سابقهٔ یک اختلال عفونی و التهابی در حفرهٔ شکمی یا سابقهٔ دریافت فراورده‌های خونی یا تغذیهٔ وریدی از مطالعه حذف شدند. زنان بدون سابقهٔ ابتلا به اندومتریوز و بیماریِ التهابیِ دستگاهِ تناسلی و دارای فرزند (عدم‌ناباروری) که جهت انجام جراحی‌های الکتیو از جمله میوم، فیبروم، درموئید، کیست تخمدان، آدنومیوزیس و لیومیوم مراجعه کرده بودند به‌عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. نمونه‌گیری از هر دو گروه بیمار و کنترل در فاز پرولیفراتیو چرخهٔ قاعدگی گرفته شد. نمونه‌های اندومتر کنترل به‌وسیلهٔ پایپل از طریق واژینال تهیه و نمونهٔ اکتوپیک به‌وسیلهٔ بیوپسی با لاپاراسکوپی گرفته شد. نمونه‌های به‌دست‌آمده بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و پس از چند مرحله شست‌وشو با نرمال سالین برای پاک شدن از خون و خونابه، بخشی از نمونه‌ها برای کشت به اتاق کشت انتقال یافته و بلافاصله کشت‌سلول انجام شد و بخشی نیز برای بررسیِ هیستوپاتولوژی و تأیید پاتولوژیِ بافتِ اندومتریوز به محیط فرمالین انتقال داده شد. پس از تأیید بیماری در نهایت در ۲۰ نمونهٔ بیمار اندومتریوزی و ۱۰ نمونهٔ کنترل فرایند مطالعه ادامه یافت.

۲-۲- کشت‌سلول

برای نمونه، کشت‌سلول بخش کوچکی از بافت اندومتر یا بافت اندومتریوز به اندازهٔ حدود ۰/۵ در ۰/۵ سانتی‌متر به زیر هودِ لامینار انتقال داده شد. پس از هموژن کردن بافت با تیغ بیستوری برای جداسازی بهتر سلول‌ها در محلول DMEM (DMEM/F12 1:1: Gibco, 32500-035) (Dulbecco's Modified Eagle Medium) حاوی ۰/۱ میلی‌گرم آنزیم کلاژناز در هر ۱ سی‌سی محلول در یک فالکون ۱۰ سی‌سی قرار گرفت. ابتدا ترکیبِ بافت و محلول به‌مدت ۱۰ دقیقه با دست تکان داده شد و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه و مجدداً ۱۰ دقیقه ورتکس شد. سپس سلول‌ها با استفاده از فیلتر مِش ۷۰ ماکرو فیلتر شدند. برای خنثی‌سازی اثر کلاژناز به اندازهٔ محلول موجود در فالکون DMEM اضافه شد و پس از یک مرحله ورتکس، فالکون‌ها به‌مدت ۵ دقیقه با دور rpm ۲۵۰۰ و دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رویی تخلیه شد. برای اطمینان از شست‌وشوی سلول‌ها از آنزیم کلاژناز این مرحله دوبار تکرار شد. در نهایت پلیت سلولی انتهای فالکون با ۲ سی‌سی محیط‌کشت حاوی FBS ۱۰ درصد، DMEM و آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین و استرپتومایسین ساخت کمپانی سیگما) ورتکس شد و پس از جدا شدن کامل پلاک تعداد ۲۰۰۰۰۰ سلول به پلیت کشت‌سلول ۲۴ خانه انتقال داده شد و سپس به انکوباتور CO_2دار با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰ درصد و CO_2 برابر ۵ درصد منتقل شد. پس از آنکه رشد سلول‌ها در محیط‌کشت به حدود ۸۰ درصد رسید، محیط‌کشت به‌مدت ۷۲ ساعت تعویض نشد و پس از آن محلول محیط‌کشت برای آنالیز متابولومیک برداشته شد و به فریزر ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد انتقال داده شد (۱۵).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

۲-۳- آماده‌سازی نمونه جهت تزریق به دستگاه GC/Mass برای بررسی متابولیت‌ها و ارگانیک اسیدها

پس از کشت سلول‌ها و حذف نمونه‌های مشکوک به آلودگی یا سلول‌هایی که رشد کافی نداشتند در نهایت ۱۹ نمونه برای گروه اندومتر اکتوپک و ۹ نمونه به‌عنوان گروه کنترل موردبررسی قرار گرفتند. موقع بررسی متابولیک برای اطمینان از صحت انجام آزمایش، از هر محیط‌کشت دو نمونه موردبررسی قرار گرفته و درنهایت میانگین هر دو، موردِ آنالیز قرار گرفت. روش انجام کار مورداستفاده براساس روشِ تنظیم‌شده توسط کمپانیِ سازندۀ دستگاه GC/Mass شیمادزو و با نرم‌افزارهای اختصاصی مربوطه انجام شد. برای انجام آزمایشِ نمونه‌ها درون بلوک حرارتی با دمای ۳۷ درجۀ سانتی-گراد قرار گرفتند تا کاملاً ذوب شوند و سپس در دور ۳۰۰۰rpm و دمای ۴ درجۀ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و از محلولِ رویی برای انجام آزمایش استفاده شد. در مرحلۀ بعدی حجم ۱۹۰۰ میکرولیتر نمونه به‌دست‌آمده به درونِ لولۀ ۱۰ میلی‌لیتری انتقال یافت. سپس ۵۰ میکرولیتر تروپیک اسید و ۵۰ میکرولیتر ترکیب مارگاریک اسید و تتراکوزان با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به‌عنوان استاندارد داخلی به نمونه اضافه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هیدروکسیل آمونیوم‌کلرید ۵ درصد و ۴۰۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم ۲/۵N به نمونه اضافه شد و بعد از ورتکس، به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به‌ترتیب ۳۵۰ میکرولیتر هیدروکلریک‌اسید ۶N و ۶ میلی‌لیتر از اتیل استات به نمونه اضافه و ۳۰ ثانیه ورتکس شد و سپس در دور ۳۰۰۰ rpm و دمای ۴ درجۀ سانتی‌گراد نمونه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. لایۀ بالایی که حاوی اتیل‌استات بود به یک لولۀ ۵۰ ml انتقال یافت و سه مرحلۀ قبل دوباره تکرار شد. بعد از این مرحله، ۵ gr سدیم‌سولفات اضافه شد و به‌مدت ۳۰ ثانیه ورتکس صورت گرفت؛ سپس در دور ۳۰۰۰ rpm نمونه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و لایۀ حاوی اتیل‌استات به یک لولۀ ۱۰ میلی‌لیتری انتقال داده شد. نمونه‌ها تحت دمای ۶۰ درجۀ سانتی‌گراد و گاز نیتروژن بخار شدند تا اینکه تقریباً حجم یک میلی‌لیتر از اتیل‌استات باقی ماند که این فرایند تقریباً در ۲۰ دقیقه انجام شد. نمونۀ باقی‌مانده به یک ویال ۱/۵ میلی‌لیتر انتقال داده شد و این بار در دمای ۶۰ درجه سانتی-گراد و تحت‌فشار گاز نیتروژن به‌طور کامل خشک شدند. پس از خشک شدن 100µL BSTFA + 1% TMCS[1] ساخت شرکت ترموفیشر به نمونه خشک‌شده اضافه شد پس از ورتکس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. نمونه‌ها به درون میکروواینزرت انتقال داده شدند و در درون ویال ۱/۵ میلی‌لیتر قرار گرفتند. در این مرحله نمونه آماده تزریق به دستگاه GC/MS بود. برای تزریق به دستگاه یک میکرولیتر از نمونه مورد نیاز بود تا ظرف مدت ۶۰ دقیقه خوانش انجام شده و پروفایل ارگانیک اسیدها مورد بررسی قرار گیرد. برای این آنالیز از ستون DB-5 (5% phenyl / 95% dimethyl polysiloxane) با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر بر روی دستگاه GC/Mass ساخت کمپانی شیمادزو مدل Q20-20 استفاده شد. در این مطالعه تعداد ۱۱۶ متابولیت (طبق فایل پیوست ۱) که توسط کمپانی سازنده دستگاه به عنوان پنل تشخیصی برای بررسی اختلالات متابولیک و اختلالات ارگانیک اسید ستاپ شده به روش SIM مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-۴- روش آنالیز داده‌ها

پس از خوانش نمونه‌ها در نهایت سطح زیر پیک هریک از متابولیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار GC/MS Solution اندازه‌گیری شده و خروجی به‌صورت یک فایل اکسل در اختیار قرار گرفت. ابتدا مقدار سطح زیرِ پیک ۳ استاندارد شامل مارگاریک‌اسید، تتراکوزان و تروپیک‌اسید جهت کنترلِ کیفی موردبررسی قرار گرفت. برای استانداردسازی تمام نمونه‌ها، مقادیر سطح زیرِ پیک هر متابولیت بر مقدار مارگاریک‌اسید تقسیم شده و ضرب در صد شد. برای آنالیز داده‌ها از وبسایت متابوآنالیست ورژن ۶ استفاده شد که آنالیز داده‌ها را براساس نرم‌افزارهای R و پایتون انجام می‌دهد. در این مطالعه براساس دو گروهی که موردمطالعه قرار گرفتند نمونه‌های محیط‌کشت حاصل از کشتِ گروه کنترل (گروه صفر) و محیط‌کشت حاصل از کشتِ بافت‌های اکتوپیک (گروه یک) کُدبندی شدند. پس از وارد کردن

[1] N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) with 1–10% Trimethylchlorosilane (TMCS)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

نمونه‌ها در فرمت CSV، فایل موردنظر در سامانه آپلود شد. میزان سطح معنی‌داری، اختلاف بین دو گروه براساس آنالیز آزمون T (t-tes) با انتخاب سطح معنی‌داری $p<0.05$ موردبررسی قرار گرفت. میزان همبستگی بین گروه‌ها با استفاده از آنالیزِ همبستگی پیرسون و میزان اعتبارسنجی بر اساس ضریبِ تعیین موردبررسی قرار گرفت. برای نمایش میزان ارتباط و همبستگیِ گروه‌ها نمودارهای PCA و OPLS-DA موردارزیابی قرار گرفته و رسم شد. برای بررسی متابولیسمِ سلولی با استفاده از پایگاه‌های دادهٔKEGG[1] و HMDB[2] برای تحلیل نقشهٔ مسیر متابولیسم[3] و آنالیز غنی‌سازی شدهٔ داده‌ها استفاده شد.

