

## **The effect of swimming training, Gallic acid and high-fat diet on the serum levels of sex hormones in rats with polycystic ovary syndrome**

**Rafiei S<sup>1</sup>, Edalatmanesh MA<sup>2\*</sup>**

1- Department of Exercise Physiology, Kish International Campus, Tehran University, Kish, I. R. Iran.  
2- Department of Physiology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, I. R. Iran.

Received: 2018/02/4 | Accepted: 2018/11/3

### **Abstract:**

**Background:** Polycystic ovary syndrome (PCOS) is characterized by hormonal-metabolic disorders, obesity, oxidative stress and ovulatory dysfunction. The aim of this study was to investigate the effect of four weeks of swimming training and Gallic acid (GA) administration on the serum level of sex hormones in rats with a polycystic ovary syndrome (PCOS) under the standard and high-fat diet.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 72 virgin female Sprague-Dawley rats were randomly divided into the nine groups: Control, PCOS, PCOS+HF (high fat diet), PCOS+EX (swimming training), PCOS+EX+HF (swimming training and high fat dietary), PCOS+GA (GA treatment), PCOS+GA+HF (GA treatment with high fat diet), PCOS+EX+GA (GA treatment and swimming training), PCOS+EX+GA+HF (GA treatment and swimming training with a high-fat diet). PCOS was induced with 1mg/kg letrozole and GA (100mg/kg, 4weeks) was administrated orally for 28 days. Then, the serum levels of LH, FSH, β-estradiol, progesterone and testosterone were measured using the ELISA method.

**Results:** In the PCOS group, the progesterone level decreased and LH, FSH, β-estradiol and testosterone levels significantly increased compared to the control group ( $P<0.05$ ). Treatment with GA or swimming training ameliorated the serum levels of these hormones. However, high fat diets reduced the ameliorative effect of GA and swimming training on the sex hormones in different groups.

**Conclusion:** Gallic acid administration and swimming training can reduce dysregulation of sex hormones due to the PCOS in rats, but a high-fat diet increases PCOS pathogenesis.

**Keywords:** Polycystic ovary syndrome, Exercise training, Gallic acid, high-fat diet, Sex hormones

**\* Corresponding Author.**

**Email:** amin.edalatmanesh@gmail.com

**Tel:** 0098 713 641 0041

**Fax:** 0098 713 641 0059

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 22, No 6, Pages 564-572*

**Please cite this article as:** Rafiei S, Edalatmanesh MA. The effect of swimming training, Gallic acid and high-fat diet on the serum levels of sex hormones in rats with polycystic ovary syndrome. *Feyz* 2019; 22(6): 564-72.

# اثر تمرین شنا، گالیک اسید و رژیم غذایی پر چرب بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی در موش‌های صحرایی مبتلا به سندروم تخمداران پلی‌کیستیک

سمانه رفیعی<sup>۱</sup> ، محمد امین عدالت منش<sup>۲\*</sup>

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** سندروم تخمداران پلی‌کیستیک (PCOS) با اختلالات هورمونی-متابولیکی، چاقی، استرس اکسیداتیو و اختلال در تخمک گذاری همراه است. هدف از مطالعه حاضر برسی ۴ هفته تمرین شنا و گالیک اسید بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی در موش‌های صحرایی مبتلا به PCOS تحت تغذیه استاندارد و پرچرب بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، تعداد ۷۲ سر موش صحرایی ماده باکره بهصورت تصادفی در ۹ گروه: کنترل، PCOS، PCOS+HF (رژیم پرچرب)، PCOS+EX (تمرین شنا)، PCOS+EX+HF (تمرین شنا با رژیم پرچرب)، PCOS+GA (تیمار گالیک اسید)، PCOS+GA+HF (تیمار گالیک اسید و رژیم پرچرب)، PCOS+EX+GA (تیمار گالیک اسید و تمرین شنا)، و PCOS+EX+GA+HF (تیمار گالیک اسید، تمرین شنا و رژیم پرچرب) تقسیم‌بندی شدند. لتروزول (۱ mg/kg)، جهت القاء PCOS و گالیک اسید (۱۰۰ mg/kg) بهمدت ۲۸ روز گواواز شدند. سپس، سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، بتا استرادیول، پروژسترون و تستوسترون با روش الایزا سنجیده شد.