۳- نتایج

از مجموع ۱۱۶ متابولیت موردمطالعه ۲۴ مورد در نمونه‌های موردبررسی مقادیر بالای صفر داشتند و مابقی مقادیر صفر بودند. متابولیت‌هایی که مقدار آستانهٔ تغییر FC بیشتر از یک و log2(FC) مثبت داشتند، مقدار میانگینِ متابولیت در گروه اکتوپیک کمتر از گروه کنترل بود و در آستانهٔ تغییر پایین‌تر از یک با لگاریتمِ منفی، مقدار میانگین متابولیت در گروه اکتوپیک بیشتر بود. نتایج آنالیز t-test با سطح معنی‌داریِ $p<۰/۰۵$ بین دو گروه موردبررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز هم‌زمان FC و t-test به‌صورت هم‌زمان در جدول شمارهٔ یک به‌صورت آنالیز وولکانو نشان داده شده است. مقادیر متابولیت‌های فوماریک‌اسید و ۲-کتوگلوتاریک اسید به‌طور معنی‌داری در گروه اکتوپیک نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود. مقادیر متابولیت‌های ۴-هیدروکسی فنیل‌لاکتیک‌اسید، پالمیتیک‌اسید و لاکتیک‌اسید به‌طور معنی‌داری در گروه اکتوپیک افزایش یافته بود. مقادیر متابولیت‌هایی مثل پیرووییک‌اسید، سیتریک‌اسید و ۲-هیدروکسی‌ایزووالیریک‌اسید نیز به‌طور واضحی در گروه اکتوپیک نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود اما این افزایش معنی‌دار نبود و شاید نیاز به بررسی بیشتر در تعداد بیشتری نمونه داشته باشد. نمودار تغییرهای این متابولیت‌ها درپیوست ۲نیز ارائه شده است.

نقشهٔ حرارتی ابزاری کارآمد برای شناساییِ الگوها در داده‌های متابولیک است. این تحلیل می‌تواند به شناساییِ تفاوت‌های مهم بین کلاس‌ها، روشن کردن نقش متابولیت‌ها و ارائهٔ اطلاعات مهم برای پژوهش‌های آینده کمک نماید. نتیجهٔ خوشه‌بندی به‌صورت نقشهٔ حرارتی بین بیماران و آنالیت‌های اندازه‌گیری‌شده در شکل ۱ نشان داده شده است. اندازه‌گیریِ فاصله با استفاده از همبستگی و الگوریتم خوشه-بندی بوده است و با توجه به داده‌های تکمیلی، می‌توان روابط جالبی بین متابولیت‌ها و کلاس‌ها یافت. این اطلاعات می‌تواند به شناساییِ نشانگرهای بیولوژیکی یا متابولیکی برای هریک از کلاس‌ها کمک نماید و اطلاعات بینش‌دهنده‌ای برای پژوهش‌های بیشتر فراهم آورد.

تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA)[4] در شکل ۲ بخش الف، نمودار امتیاز دوبه‌دو بین مؤلفه‌های اصلی (PC)[5] را برای مقایسهٔ دو گروه کنترل و اکتوپیک ارائه می‌دهد. این مؤلفه‌ها ابعاد جدیدی از داده‌ها هستند که با هدف بررسی واریانس و اطلاعات موجود استخراج شده‌اند. هر مؤلفهٔ اصلی یک ترکیبِ خطی از متغیرهای اصلی محسوب می‌شود و ویژگی‌های مختلف و واریانس داده‌ها را در یک یا چند بُعد تعبیر می‌کند. ماتریس پراکندگی نشان‌دهندهٔ ارتباط و توزیع داده‌ها در پنج مؤلفهٔ اصلی (PC1 تا PC5) است. نتایج نشان می‌دهند که مؤلفه‌های اول و دوم قدرت تفکیک خوبی بین دو گروه دارند، درحالی‌که مؤلفه‌های پایین‌تر واریانس چندانی را توضیح نمی‌دهند. این تحلیل می‌تواند به طراحی روش‌های بهتر برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها کمک نماید.

در شکل ۲ بخش ب، نمودار Biplot تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای بررسی دو مؤلفهٔ اصلی (PC1 و PC2) ارائه شده است. در این نمودار، توزیع نقاط مربوط به دو گروه (برچسب‌های صفر و ۱) به‌وضوح نمایش داده شده است. مؤلفهٔ اول (PC1) حدود ۵۲/۵۳ درصد و مؤلفهٔ دوم (PC2) حدود ۴۴/۹۳ درصد از واریانسِ کلی داده‌ها را توضیح می‌دهند که نشان‌دهندهٔ تأثیرِ عمدهٔ این مؤلفه‌ها بر

[1] Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
[2] Human Metabolome Database
[3] Pathway Analysis
[4] Principal Component Analysis
[5] Principal Components

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

ساختار داده‌هاست. فلش‌های سیاه در نمودار، متغیرهای مؤثر (مانند اسیدهای مختلف) را که بر روی دو مؤلفه تأثیر دارند نمایش می‌دهند. طول و جهت این فلش‌ها کمک می‌کند تا متغیرهایی که در تفکیک گروه‌ها نقش بیشتری دارند تشخیص داده شوند. به‌عنوان مثال، اسید پیرووِیک و اسید لاکتیک به‌عنوان متغیرهایی که در جهت PC1 قرار دارند، تغییرهای قابل‌توجهی را در ساختار داده‌ها نشان می‌دهند. این نمودار به‌خوبی تفکیک بین دو گروه را نشان می‌دهند اما نمی‌تواند روابط دقیق بین متغیرهای وابسته و مستقل را تحلیل نماید.

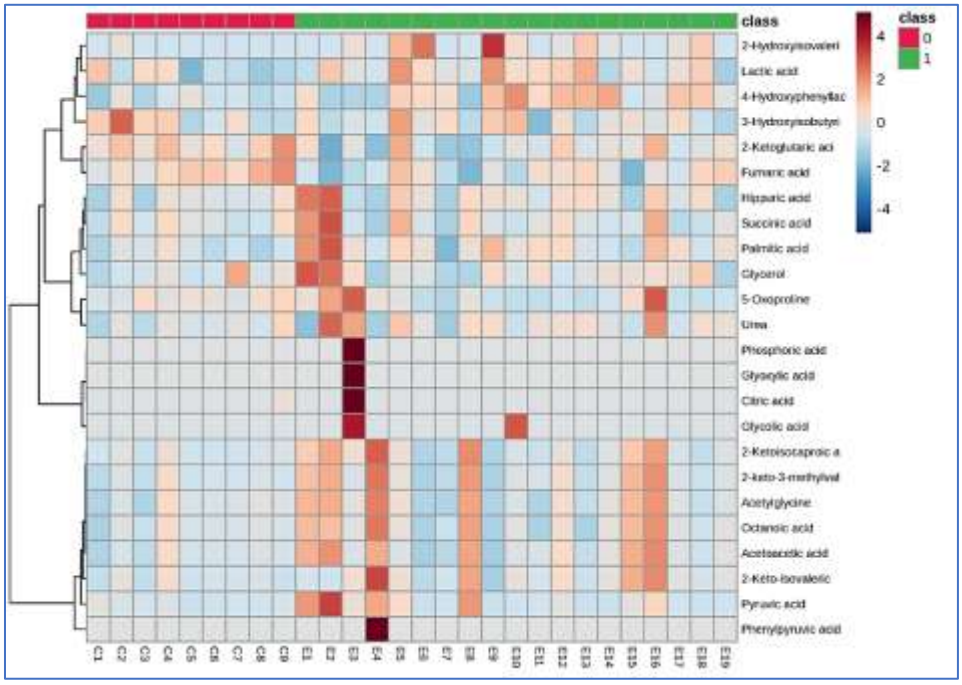
جدول ۱- آنالیز وولکانو، میزان تغییرهای آستانهٔ تغییر به‌همراه میزان سطح معنی‌داری بین دو گروه بافت اکتوپیک اندومتریوز و بافت اندومتر نرمال

No	Metabolit Name	FC	log2(FC)	raw.pval	-log10
1	Fumaric acid	1.557	0.639	0.007	2.142
2	2-Ketoglutaric acid	1.465	0.551	0.019	1.716
3	3-Hydroxyisobutyric acid	1.179	0.237	0.407	0.391
4	5-Oxoproline	1.040	0.057	0.829	0.081
5	Succinic acid	0.918	-0.124	0.576	0.240
6	Glycerol	0.901	-0.151	0.476	0.322
7	Palmitic acid	0.840	-0.252	0.038	1.421
8	Urea	0.831	-0.268	0.250	0.602
9	Phosphoric acid	0.826	-0.276	0.502	0.300
10	Phenylpyruvic acid	0.826	-0.276	0.502	0.300
11	Glyoxylic acid	0.826	-0.276	0.502	0.300
12	Lactic acid	0.717	-0.480	0.043	1.370
13	Hippuric acid	0.704	-0.507	0.275	0.561
14	Acetoacetic acid	0.696	-0.522	0.105	0.977
15	2-Ketoisocaproic acid	0.689	-0.538	0.136	0.865
16	2-keto-3-methylvaleric	0.676	-0.565	0.107	0.969
17	Glycolic acid	0.671	-0.575	0.336	0.474
18	Octanoic acid	0.641	-0.642	0.176	0.753
19	4-Hydroxyphenyllactic acid	0.625	-0.678	0.016	1.786
20	2-Keto-isovaleric acid	0.613	-0.705	0.135	0.870
21	Acetylglycine	0.603	-0.730	0.168	0.774
22	Pyruvic acid	0.394	-1.344	0.123	0.912
23	Citric acid	0.328	-1.607	0.559	0.252
24	2-Hydroxyisovaleric acid	0.175	-2.512	0.080	1.098

نمودار OPLS-DA (Scores Plot) در شکل ۳ بخش الف، نمودار OPLS-DA برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها و نمایش اطلاعات گروه‌ها به‌کار رفته است. محورهای X و Y نمایانگر مؤلفه‌های جدید طراحی‌شده برای تفکیک و پیش‌بینی هستند. این روش به بررسی روابط خطی بین متغیرها می‌پردازد و نقاط قوت و ضعف آن‌ها را در پیش‌بینی و دسته‌بندی مشخص می‌نماید. نمرات Orthogonal T-score و T-scoreبه تفکیک واضح‌تر بین گروه‌ها اشاره دارند. توضیح واریانس در OPLS-DA نسبت به PCA کمتر است (۱۰/۵ درصد و ۳۱/۴ درصد) که نشان‌دهندهٔ تمرکز بالای OPLS-DA بر تفاوت‌های گروه‌ها و توانایی بهتر آن در شناسایی و تفکیک داده‌ها می‌باشد. این روش قادر است اثرهای ناهنجاری‌ها و متغیرهای زائده را جدا کرده و بر متغیرهای کلیدی تأکید کند. در شکل ۳ بخش ب، نمودار اعتبار مدل OPLS-DA و

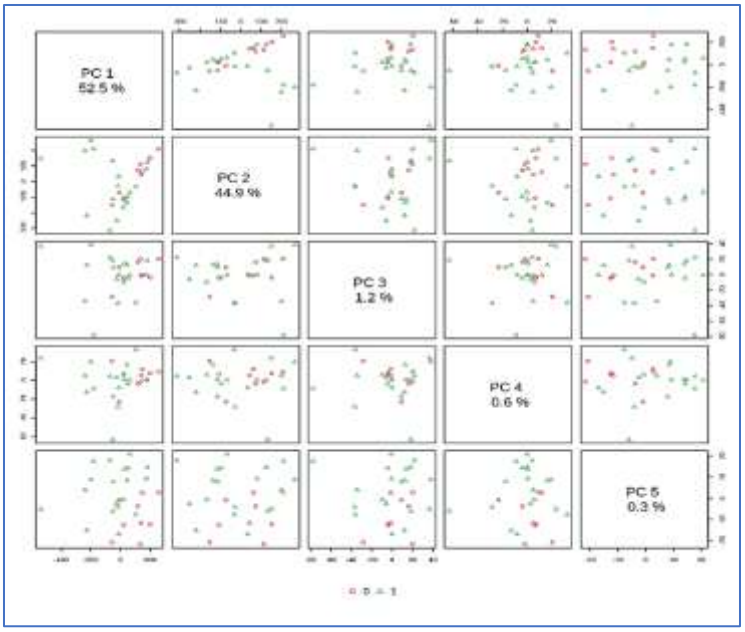
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

نتایجِ آزمون‌های مجازی‌سازی (Permutation Tests) را نشان می‌دهد. محور افقی نتایج آزمون‌های مجازی‌سازی شامل مقادیر R^2 و Q^2 را نمایش می‌دهد که به ارزیابیِ دقت و قدرت توجیه مدل کمک می‌کنند. محور عمودی حاوی فرکانس نتایج حاصل از آزمون‌های مجازی‌سازی است، به‌طوری‌که هر نوار نمایانگر تعداد دفعه‌های به‌دست‌آمده از مقادیر R^2 یا Q^2 است. مقدار R^2Y برابر با ۰/۷۸۲ نشان‌دهندهٔ درصد واریانس توضیح داده‌شده از متغیر وابسته (Y) توسط متغیرهای مستقل (X) در مدل OPLS-DA است. این مقدار به‌خوبی نشان می‌دهد که مدل توانسته واریانس را تبیین کند. آزمون p-value<0.001 معناداری آماری و غیرتصادفی بودن مدل را تأیید می‌کند. مقدار Q^2 برابر با ۰/۵۲۴، قدرت پیش‌بینی مدل را نشان می‌دهد که به دقت پیش‌بینی مقادیر جدید اشاره دارد و با p-value<0.001 معنادار است. نوارهای رنگی (آبی برای Perm R^2Y و صورتی برای Perm Q^2) توزیع مقادیر به‌دست‌آمده از آزمون‌های مجازی‌سازی را نشان می‌دهند. قرارگیریِ مقادیر R^2Y و Q^2 در خارج از نوار توزیعِ مجازی به اعتبار و پیش‌بینیِ بهتر مدل OPLS-DA نسبت به موارد تصادفی دلالت دارد. این نمودار به‌طور مشخص اعتبار و پایداریِ مدل OPLS-DA را نشان می‌دهد. با توجه به مقادیر بالا برای R^2Y، Q^2 و p-valueهای معنادار، مدل به‌صورت مستقل و کارآمد عمل می‌کند. نتایج به‌دست‌آمده از این مدل، شواهد قابل‌اعتنایی برای تأیید نتایج و یافته‌های پژوهش در مقاله را فراهم می‌آورد.

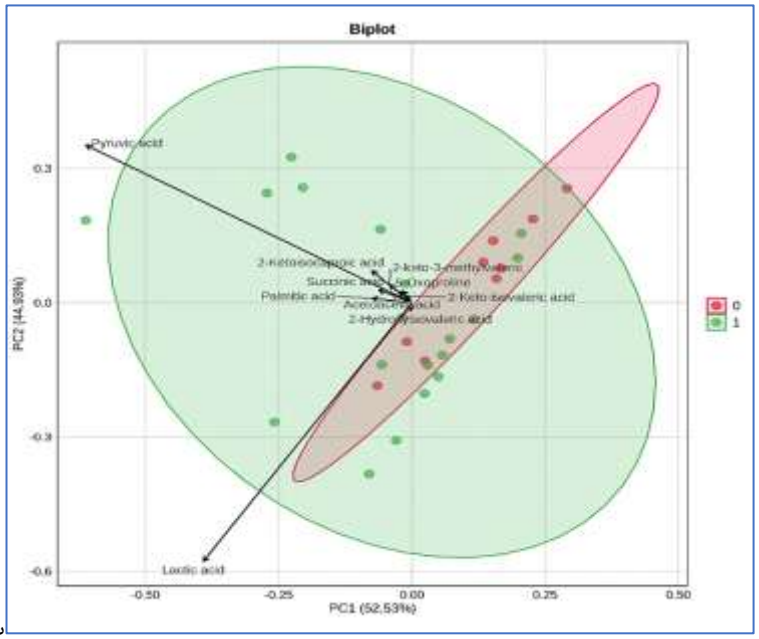


شکل ۱- این تصویر یک نقشهٔ حرارتی از غلظت متابولیت‌ها در نمونه‌های مختلف را نمایش می‌دهد (۲۴ متابولیت). هر سطر نمایانگر یک متابولیت خاص است و هر ستون نشان‌دهندهٔ یک نمونه (C1-9 نمایانگر گروه کنترل و E1-19 نمایانگر گروه اندومتریوز) است. مقادیر غلظت متابولیت‌ها با استفاده از رنگ‌ها مشخص می‌شوند. رنگ آبی: نشان‌دهندهٔ مقادیر پایین غلظت یا منفی است. رنگ قرمز: نمایانگر مقادیر بالا یا مثبت است. رنگ خاکستری: نشان‌دهندهٔ عدم‌وجود یا سطح متوسطی از متابولیت‌ها است. مقیاس رنگی: در سمت راست شکل، مقیاس رنگی نشان می‌دهد که مقادیر متابولیت‌ها به چه صورت تفکیک شده است. مقادیر مثبت (قرمز) و منفی (آبی) از ۲- تا ۲+ متغیر هستند. بالای نقشهٔ حرارتی: رنگ نوارِ بالایی، نمایانگر کلاس‌های مختلف نمونه‌ها است. قرمز: کلاس صفر یا گروه کنترل و سبز: کلاس ۱ نمایانگر گروه اندومتریوز است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]