**نتایج:** کاهش معنی‌دار سطح پروژسترون، افزایش LH، FSH، بتا استرادیول و تستوسترون در گروه PCOS نسبت به گروه کنترل دیده شد ( $P < 0.05$ ). تیمار با گالیک اسید و تمرین شنا سطوح هورمون‌ها را متعادل نمود. درحالی که رژیم غذایی پرچرب اثر تعديل کننده هورمونی گالیک اسید و تمرین شنا را در گروه‌های مختلف کاهش داد.

**نتیجه‌گیری:** علی‌رغم اینکه تمرین شنا و گالیک اختلال هورمون‌های جنسی ناشی از PCOS را در موش‌های صحرایی به حداقل می‌رساند، رژیم پرچرب این بیماری را تشديد می‌نماید.

**واژگان کلیدی:** سندروم تخمداران پلی‌کیستیک، تمرین ورزشی، گالیک اسید، رژیم غذایی پرچرب، هورمون‌های جنسی

دو مانعه علمی-پژوهشی فض، دوره بیست و دوم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۹۷، صفحات ۵۷۲-۵۶۴

## مقدمه

سندروم تخمداران پلی‌کیستیک (PCOS) یک اختلال شایع آنдрودکرین است که حدود ۵-۱۰ درصد زنان را قبل از یائسگی تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱]. عدم تخمک گذاری یا تخمک-گذاری محدود با افزایش سطوح بیولوژیک تستوسترون و افزایش تولید آندروروژن‌های تخمداری از علامت این اختلال است [۲]. در PCOS احتمال ابتلای بیمار به مقاومت به انسولین و چاقی و افزایش خطر دیابت قندی تیپ ۲ افزایش می‌یابد [۳]. افزایش سطح سرمی هورمون‌های لوتنینه کننده، تستوسترون، انسولین و پرولاکتین در این بیماران شایع است [۴].

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین المللی کیش، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی اسلامی، شیراز، ایران

\* لشکار نویسنده مسئول؛

Shiraz, واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی

تلفن: ۰۷۱۳۶۴۱۰۰۴۱، دو(زیوس): ۰۵۹۱۰۰۵۶۴۱۳۶۴۱

پست الکترونیک: amin.edalatmanesh@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۸/۱۲، تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۵/۱۱

هنوز ژن یا ژن‌های دخیل در اتیولوژی تخمداران پلی‌کیستیک شناسایی نشده‌اند و نقش عوامل محیطی از جمله تغییرات وزن و غلظت هورمون‌های در گردش و سن بروز بیماری نیز مشخص نیست [۵]. در بیش از ۵۰ درصد از بیماران مبتلا به PCOS چاقی دیده می‌شود. چاقی به‌خصوص در قسمت فوقانی بدن رابطه مثبتی با هیپرآندروژنیسم و مقاومت به انسولین دارد [۶]. این بیماران با ناهنجاری‌های هورمونی و متابولیکی در کنترل تولید آندروروژن‌ها مواجه هستند [۷]. غلظت بالای سرمی هورمون‌های آندروروژنیک مانند تستوسترون، آندرواتنیدیون، ۱۷-هیدروکسی پروژسترون و دهیدروپابی آندروروسترون سولفات در این بیماران دیده شده است [۸]. هرچند، در این سندروم ممکن است چرخه‌های منظم تولید مثلی بدون هیچ نشانه‌ای از هیپرآندروژنیسم دیده شود که البته این امر خیلی به‌ندرت اتفاق می‌افتد [۹]. به علاوه، این بیماری با مقاومت به انسولین و افزایش سطح انسولین خون همراه است. افزایش LH و انسولین به‌طور عمده موجب اختلال در روند تولید استروئیدها می‌شود [۱۰]. به عبارت دیگر تستوسترون و آندروروستنیدیون با کمک آنزیم P450 آروماتاز به ترتیب به استرادیول و استرون تبدیل می‌شوند که نقش مهمی در تعادل هورمونی تخمداران