الف

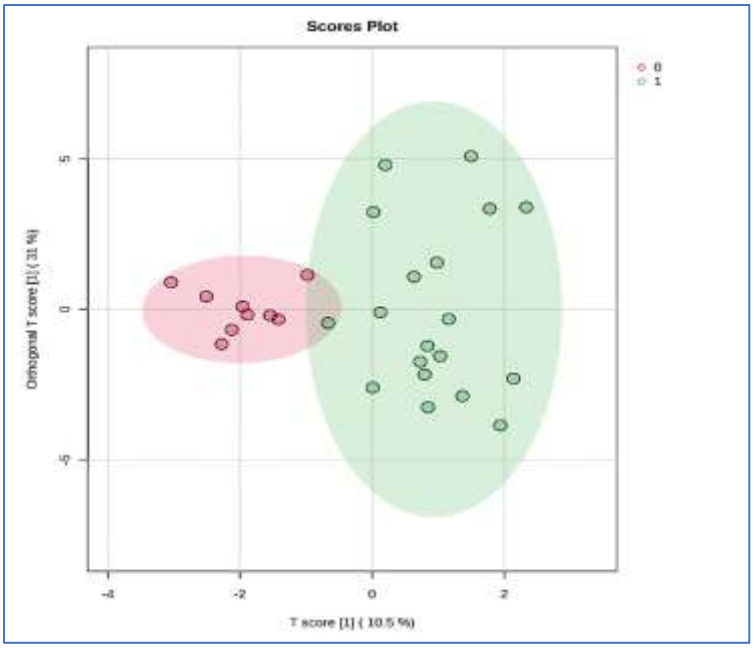


ب

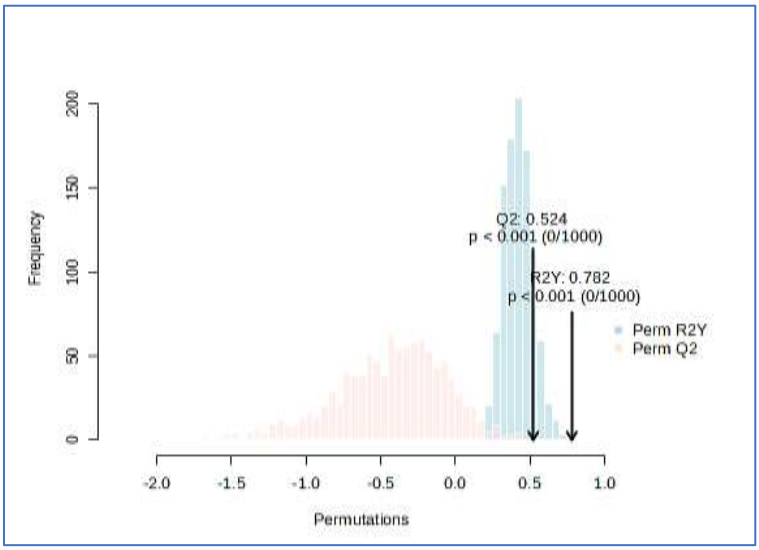
شکل ۲- نمودار الف: ماتریس پراکندگی (Pairwise Plot) که تجزیه‌وتحلیل همبستگی میان مؤلفه‌های اصلی PCA را نمایش می‌دهد. هر مربع نمایانگر نسبت بین دو مؤلفه است و درصد واریانس توضیح‌شده در وسط آن درج شده است. نقاط قرمز (برچسب ۰) و سبز (برچسب ۱) نمایانگر دو گروه مختلف هستند. مؤلفه‌های اول و دوم (PC1 و PC2) بیشترین واریانس را دارند و بهترین قابلیت تفکیک را بین داده‌ها فراهم می‌کنند. سایر مؤلفه‌ها (PC3 تا PC5) واریانس کمتری دارند و نقش مشهودی در تفکیک گروه‌ها ندارند.

نمودار ب: Biplot تحلیل PCA که توزیع نقاط مربوط به دو گروه (بیماران اندومتریوز و گروه کنترل) را در فضای دوبُعدی نمایش می‌دهد. درصد واریانس تبیین‌شده برای هر مؤلفه در کنار محورهای مربوطه قرار دارد. نقاط سبز و قرمز به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ گروه ۱ و صفر هستند. نواحیِ اطمینان (confidence ellipses) با رنگ‌های مربوط به هر گروه نشان داده‌شده و تداخل آن‌ها نشان‌دهندهٔ هم‌پوشانی نمونه‌هاست. فلش‌های سیاه متغیرهای اصلی را که تأثیر قابل‌توجهی بر PC1 و PC2 دارند نشان می‌دهند و در تفسیر ساختار داده‌ها کمک می‌کنند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]



الف

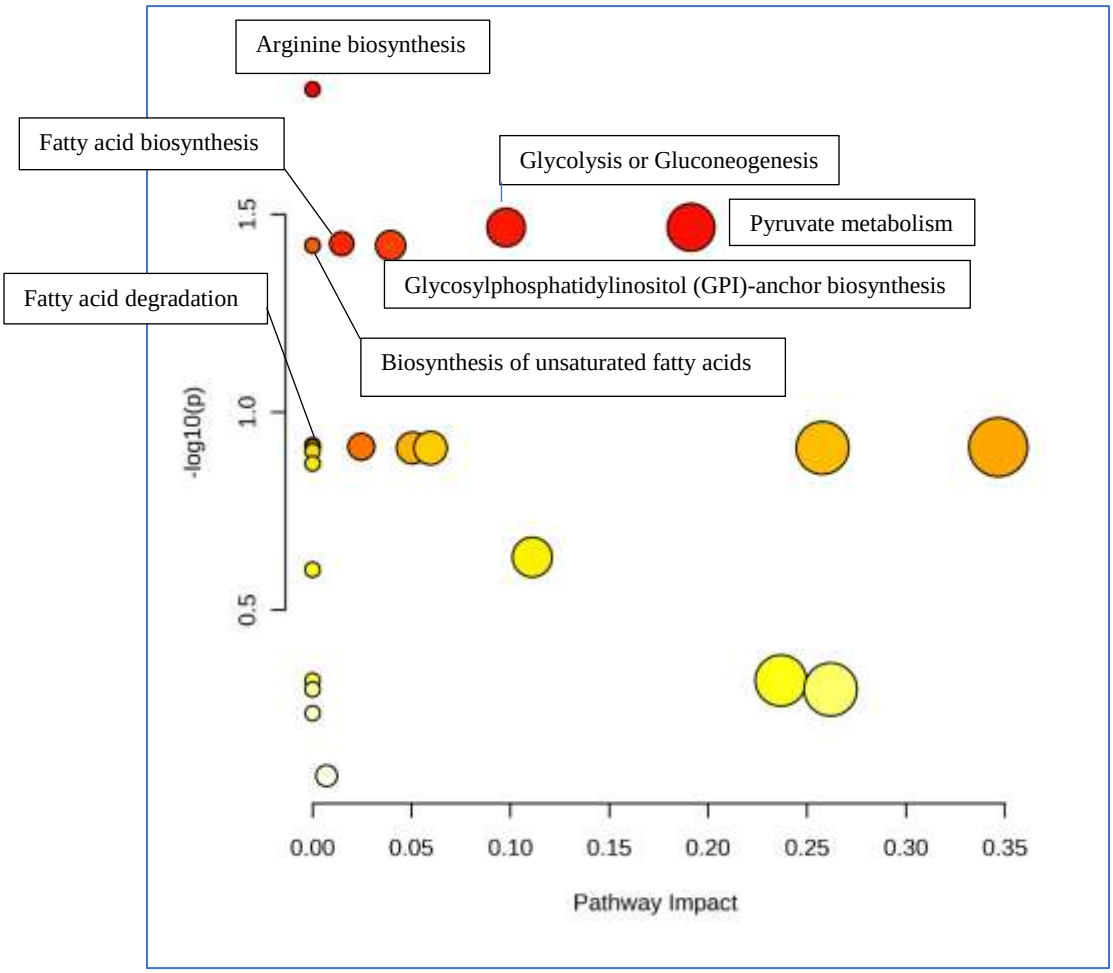


ب

شکل ۳- نمودار الف: نمودار نمرات (Scores Plot) تحلیل OPLS-DA. در این نمودار، نقاط مربوط به دو گروه مختلف (برچسب‌های صفر و ۱) به‌صورت دوئل نمایش داده شده‌اند. نوار سبز و قرمز اطراف هر گروه، نشان‌دهندهٔ تفکیک واضح بین گروه‌ها براساس مقادیر T-score و Orthogonal T-score است. محور X نمایانگر نمرهٔ 1 [T-score] (۱۰/۵ درصد) و محور Y نمایانگر نمرهٔ 1 [Orthogonal T-score] (۳۱/۴ درصد) است. نمودار ب: نمودار آزمون مجازی‌سازی (Permutation Test) برای مدل OPLS-DA. در این نمودار، توزیع مقادیر R^2Y و Q^2 در آزمون‌های مجازی‌سازی نشان داده شده است. مقدار R^2Y (۰/۷۸۲) و Q^2 (۰/۵۲۴) نمایانگر قدرت توضیح و پیش‌بینیِ مدل هستند و نشان می‌دهند که مدل از نظر آماری معنادار است ($p<0.001$). نوارهای رنگی نشان‌دهندهٔ توزیع مقادیر مجازی‌سازی برای R^2Y (آبی) و Q^2 (صورتی) هستند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

تحلیل مسیر با استفاده از پایگاه دادهٔ KEGG انجام شد تا نقش و ارتباط متابولیت‌ها و ژن‌ها را در فرایندهای بیولوژیکی شناسایی کنیم. این تحلیل به ما کمک می‌کند تا درک بهتری از شبکه‌های متابولیکی و بیوشیمیایی مرتبط با شرایط تجربی و بیماری‌های هدف به‌دست آوریم. براساس آنالیز مسیرهای متابولیسمِ سلولی با استفاده از کتابخانهٔ KEGG pathway که در سال ۲۰۲۳ به‌روزرسانی شده، مسیرهای متابولیسم که تغییر معنی‌دار داشتند در شکل ۴ نشان داده شده است. جدول حاصل از آنالیز مسیرِ متابولیسمی در پیوست ۳ آمده است.



شکل۴- تحلیل مسیر متابولیکی با توجه به اهمیت و تأثیر متابولیت‌ها براساس تجزیه‌وتحلیل مسیرهای متابولیسم سلولی با استفاده از پایگاه دادهٔ KEGG. تغییرهای مشاهده‌شده در تمامیِ مسیرهایی که نام آن‌ها ذکر شده است، از نظر آماری با سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ معنادار بوده‌اند. محور عمودی (-log10(p)): این محور نمایانگر سطح معناداری (p-value) هر مسیر است. مقادیر بالاتر نشان‌دهندهٔ معناداری بیشتر است. محور افقی (Pathway Impact): این محور تأثیر هر مسیر متابولیکی را براساس نقش آن در فرایندهای بیوشیمیایی مختلف نشان می‌دهد. حجم دایره‌ها: نشان‌دهندهٔ اهمیت یا تعداد شناسه‌های مرتبط با هر مسیر است. دایره‌های بزرگتر نشان‌دهندهٔ مسیرهای متابولیک با تأثیر بیشتر هستند. مسیرهای با رنگ قرمز حاکی از تأثیر و اهمیت بالای بیوسنتز آرژنین و بیوسنتز اسیدهای چرب هستند. این نمودار به شناساییِ مسیرهای متابولیکیِ کلیدی کمک می‌کند که ممکن است نقشی اساسی در پاتوفیزیولوژی بیماری داشته باشند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

۴- بحث

اندومتریوز با پاتوژنز پیچیده‌ای مشخص می‌شود که هنوز به‌طور کامل روشن نشده است. مکانیسم‌های مختلفی، از جمله تغییرهای هورمونی، ایمنی، فعالیت سلول‌های بنیادی، تغییرهای ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی برای توضیح توسعهٔ آن پیشنهاد شده است. علاوه‌بر این تأثیرهای محیطی و میکرومحیط متابولیک نیز ممکن است نقش‌های کمکی در پاتوفیزیولوژیِ اندومتریوز ایفا کنند (۱۶، ۱۷). در این مطالعه، با توجه به اینکه آنالیز تغییرهای متابولیک در مطالعهٔ *In-vitro* می‌توانند تغییرهای متابولیکی و فرایندهای متابولیسمِ سلولی را بدون دخالت سایر عوامل دخیل در فیزیولوژیِ طبیعیِ بدن نشان دهند، به بررسی تغییرهای متابولومیکسِ متابولیت‌ها و اسیدهای ارگانیک حاصل از متابولیسم سلولی در محیط‌کشت سلول‌های اکتوپیک بیماران مبتلا به اندومتریوز در مقایسه با گروه کنترل پرداخته شد. تحلیل متابولومیکس انجام‌شده در این مطالعه به نتایج قابل‌توجهی در تغییرهای متابولیکی اشاره دارد؛ به‌طوری‌که تغییرهای مشاهده‌شده در متابولیت‌ها می‌توانند بینش‌های جدیدی دربارهٔ نقش متابولیسمِ سلولی در پاتوفیزیولوژی اندومتریوز ارائه نیز دهند.

در نتایج حاصل از این مطالعه، همان‌طورکه در جدول شمارهٔ ۱ نشان داده شده است متابولیت‌هایی مانند ۲-کتوگلوتاریک‌اسید با (FC = ۱/۴۷) و فوماریک اسید با (FC = ۱/۵۶، در گروه اکتوپیک اندومتریوز، نسبت به گروه کنترل، به‌طور معنی‌داری (در هر دو با $p<۰/۰۵$) مقدار کمتری دارند. اسید آلفا-کتوگلوتاریک (AKG) یک ترکیب شیمیایی است که در متابولیسمِ سلولی نقش مهمی ایفا می‌کند. این اسید در فرایندهای متابولیک کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها دخالت دارد و به‌عنوان یک واسطهٔ کلیدی در تبدیل آمینواسیدها عمل می‌کند. AKG از طریق آنزیم‌های ترانس‌آمیناز و دِآمیناسیون به اسید گلوتامیک تبدیل می‌شود که برای سنتز پروتئین‌ها و دیگر مولکول‌های زیستی ضروری است. این ترکیب همچنین در چرخهٔ اوره به دفع نیتروژن کمک کرده و در متابولیسمِ نوکلئوتیدهای پورین هم نقش دارد. افزون‌بر این، AKG ارتباط نزدیکی با فرایندهای رشد، بلوغ و پیری دارد. همچنین، گلوتامین و آرژنین از طریق مسیرهای بیوشیمیاییِ مشخص به AKG تبدیل می‌شوند، که نشان‌دهندهٔ اهمیت این اسید در متابولیسمِ نیتروژن است (۱۸-۲۲). طبق آنالیزِ مسیرهای متابولیسمِ سلولی در این مطالعه یکی از معنی‌دارترین تغییرها در متابولیسمِ آرژنین و گلوتامات رخ داده است. اسید فوماریک، یک اسید دیکربوکسیلیک است که به‌طور طبیعی در متابولیسمِ سلولی وجود دارد و نقش کلیدی در مسیرهای متابولیک، به‌ویژه در چرخهٔ اسید سیتریک (مدار کربس) ایفا می‌کند. این چرخه در تولید انرژی (ATP) از موادغذایی اهمیت دارد و به‌این‌ترتیب اسید فوماریک در تأمین انرژیِ سلول‌ها نقش مستقیم دارد (۲۳، ۲۴). علاوه‌بر نقش انرژی‌زایی، فوماریک‌اسید در واکنش‌های سیگنال‌دهی سلولی نیز دخالت می‌کند و می‌تواند به تنظیم پاسخ‌های التهابی و آنتی‌اکسیدانی کمک نماید (۲۵، ۲۶). متابولیت‌های چرخهٔ تریکاربوکسیلیک (TCA) نیز در تنظیم سیگنالینگِ سلول‌های ایمنی مؤثر هستند، به‌طوری‌که سوکسینات و ایتاکنات به‌ترتیب نقش‌های پیش و ضدالتهابی دارند. فوماریک‌اسید به‌ویژه در فعال‌سازیِ ماکروفاژها تأثیر دارد و تولید سایتوکین‌هایی مانند IL-10 و اینترفرون‌های نوع I را تنظیم می‌کند (۲۷). درک اهمیت این اسید می‌تواند به توسعهٔ درمان‌های نوین در زمینه‌های مختلف پزشکی کمک نماید. سطوح غیرطبیعی آلفا-کتواسیدهایی مانند آلفا-کتوگلوتاریک که به‌عنوان واسطه‌هایی در چرخهٔ TCA عمل می‌کنند، با انواع اختلالات متابولیک مرتبط هستند. بنابراین، شناسایی و تعیین این ترکیب‌ها در مایعات بیولوژیکی می‌تواند در غربالگری، تشخیص و نظارت بر مجموعه‌ای از بیماری‌ها مفید باشد (۲۸).

از مهم‌ترین متابولیت‌های کاهش‌یافته در بافت اکتوپیک می‌توان به این موارد اشاره نمود که هرچند میزان تغییر در این متابولیت‌ها معنی‌دار نبود که شاید نیاز به مطالعه بر روی نمونه‌های بیشتر داشته باشند.

مقادیر متابولیت‌هایی مانند پیرووییک‌اسید، سیتریک‌اسید و طبق نتایج گزارش‌شده در جدول شمارهٔ ۱، آن دسته از مقادیر متابولیت‌هایی که FC کمتر از یک و log2(FC) منفی دارند، متابولیت‌های ۴-هیدروکسی‌فنیل‌لاکتیک‌اسید (۰/۶۲

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

= FC) و پالمیتیک‌اسید (FC = ۰/۸۴) و لاکتیک‌اسید (FC = ۰/۷۱) همگی با $p<۰/۰۵$ به‌طور معنی‌داری در گروه اکتوپیک افزایش یافته بود. ۴-هیدروکسی‌فنیل‌لاکتیک‌اسید به‌عنوان یک متابولیت ناشی از تیروزین شناخته می‌شود (۲۹) و افزایش آن در بافت‌های اکتوپیک می‌تواند به‌معنای افزایش تجزیهٔ پروتئین‌ها یا اختلال در متابولیسمِ تیروزین باشد. براساس نتایج این مطالعه، تغییرهای معنی‌داری در متابولیسمِ تیروزین مشاهده شده است. این متابولیت خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و می‌تواند تولید گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش دهد (۳۰). با توجه به التهابِ مزمن مرتبط با اندومتریوز، افزایش ۴-هیدروکسی‌فنیل‌لاکتیک اسید ممکن است به‌عنوان واکنش سلول‌ها به استرس اکسیداتیو و التهاب تعبیر شود. این افزایش می‌تواند به‌عنوان نشان‌دهندهٔ وضعیت متابولیکی مهم و التهاب مزمن درنظر گرفته شود و به‌عنوان بیومارکری در تشخیص و مدیریت اندومتریوز و ارزیابی شدت التهاب و وضعیت متابولیک بافت‌های اکتوپیک مفید باشد. بنابراین، درک بهتر از ۴-هیدروکسی‌فنیل‌لاکتیک‌اسید می‌تواند به توسعهٔ روش‌های درمانیِ جدید و شناخت بیشتر از پاتوفیزیولوژیِ اندومتریوز کمک کند.