اکسیداتیو و به دلیل اثرات تعدیل کننده ایمنی و عملکردهای تنظیم کننده هورمونی تمرینات ورزشی و نقش بالقوه چاقی یا داشتن رژیم غذایی پر چرب در اتیولوژی و بروز نشانه‌های بیماری زای سندروم تخمدان پلی‌کیستیک، هدف از این مطالعه تعیین اثر ۴ هفته تمرین شنا و مصرف گالیک اسید بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی در موش‌های صحرایی مدل سندروم تخمدان پلی‌کیستیک تحت رژیم غذایی پر چرب و استاندارد می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۷۲ سر موش صحرایی ماده باکره نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزنی  $۲۰۰\pm ۱۰$  گرم و سن تقریبی  $۸۵\pm ۵$  روز استفاده شد. این حیوانات در مرکز پرورش و تکثیر حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی شیراز پرورش یافته‌ند و تحت شرایط استاندارد دمایی ( $۲\pm ۰.۵$  درجه سانتی‌گراد) و رطوبت ( $۱۰\pm ۰.۵$ ) درصد) و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در این پژوهش از غذای مخصوص موش با فرمولاسیون استاندارد (شرکت تولیدی غذایی دام و طیور فارس) استفاده شد و به همراه آب آشامیدنی به صورت نامحدود در اختیار حیوانات قرار گرفت. به منظور حصول سازش با محیط، آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز بعد از استقرار حیوانات به انجام رسید. کلیه مراحل کار با حیوانات طبق قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی و با نظارت کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی شیراز انجام شد و مطالعه حاضر با کد ۷۱۷۶-۰۶-۹۴-۰۶ در این کمیته به تصویب رسید. حیوانات در ۹ گروه ۸ تابی به صورت تصادفی به تفکیک زیر تقسیم شدند: ۱- کترنل سالم؛ ۲- PCOS: حیوانات این گروه به مدت ۲۸ روز، روزانه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن لتروزول (لتراکس، شرکت داروسازی ابوریحان، ایران) به صورت خوراکی و طی چندین مرحله تزریق جهت القای سندروم تخمدان پلی‌کیستیک دریافت نمودند. سپس، به مدت ۴ هفته نرمال سالین را به صورت گاواز دریافت نمودند؛ ۳- PCOS+HF: همانند گروه قبل لتروزول جهت القاء PCOS دریافت کردند و در طول آزمایش رژیم پر چرب دریافت نمودند؛ ۴- PCOS+EX: پس از القاء سندروم، برای ۴ هفته تمرین شنا داشتند؛ ۵- PCOS+EX+HF: پس از القاء سندروم این گروه پس از القاء سندروم، به مدت ۴ هفته تمرین شنا داشته و طی دوره آزمایش با رژیم غذایی پر چرب تغذیه شدند؛ ۶- PCOS+GA: پس از القاء PCOS، گالیک اسید ( $\text{Sigma}(-)$  Aldrich, Germany) با دور ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۴ هفته به حیوان خورانده شد؛ ۷- PCOS+GA+HF: حیوانات این گروه پس از القاء PCOS، گالیک اسید به مدت ۴ هفته