اسید پیرووویک (FC = ۰/۳۹) و اسید سیتریک (FC = ۰/۳۳) در گروه کنترل با کاهش زیاد ولی غیرمعنی‌داری همراه بودند که ممکن است به ناتوانیِ سلول‌های اکتوپیک در متابولیزه کردن این ترکیب‌ها برای تولید انرژی اشاره کند و نتیجهٔ استرس متابولیکی یا آسیب‌های مرتبط با اندومتریوز باشد. افزایش این متابولیت‌ها می‌تواند نشانه‌ای از تخریب نسوج یا استرسِ متابولیکی در بافت‌های اکتوپیک باشد. به‌ویژه، افزایش اسید پیرووویک ممکن است به فعالیت بالای گلیکولیز مرتبط باشد زیرا سلول‌ها در تلاش‌اند تا انرژی را بدون اکسیژن تولید کنند. در این شرایط، پیرووات بیشتر تولید شده و ممکن است به اسید لاکتیک یا ترکیب‌های دیگر تبدیل شود. همچنین، با توجه به افزایشِ معنی‌دار سطح اسید لاکتیک (FC = ۰/۷۱)، در این مطالعه در پیِ افزایش اسید پیرووویک، میزان لاکتیک نیز در بافت اکتوپیک افزایش یافته است.

افزایش هم‌زمان اسید سیتریک می‌تواند نشان‌دهندهٔ اختلال در چرخهٔ کربس باشد. درصورتی‌که آنزیم‌های لازم در این چرخه به‌درستی عمل نکنند یا کمبود کوفاکتور وجود داشته باشد، سطح اسید سیتریک افزایش می‌یابد و این امر می‌تواند منجر به اثرهای متابولیکی نامطلوب شود. نتایج آنالیز مسیرهای متابولیسمی در این مطالعه، نشان‌دهندهٔ اختلال معنی‌دار در متابولیسمِ چرخهٔ سیترات و TCA بودند. همچنین، شرایط استرس اکسیداتیو که در داده‌ها نشان داده شد، می‌تواند به تولید بیشتر اسید پیرووویک و افزایش سطح اسید سیتریک منجر شود. در این وضعیت، سلول‌ها تلاش می‌کنند انرژیِ بیشتری تولید کنند تا با آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد مقابله نمایند.

علاوه‌بر مقادیر اسید پیرووویک و اسید سیتریک، مقدار ۲-هیدروکسی‌ایزووالیریک‌اسید نیز به‌طور واضحی در گروه اکتوپیک (FC = ۰/۱۷) نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود اما این افزایش معنی‌دار نبود. افزایش مقدار ۲-هیدروکسی‌ایزووالریک‌اسید که از متابولیت‌های والین، لوسین و ایزولوسین به‌عنوان آمینواسیدهای شاخه‌دار تعریف می‌شوند (۳۱) نیز نشان‌دهندهٔ افزایش نرخ کاتابولیک در محیط‌کشت است.

نتایج آنالیز مسیرهای متابولیکی در این مطالعه نشان‌دهندهٔ وجود تغییرهای معنی‌دار در چندین مسیر متابولیکی کلیدی بین دو گروه است که می‌تواند به درک بهتر پاتوژنز اندومتریوز کمک نماید. داده‌ها حاکی از اهمیت ویژهٔ مسیرهایی نظیر سنتز آرژینین هستند. آرژینین در فرایندهای مربوط به تولید انرژی و تنظیم پاسخ‌های التهابی و ایمنی نیز نقش دارند. بنابراین اختلال در متابولیسم این اسیدهای آمینه با اختلال در فرایند تأمین انرژی به‌روش هوازی همراه خواهد بود. مسیر سنتز آرژینین به تولید نیتریک‌اکسید مرتبط است که نقش مهمی در التهاب دارد. تأثیر نیتریک‌اکسید و اختلال در متابولیسم آرژنین در فرایندهای پویا مانند پاسخ‌های التهابی و فیزیولوژیک ممکن است با علائم بالینی بیماران مبتلا به اندومتریوز ارتباط مستقیمی داشته باشد (۳۲).

در این مطالعه، اختلالات معنی‌داری در متابولیسم پیرووات نیز مشاهده شده است. این یافته‌ها می‌توانند نشانه‌ای از اختلال

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

در تعادل متابولیکی در سلول‌های اکتوپیک بافت اندومتریوز باشند. این درحالی است که مطالعه‌های زیادی اختلال در سطح پیرووات و متابولیسم پیرووات را در بیماران اندومتریوز گزارش کرده‌اند (۳۳، ۳۴). طبق آنالیز داده‌ها، اختلال در متابولیسم گلیکولیز و گلوکونئوژنز نیز به‌طور معنی‌داری دیده شد. این اختلال در مطالعه‌های دیگر متعددی نیز گزارش شده بود (۳۳-۳۵). در این مطالعه، اختلال معنی‌داری در متابولیسم اسیدهای چرب در بسیاری از سطوح از جمله بیوسنتز اسیدهای چرب غیراشباع، بیوسنتز اسیدهای چرب، تخریب اسیدهای چرب، افزایش طول اسیدهای چرب و حتی اختلال در بیوسنتز لنگر گلیکوزیل‌فسفاتیدیل‌اینوزیتول (GPI) دیده شد. این تغییرها با مطالعه‌های متعددی که در سطح بررسی متابولومیکس اندومتریوز، سلول‌های آسترومال اندومتریال و سرطان‌های اندومتر انجام شده مطابقت داشت (۳۶-۴۱). متابولیت‌هایی که در این پژوهش شناسایی شدند می‌توانند نشان‌دهندهٔ تغییرهای قابل‌توجهی در مسیرهای متابولیک کلیدی، از جمله مسیرهای تولید انرژی، سنتز اسیدهای چرب، و تنظیم اکسیداسیون باشند. در کل، اختلال در این مسیرها می‌تواند به چالش‌های بالینی در مدیریت اندومتریوز دامن بزند و بر شناخت بیشتر از پاتوفیزیولوژی آن کمک نماید.

۵- نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تغییرهای معناداری در مسیرهای متابولیکیِ بیمارانِ مبتلا به اندومتریوز وجود دارد که می‌تواند به‌عنوان نشانه‌های بیولوژیکیِ جدید برای تشخیص و درمانِ هدفمند کاربرد داشته باشد. استفاده از رویکردهای متابولیک در درمان اندومتریوز و مداخلات غذایی یا دارویی بر روی این مسیرها می‌تواند علائم و کیفیت زندگی بیماران را بهبود بخشد. این تحقیق بر نقش تحلیلِ متابولومیکس در درک تغییرهای متابولیکی بافت اندومتریوز تأکید می‌کند و ممکن است مسیرهای بالقوه‌ای برای درمان‌های هدفمند در آینده ارائه دهد. بااین‌حال، پژوهش‌های آینده باید بر درک عمیق‌تر این مسیرها و تأثیرهای آن‌ها بر علائم بالینی تمرکز کند. بررسی‌های بیشتر با تعداد نمونه‌های وسیع‌تر برای تأیید نتایج و شناخت بهتر این تغییرها ضروری است. این داده‌ها نشان می‌دهند که بافت‌های اکتوپیک در شرایط اندومتریوز دچار تغییرهای معناداری در متابولیت‌ها می‌شوند که می‌توانند منجر به مشکلات متابولیکی و اختلال در عملکردِ طبیعیِ بافت‌ها گردند. بنابراین، توجه به این تغییرها می‌تواند راهنمایی برای شناساییِ اهداف متابولیک مناسب در مدیریت اندومتریوز باشد و نیاز به تحلیل‌های عمیق‌تر برای آشکار ساختن مکانیسم دقیق این تغییرها و تأثیر آن‌ها بر پاتوفیزیولوژی اندومتریوز را موردتأکید قرار می‌دهد. از نقاط قوت این مطالعه بررسیِ متابولیسمِ مستقیمِ سلول‌های اکتوپیک اندومتریوز بدون دخالت عوامل مداخله‌گر بود.

۶- ملاحظات اخلاقی:

این مطالعه مطابق با اعلامیه هلسینکی و استانداردهای اخلاقی بین‌المللی اجرا شد. رضایت‌نامه آگاهانه کتبی از تمامی شرکت‌کنندگان اخذ گردید و اطلاعات شخصی آن‌ها به صورت محرمانه حفظ شد.

۷- قدردانی

از مراکز تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی تهران صمیمانه قدردانی می‌شود که با همکاری کامل در اجرای مراحل عملی و آزمایشگاهی پروژه یاری رساندند. همچنین از خانم دکتر آمنه حق‌گو به دلیل نقش کلیدی در انتخاب و جمع‌آوری نمونه‌های بیماران سپاسگزاریم.

۸- تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تعارض منافعی مالی یا غیرمالی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

۹- سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان در طراحی مطالعه، جمع‌آوری و تحلیل داده‌ها، نگارش اولیه و بازبینی مقاله مشارکت فعال داشته و نسخه نهایی را تأیید نموده‌اند.