دارد [۱۱]. در PCOS فعالیت این آنزیم مختل می‌شود و در نتیجه تولید استروژن و پروژسترون در فولیکول‌ها تغییر می‌کند که منجر به افزایش تولید آندروژن‌های تخمدان و پیشرفت بیماری می‌شود [۱۲]. اغلب دانشمندان بر این باورند که هایپرآندروژنیسم باید به عنوان یکی از معیارهای تعریف این سندروم تلقی گردد. افزایش سطح سرمی هورمون تستوسترون، LH و پروژسترون در موش‌های صحرایی آزاد و کاهش استروژن، FSH و شاخص آندروژن‌های دریافت کننده لتروزول نسبت به گروه کنترل دیده شده است [۱۲]. برخی از علائم و نشانه‌های PCOS مانند چاقی، چربی‌های شکمی، افزایش آندروژن‌ها و مقاومت به انسولین می‌تواند سبب تکوین وقایع مرتبط با استرس اکسیداتیو در این بیماران گردد [۱۳]. در واقع، PCOS با کاهش سطوح آنتی‌اکسیدانی سرم خون و ویتامین‌ها، خطر آسیب‌های اکسیداتیو را افزایش می‌دهد [۱۴]. مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در بهبود حساسیت به انسولین و دیگر نشانه‌های بیماری PCOS نقش مهمی دارند. نقش استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در درمان بیماری PCOS هنوز به درستی روشن نشده است [۱۵]. استرس اکسیداتیو نوعی عدم تعادل میان تولید و مهار رادیکال‌های آزاد توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد [۱۶]. استرس اکسیداتیو در افزایش تولید آندروژن‌ها، اختلال در مراحل تکوین فولیکول‌های تخمدانی و آسیب بافت تخمدان در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک موثر است [۱۷]. اختلال در ستز استروئیدهای تخمدانی یکی از دلایل استرس اکسیداتیو ایجاد شده در این بیماران است. شاخص‌های استرس اکسیداتیو در مبتلایان به PCOS افزایش یافته و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی خون کاهش می‌یابد [۱۸]. از آنجایی که استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لپیدی ایجاد شده در PCOS می‌تواند دلیل بسیاری از مشکلات ایجاد شده در این بیماران باشد [۱۹]، یافتن ترکیباتی که این عوارض را کاهش دهنده مهم است. گالیک اسید از طریق مهار فعالیت تیروزین فعالیت ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد و به سلول‌های بدن در محافظت از صدمات اکسیداتیو کمک می‌کند [۲۰]. همچنین، گالیک اسید دارای ویژگی ضد سرطانی است و در درمان دیابت به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۱]. اصلاح سبک زندگی از طریق تنظیم رژیم غذایی و برنامه‌های ورزشی با هدف طبیعی کردن سطوح آندروژن و برقراری تخمک‌گذاری به عنوان خط اول درمان این بیماران یاد می‌شود [۲۲]. ورزش‌هایی که عضلات بزرگتر را درگیر می‌کنند، مانند شنا، قادر به کاهش مقاومت به انسولین بوده و بخش مهمی از درمان‌های غیر دارویی می‌باشند [۲۲]. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی گالیک اسید و نقش آن در کاهش استرس

در رژیم غذایی موش‌های صحرایی تحت تیمار با غذای پر چرب به ۲۰ درصد رسید. مدت زمان تغذیه با رژیم پر چرب در گروه‌های دریافت کننده این رژیم ۸ هفته بود. در گروه‌هایی که تمرین شنا داشتند، پروتوكل تمرین شامل ۴ هفته شنا کردن در استخر مدور مخصوص شناج چوندگان با قطر ۱ متر، ارتفاع آب ۵۰ سانتی‌متر و دمای آب  $25\pm 2$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه در هر جلسه و سه جلسه در هفته بود. به طور خلاصه، حیوانات یک دقیقه قبل از تمرین برای آشنایی با محیط و گرم کردن وارد استخر شدند. سپس، در مرحله اصلی تمرین از یک بخش ثابت از استخر رها شده و ضمن شنا خود را به سکوی نجات می‌رسانند. سکوی نجات به قطر ۱۰ سانتی‌متر و از جنس پلکسی‌گلاس شفاف، یک سانتی‌متر زیر آب قرار داشت. به محض قرار گرفتن روی سکو، موقعیت سکو تغییر داده شد تا حیوان مجدداً به شنا خود ادامه داده و سکو را جستجو نماید [۲۵]. بدین ترتیب، تقریباً در کل زمان ۲۰ دقیقه حیوان مجبور به شنا کردن بود. این روند برای تمامی حیوانات به طور ثابت انجام شد. پس از اتمام تمرین، حیوانات خشک شده و به قفسه‌های خود منتقل شدند. در پایان دوره تمرین، موش‌های صحرایی توسط دی‌ای‌تلتر بی‌هوش شدند. سپس، پوست ناحیه قفسه سینه، جناغ و دندنهای برش داده شد و با کثار کشیدن جناغ و دندنهای از بطن چپ قلب توسط سرنگ ۲ میلی‌لتر خون‌گیری انجام شد. خون گرفته شده بدون ماده ضد انعقاد درون لوله آزمایش ریخته شده و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور (Memmert, Germany) INB400 گردد قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، لوله‌ها در دستگاه ساتریفیوژ EBA280 (Hettich, Germany) به مدت ۱۲ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس، سرم خون روی بخش لخته شده توسط سمپلر جدا گردیده و به لوله آزمایش دیگری منتقل شده و در فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۶]. با استفاده از دستگاه خوانش‌گر الایزا Stat Fax، ( ) با استفاده از دستگاه ای‌الایزا (Abcam, China) سطح سرمی هورمون‌های جنسی LH، FSH، بتا استرادیول، تستوسترون و پروژسترون سنجش شد. تجزیه و تحلیل آماری بین گروه‌های مختلف با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۲ انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند. جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف استفاده گردید. همچنین، به منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مورد نظر از آزمون‌های t مستقل، آنالیز واریانس چندمتغیره و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. از نظر آماری مقادیر  $<0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

دریافت کرده و با رژیم غذایی پر چرب تغذیه شدند: -۸ PCOS+EX+GA: موش‌های صحرایی این گروه پس از القاء سندروم تخدمان پلی کیستیک، هم‌زمان با تمرین شنا تجویز گواژ گالیک اسید دریافت نمودند: -۹ PCOS+EX+GA+HF: این گروه پس از القاء سندروم، تمرین شنا و تجویز گواژ گالیک اسید را به مدت ۴ هفته و رژیم غذایی پر چرب را در همه دوره آزمایش دریافت داشتند. حیواناتی که دارای ۲ الی ۳ دوره استروس منظم در طی ۱۲ الی ۱۴ روز مشاهده اسمیر واژینال بودند، جهت این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. جهت تعیین منظم بودن سیکل استروس از روش پاپ اسمیر استفاده شد. ابتدا  $0.2$  میلی‌لتر سرم فیزیولوژی توسط سمپلر به آرامی در واژن حیوان تزریق شد. سپس، یک تا دو قطره از مایع برداشته شده و اسمیر تهیه شد. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) با بزرگنمایی  $400$  برابر بررسی شدند. موش‌هایی که در مرحله استروس سیکل تولید مثلی قرار داشتند، جهت مراحل بعدی مطالعه انتخاب شدند. اسمیر واژن در مرحله استروس دارای سلول‌های شاخی بیشتر در مقایسه با سلول‌های اپی‌تیال بوده و قادر به تکثیر است [۲۳]. لازم به ذکر است که در این تحقیق از بین  $110$  سر موش صحرایی ماده  $72$  سر که در شرایط یکسان سیکل استروس بودند انتخاب گردیدند. تجویز دهانی یک میلی‌گرم لتروزول به مدت  $28$  روز سبب القاء سندروم تخدمان پلی کیستیک در موش‌های صحرایی می‌گردد [۲۴]. در شروع تجویز لتروزول سیکل‌های تخدمانی منظم دیده شد، ولی به تدریج سیکل‌های استروس نامنظم می‌شوند. نامنظم شدن سیکل‌های استروس و وقوع فاز اسمیر واژینال شاخی شده یکی از علائم وجود کیست‌های فولیکولی در تخدمان است [۲۴]. وجود سلول‌های شاخی شده و عدم تغییرات سلولی (کروی شدن و متراکم شدن سلول‌ها) نشان-دهنده نامنظم بودن سیکل‌های تخدمانی است که  $28$  روز پس از تجویز لتروزول در نمونه‌های انتخاب شده می‌تصادفی دیده شد. پس از پایان  $28$  روزه تجویز لتروزول، جهت تایید مدل چند حیوان به صورت تصادفی انتخاب شدند و پس از قربانی شدن با دوز کشنده کلرووفورم (Merck, Germany)، تخدمان‌ها خارج شد. به دنبال فیکسیسیون به کمک فرمالین  $10$  درصد، مقاطع بافتی از قسمت‌های مختلف تخدمان تهیه شد. رنگ آمیزی با استفاده از هماتوکسیلین- ائوزین صورت گرفت، آنگاه به مشاهده کیست‌های تخدمانی در زیر میکروسکوپ نوری پرداخته شد. میزان چربی موجود در رژیم غذایی استاندارد مورد استفاده در این مطالعه  $5$  درصد بود. جهت تهیه رژیم غذایی پر چرب میزان  $15$  درصد چربی حیوانی به غذای استاندارد اضافه شد و به این ترتیب میزان چربی