۱۰- کد اخلاق:

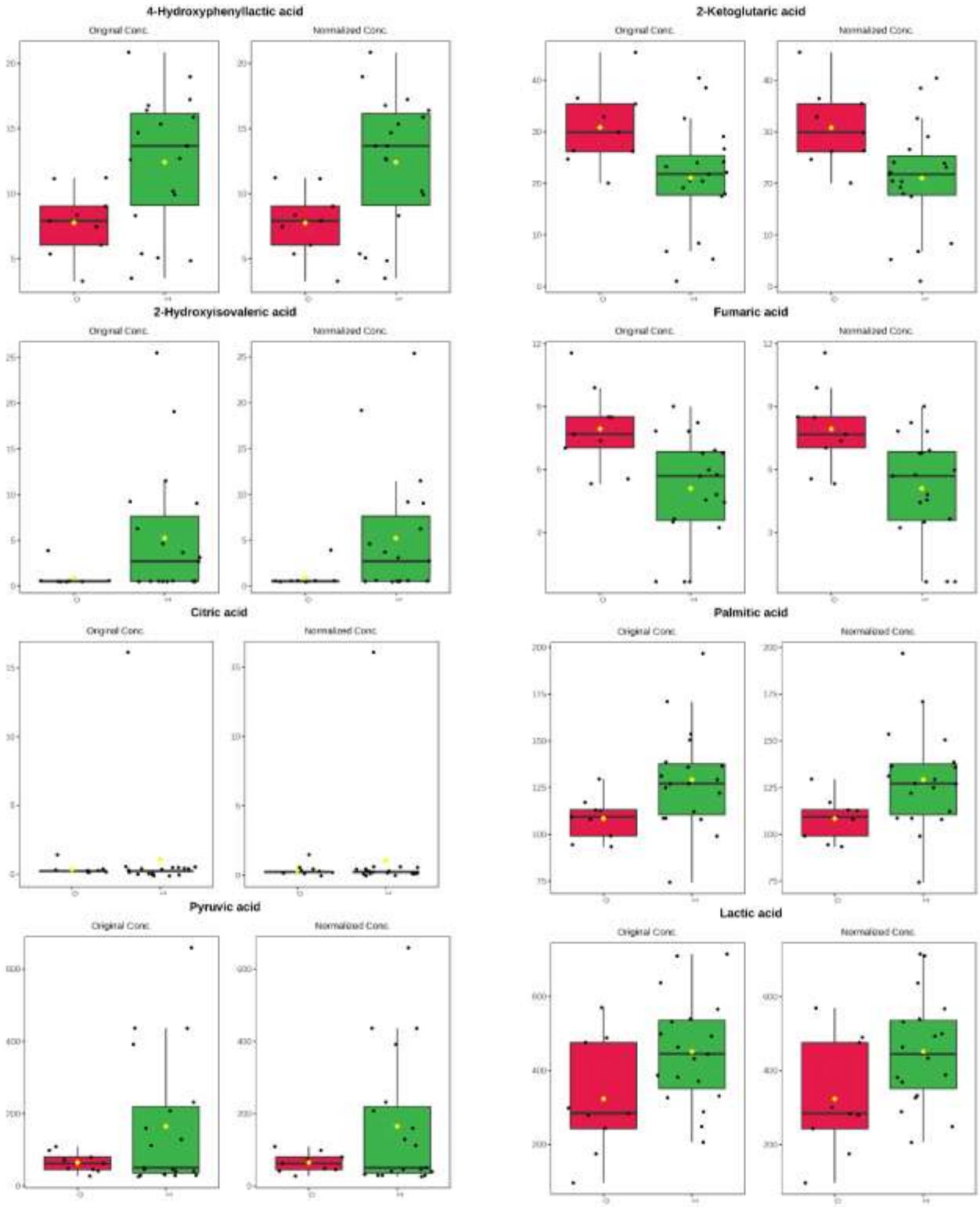
این مطالعه پس از تایید در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران با شناسه IR.TUMS.VCR.REC.1398.406 آغاز شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

جدول پیوست۱: تعداد ۱۱۶ متابولیت که توسط کمپانی سازنده دستگاه به عنوان پنل تشخیصی برای بررسی اختلالات متابولیک و اختلالات ارگانیک اسید ستاپ شده به روش SIM مورد ارزیابی قرار گرفت.

NO	Metabolit Name	NO	Metabolit Name	NO	Metabolit Name
1	Lactic acid	**41**	Mevalonolactone	**81**	N-Acetylaspartic acid
2	2-Hydroxyisobutyric acid	**42**	mevalonolactone	**82**	2-Hydroxyadipic acid
3	Caproic acid	**43**	Isobutyrylglycine	**83**	Octenedioic acid
4	Glycolic acid	**44**	2-propyl-3-hydroxy-pentanoic acid	**84**	3-Hydroxyadipic acid
5	Glyoxylic acid	**45**	Mesaconic acid	**85**	Suberic acid
6	Oxalic acid	**46**	Glutaric acid	**86**	2-Keto-adipic
7	2-Hydroxybutyric acid	**47**	3-Methylglutaric acid	**87**	Aconitic acid
8	3-Hydroxypropionic acid	**48**	2-Propyl-3-ketopentanoic acid	**88**	Orotic acid
9	Pyruvic acid	**49**	Propionylglycine	**89**	Vanillic-2
10	Valproic acid	**50**	2-Deoxytetronic acid	**90**	Homovanillic acid
11	3-Hydroxybutyric acid	**51**	Butyrylglycine	**91**	Azelaic acid
12	3-Hydroxyisobutyric acid	**52**	3-Methylglutaconic acid	**92**	Isocitric acid
13	2-Hydroxyisovaleric acid	**53**	Glutaconic acid	**93**	Citric acid
14	2-Methyl-3-hydroxybutyric acid	**54**	succinylacetone	**94**	Hippuric acid
15	Malonic acid	**55**	decanoic-1	**95**	Homogentisic acid
16	3-Hydroxyisovaleric acid	**56**	2-Propyl-5-OH-pentanoic	**96**	Methylcitric acid
17	2-Keto-isovaleric acid	**57**	isovalerylglycine-1	**97**	3-(3-Hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionic acid
18	Methylmalonic acid	**58**	Malic acid	**98**	3-Hydroxyoctenedioic acid
19	2-ethyl-3-OH-propionic	**59**	Adipic acid	**99**	3-Hydroxysuberic acid
20	Urea	**60**	Phenyllactic acid	**100**	Vanilmandelic acid
21	4-Hydroxybutyric acid	**61**	Isovalerylglycine	**101**	Sebacic acid
22	2-Hydroxyisocaproic acid	**62**	2-Hexenedioic acid	**102**	Decadienedioic acid
23	3-Hydroxyvaleric acid	**63**	5-Oxoproline	**103**	4-Hydroxyphenyllactic acid
24	2-Hydroxy-3-Methylvaleric acid	**64**	Thiodiglycolic acid	**104**	4-Hydroxyphenylpyruvic acid
25	Benzoic acid	**65**	3-Methyladipic acid	**105**	2-Hydroxyhippuric acid
26	Acetoacetic acid	**66**	2-Propyl-glutaric acid	**106**	3-Indoleacetic acid
27	Octanoic acid	**67**	7-Hydroxoctanoic acid	**107**	Palmitic acid
28	2-keto-3-methylvaleric	**68**	5-Hydroxy-2-furoic acid	**108**	2-Hydroxysebacic acid
29	Glycerol	**69**	Tiglylglycine	**109**	3-Hydroxysebacic acid
30	Phosphoric acid	**70**	3-Methylcrotonoylglycine	**110**	Dodecanedioic acid
31	Acetylglycine	**71**	3-Hydroxyglutaric acid	**111**	N-Acetyltyrosine
32	Ethylmalonic acid	**72**	2-Hydroxyglutaric acid	**112**	Uric acid
33	2-Ketoisocaproic acid	**73**	Pimelic acid	**113**	3,6-Epoxydodecanedioic acid
34	Phenylacetic acid	**74**	3-Hydroxy-3-methylglutaric acid	**114**	Suberylglycine
35	Maleic acid	**75**	3-Hydroxyphenylacetic acid	**115**	3-hydroxydodecanedioic acid
36	Succinic acid	**76**	4-Hydroxybenzoic acid	**116**	3,6-Epoxytetradecanedioic acid
37	Methylsuccinic acid	**77**	2-Ketoglutaric acid		
38	Glyceric acid	**78**	4-Hydroxyphenylacetic acid		
39	Fumaric acid	**79**	Hexanoylglycine		
40	Uracil	**80**	Phenylpyruvic acid		

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]



پیوست ۲: نمودار تغییر متابولیت های بررسی شده در مقاله

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

جدول پیوست ۳: جدول مسیرهای متابولیسمی حاصل از آنالیز داده ها

Pathway	Total Cmpd	Hits	Raw p	-log10	Holm adjust	FDR	Impact
Arginine biosynthesis	14	3	0.015287	1.8157	0.41276	0.12798	0
Pyruvate metabolism	23	3	0.034112	1.4671	0.8869	0.12798	0.19137
Glycolysis or Gluconeogenesis	26	2	0.034142	1.4667	0.8869	0.12798	0.09785
Fatty acid biosynthesis	47	2	0.037517	1.4258	0.90041	0.12798	0.01473
Fatty acid degradation	39	2	0.037919	1.4211	0.90041	0.12798	0
Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis	32	1	0.037921	1.4211	0.90041	0.12798	0.03947
Fatty acid elongation	39	1	0.037921	1.4211	0.90041	0.12798	0
Biosynthesis of unsaturated fatty acids	36	1	0.037921	1.4211	0.90041	0.12798	0
Lipoic acid metabolism	28	2	0.12114	0.91671	1	0.18813	0
Tyrosine metabolism	42	3	0.12225	0.91274	1	0.18813	0.02463
Cysteine and methionine metabolism	33	1	0.12259	0.91155	1	0.18813	0
Glycine, serine and threonine metabolism	33	2	0.12259	0.91155	1	0.18813	0
Arginine and proline metabolism	36	2	0.12259	0.91155	1	0.18813	0
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	32	3	0.1226	0.9115	1	0.18813	0.34667
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	28	5	0.12309	0.90977	1	0.18813	0.05048
Citrate cycle (TCA cycle)	20	5	0.12309	0.90977	1	0.18813	0.25782
Valine, leucine and isoleucine degradation	40	5	0.12321	0.90936	1	0.18813	0.05963
Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	8	3	0.12542	0.90163	1	0.18813	0
Pantothenate and CoA biosynthesis	20	1	0.1348	0.8703	1	0.19156	0
Butanoate metabolism	15	3	0.23242	0.63373	1	0.31376	0.11111
Purine metabolism	70	1	0.2499	0.60224	1	0.3213	0
Glycerolipid metabolism	16	1	0.47629	0.32213	1	0.54178	0.23676
Galactose metabolism	27	1	0.47629	0.32213	1	0.54178	0
Phenylalanine metabolism	8	1	0.50165	0.2996	1	0.54178	0.2619
Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	4	1	0.50165	0.2996	1	0.54178	0
Propanoate metabolism	22	1	0.57597	0.2396	1	0.59812	0
Glutathione metabolism	28	1	0.82894	0.081476	1	0.82894	0.00709

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

۱۱- منابع

1.Tomassetti C, Johnson NP, Petrozza J, Abrao MS, Einarsson JI, Horne AW, et al. An international terminology for endometriosis, 2021(). Hum Reprod Open. 2021;2021(4):hoab029.