گردید. بررسی‌های پاتولوژیک در این پژوهش جهت بررسی و اثبات مدل سندروم PCOS صورت گرفت. کیست‌های متعدد به صورت حفرات بزرگ توخالی در سرتاسر بخش قشری و مدولاری تخدمان در تصاویر میکروسکپی قابل مشاهده بود (شکل شماره ۱). هرچند، وجود فولیکول‌های آتریک نیز در برش‌های تخدمانی دیده شد که نشان‌دهنده ایجاد مدل سندروم تخدمان پلی کیستیک بود.

## نتایج

در پایان دوره ۲۸ روزه تجویز لتروزوول، نمونه‌های تخدمانی که جهت مطالعات هیستوپاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند، وجود فولیکول‌های کیستیک را در سرتاسر تخدمان نشان دادند (شکل شماره ۱). حتی در بررسی ظاهری تخدمان‌ها بزرگ شدگی و وجود کیست‌های متعدد روی سطح تخدمان مشاهده



شکل شماره ۱- کیست‌های تخدمانی به دنبال تجویز ۲۸ روزه لتروزوول. ستاره‌ها وجود کیست‌ها را در بخش‌های مختلف تخدمان نشان می‌دهند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگ‌نمایی 40X)

معنی‌داری نشان داد ( $P<0.05$ ). در گروه دریافت‌کننده گالیک اسید با رژیم غذایی پرچرب تنها در سطح سرمی بتا استرادیول و پروژسترون با گروه PCOS+GA اختلاف معنی‌دار دیده شد ( $P<0.05$ ). نتایج حاصل از تیمار توام گالیک اسید با تمرین شنا در گروه تغذیه استاندارد نشان دهنده بهترین تعديل هورمونی است؛ به گونه‌ای که بین گروه PCOS+EX+GA و گروه‌های LH و PCOS+HF کاهش معنی‌داری در سطح سرمی بتا استرادیول و تستوسترون دیده شد ( $P<0.05$ ). بین گروه‌های PCOS+EX+HF و PCOS+EX+GA در سطح سرمی LH معنی‌داری شد ( $P<0.05$ ). در اختلاف معنی‌دار دیده شد ( $P<0.05$ ). (جدول شماره ۱). در بررسی اثر تیمارها، نتایج حاصل از آزمون واریانس چندمتغیره و آزمون تعییبی بونفرونی نشان داد که تمرین شنا اثر معنی‌داری بر کاهش سطح LH ( $P=0.003$ ), تستوسترون ( $P=0.02$ ) و افزایش پروژسترون ( $P=0.001$ ) در موش‌های صحرایی مدل PCOS دارد. همچنین، مصرف گالیک اسید اثر معنی‌داری بر کاهش LH دارد ( $P=0.001$ ), بتا استرادیول ( $P=0.004$ ), تستوسترون ( $P=0.001$ ) و افزایش پروژسترون ( $P=0.005$ ) در مدل PCOS دارد. همچنین، آنالیز آماری نشان داد که تمرین شنا و تیمار با گالیک اسید اثر تعاملی بر کاهش سطح بتا استرادیول ( $P=0.01$ ),