2.Zondervan KT, Becker CM, Missmer SA. Endometriosis. N Engl J Med. 2020;382.۵۶-۱۲۴۴:(۱۳)

3.Appleyard CB, Flores I, Torres-Reverón A. The link between stress and endometriosis: from animal models to the clinical scenario. Reproductive Sciences. 2020;27(9):1675-86.

4.Horne AW, Saunders PTK. SnapShot: Endometriosis. Cell. 2019;179.-۱۶۷۷:(۷)e1.

5.Armstrong GM, Maybin JA, Murray AA, Nicol M, Walker C, Saunders PT, et al. Endometrial apoptosis and neutrophil infiltration during menstruation exhibits spatial and temporal dynamics that are recapitulated in a mouse model. Scientific reports. 2017;7(1):1-14.

6.Ali Mohebbi Vh, Masoumeh majidi zolbin, Reza Aflatoonian. Histopathologic Evaluation of the Inflammatory Factors and Stromal Cells in the Endometriosis Lesions: A case-control study , inpress. International Journal of Reproductive BioMedicine. 2022.

7.Coller HA. Is cancer a metabolic disease? The American journal of pathology. 2014;184(1):4-17.

8.Peng B, Li H, Peng X-X. Functional metabolomics: from biomarker discovery to metabolome reprogramming. Protein & Cell. 2015;6(9):628.۳۷-

9.Marciano DP, Snyder MP. Personalized metabolomics. High-Throughput Metabolomics: Methods and Protocols. 2019:447-56.

10.Goulielmos GN, Matalliotakis M, Matalliotaki C, Eliopoulos E, Matalliotakis I, Zervou MI. Endometriosis research in the-omics era. Gene. 2020;741:144545.

11.KLUPCZY—SKA A, DEREZI—SKI P, Kokot ZJ. Metabolomics in medical sciences ń trends, challenges and perspectives. Acta poloniae pharmaceutica. 2015:629.

12.Yang H, Lau WB, Lau B, Xuan Y, Zhou S, Zhao L, et al. A mass spectrometric insight into the origins of benign gynecological disorders. Mass spectrometry reviews. 2017;36(3):450-70.

13.Nicholson JK, Lindon JC. Metabonomics. Nature. 2008;455(7216):1054-6.

14.Markley JL, Brüschweiler R, Edison AS, Eghbalnia HR, Powers R, Raftery D, Wishart DS. The future of NMR-based metabolomics. Current opinion in biotechnology. 2017;43:34-40.

15.Nematian SE, Mamillapalli R, Kadakia TS, Majidi Zolbin M, Moustafa S, Taylor HS. Systemic inflammation induced by microRNAs: endometriosis-derived alterations in circulating microRNA 125b-5p and Let-7b-5p regulate macrophage cytokine production. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2018;103(1):64-74.

16.Laganà AS, Garzon S, Götte M, Viganò P, Franchi M, Ghezzi F, Martin DC. The pathogenesis of endometriosis: molecular and cell biology insights. International journal of molecular sciences. 2019;20(22):5615.

17.Monnin N, Fattet AJ, Koscinski I. Endometriosis: update of pathophysiology,(epi) genetic and environmental involvement. Biomedicines. 2023;11(3):978.

18.Gavran M, Gantner V. The metabolism of amino acids. 2023.

19.Legendre F, MacLean A, Appanna V, Appanna V. Biochemical pathways to α-ketoglutarate, a multi-faceted metabolite. World Journal of Microbiology and Biotechnology.۱۲۳:(۸)۳۶;۲۰۲۰ .

20.Moedas MF, Simões RJ, Silva MF. Mitochondrial targets in hyperammonemia: Addressing urea cycle function to improve drug therapies. Biochemical Pharmacology. 2024:116034.

21.Liu S, Yang J, Wu Z. The regulatory role of α-ketoglutarate metabolism in macrophages. Mediators of inflammation. 2021;2021(1):5577577.

22.Yanamadala V. Amino Acid Metabolism. Essential Medical Biochemistry and Metabolic Disease: A Pocket Guide for Medical Students and Residents: Springer; 2024. p. 91-123.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

23.Haddad A, Mohiuddin SS. Biochemistry, citric acid cycle. StatPearls [internet]: StatPearls Publishing; 2023.

24.Sebastian J, Hegde K, Kumar P, Rouissi T, Brar SK. Bioproduction of fumaric acid: An insight into microbial strain improvement strategies. Critical reviews in biotechnology. 2019;39(6):817-34.

25.He S, Yin Q, Xiong Y, Liu D, Hu H. Effects of dietary fumaric acid on the growth performance, immune response, relative weight and antioxidant status of immune organs in broilers exposed to chronic heat stress. Czech Journal of Animal Science. 2020;65.(۳)

26.Sánchez-García FJ, Pérez-Hernández CA, Rodríguez-Murillo M, Moreno-Altamirano MMB. The role of tricarboxylic acid cycle metabolites in viral infections. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2021;11:725043.

27.Peace CG, O'Carroll SM, O'Neill LA. Fumarate hydratase as a metabolic regulator of immunity. Trends in Cell Biology. 2024;34(6):442-50.

28.Makahleh A, Ben-Hander GM, Saad B. Determination of α-ketoglutaric and pyruvic acids in urine as potential biomarkers for diabetic II and liver cancer. Bioanalysis. 2015;7(6):713-23.

29.Kasperek MC, Galeas AV, Caetano-Silva ME, Xie Z, Ulanov A, La Frano M, et al. Microbial aromatic amino acid metabolism is modifiable in fermented food matrices to promote bioactivity. Food Chemistry. 2024;454:139798.

30.Rosas HD, Doros G, Bhasin S, Thomas B, Gevorkian S, Malarick K, et al. A systems-level "misunderstanding": the plasma metabolome in Huntington's disease. Annals of clinical and translational neurology. 2015;2(7):756-68.

31.Inoue N, Nishida Y, Harada E, Sakai K, Narahara H. GC-MS/MS analysis of metabolites derived from a single human blastocyst. Metabolomics. 2021;17:1-7.

32.Oyovwi MO, Atere AD. Exploring the medicinal significance of l-Arginine mediated nitric oxide in preventing health disorders. European Journal of Medicinal Chemistry Reports. 2024;12:100175.

33.Lu J, Ling X, Liu L, Jiang A, Ren C, Lu C, Yu Z. Emerging hallmarks of endometriosis metabolism: a promising target for the treatment of endometriosis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-molecular Cell Research. 2023;1870(1):119381.

34.Huang S, Huang X, Wen X, Liu X, Ma H, Xie L, et al. Enhanced glycolysis in the myometrium with ectopic endometrium of patients with adenomyosis: a preliminary study. Gynecological Endocrinology. 2024;40(1):2332411.

35.Collie B, Troisi J, Lombardi M, Symes S, Richards S. The Current Applications of Metabolomics in Understanding Endometriosis: A Systematic Review. Metabolites. 2025;15(1):50.

36.Turathum B, Gao E-M, Grataitong K, Liu Y-B, Wang L, Dai X, Chian R-C. Dysregulated sphingolipid metabolism and autophagy in granulosa cells of women with endometriosis. Frontiers in Endocrinology. 2022;13:906570.

37.Liu M, Peng R, Tian C, Shi J, Ma J ,Shi R, et al. Effects of the gut microbiota and its metabolite short-chain fatty acids on endometriosis. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2024;14:1373004.

38.Marcinkowska A, Górnicka M. The role of dietary fats in the development and treatment of endometriosis. Life. 2023;13(3):654.

39.Yamashita Y, Nishiumi S, Kono S, Takao S, Azuma T, Yoshida M. Differences in elongation of very long chain fatty acids and fatty acid metabolism between triple-negative and hormone receptor-positive breast cancer. BMC cancer. 2017;17:1-21.

40.Rashid N, Nigam A, Jain S, Naqvi SH, Wajid S. Proteomic sift through serum and endometrium profiles unraveled signature proteins associated with subdued fertility and dampened endometrial receptivity in women with polycystic ovary syndrome. Cell and tissue research. 2020;380(3):593-614.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

41.Peng H-Y, Lei S-T, Hou S-H, Weng L-C, Yuan Q, Li M-Q, Zhao D. PrPC promotes endometriosis progression by reprogramming cholesterol metabolism and estrogen biosynthesis of endometrial stromal cells through PPARα pathway. International Journal of Biological Sciences. 2022;18(4):1755.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]