نتایج حاصل از آزمون t مستقل نشان داد که سطح سرمی هورمون‌های LH, FSH, بتا استرادیول و تستوسترون در گروه PCOS در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته، در حالی که سطح سرمی هورمون پروژسترون کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P<0.05$ ). این نتایج در گروه PCOS+HF نیز در مقایسه با گروه کنترل دیده شد. تغذیه با رژیم غذایی پرچرب سبب افزایش معنی‌دار سطح سرمی هورمون‌های LH و بتا استرادیول در گروه PCOS+HF نسبت به گروه PCOS+HF گردید ( $P<0.05$ ). همچنین، سطح سرمی LH و تستوسترون در گروه PCOS+EX نسبت به گروه‌های PCOS+HF و PCOS به طور معنی‌داری کاهش یافته و سطح پروژسترون افزایش یافت ( $P<0.05$ ). علی‌رغم اینکه اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های PCOS+EX و PCOS+EX+HF در سطح سرمی هورمون‌های LH, FSH, LH, بتا استرادیول و تستوسترون دیده نشد، در گروه PCOS+EX+HF سطح پروژسترون به طور معنی‌داری نسبت به گروه PCOS+EX کاهش یافت ( $P<0.05$ ). در مقایسه گروه دریافت‌کننده گالیک اسید با گروه‌های PCOS+HF و PCOS کاهش معنی‌داری در سطح سرمی LH، بتا استرادیول و تستوسترون دیده شد، در حالی‌که میزان پروژسترون تنها در مقایسه با گروه PCOS افزایش

بر افزایش سطوح LH، بتا استرادیول، تستوسترون و کاهش پروژسترون در تعامل با تمرین شنا، گالیک اسید و یا تمرین شنا و گالیک اسید ندارد ( $P > 0.05$ ).

تستوسترون ( $P = 0.03$ ) و افزایش پروژسترون ( $P = 0.01$ ) در موش‌های صحرایی مدل PCOS دارد. و رژیم غذایی پر چرب که به‌نهایی سبب افزایش معنی‌دار سطح LH و بتا استرادیول در موش‌های صحرایی مبتلا به سندروم PCO گردید، اثر معنی‌داری

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف استاندارد سطح سرمی هورمون‌های جنسی در گروه‌های مطالعه

گروه/پارامتر	(n=8)	LH (mIU/l)	FSH (mIU/l)	بta استرادیول (pg/ml)	پروژسترون (pg/ml)	تستوسترون (pg/ml)
کنترل		۲/۰۱±۰/۴۲	۳/۴۷±۱/۲۵	۲۰/۱۸±۲/۲۱	۲۰/۴۳±۲/۲۱	۰/۶۶±۰/۰۲
PCOS		۷/۲۳±۱/۵۱	۵/۷۸±۱/۳۰	۲۸/۰۴±۲/۲۳	۱۲/۷۴±۱/۲۳	۱/۴۲±۰/۲۳
PCOS+HF		۱۲/۸۴±۱/۰۴	۴/۷۸±۱/۰۰	۳۴/۶۴±۳/۴۰	۱۳/۲۴±۱/۸۶	۱/۸۶±۰/۳۴
PCOS+EX		۳/۳۵±۰/۰۷	۴/۰۶±۱/۱۹	۲۴/۸۹±۲/۵۱	۲۰/۸۰±۲/۵۱	۰/۷۴±۰/۰۵
PCOS+EX+HF		۴/۳۶±۱/۲۳	۴/۸۸±۱/۱۱	۲۵/۰۸±۲/۴۵	۱۴/۵۸±۲/۶۱	۰/۹۲±۰/۰۷
PCOS+GA		۲/۹۳±۰/۴۲	۴/۰۴±۱/۶۱	۲۳/۱۷±۳/۷۱	۱۶/۵۲±۲/۷۳	۰/۷۰±۰/۰۱
PCOS+GA+HF		۴/۰۸±۱/۷۰	۴/۹۹±۱/۴۵	۲۶/۸۷۷±۲/۹۵	۱۲/۵۸±۲/۸۰	۰/۷۶±۰/۰۸
PCOS+EX+GA		۲/۶۸±۱/۴۳	۳/۸۴±۰/۵۴	۱۷/۰۱±۲/۸۷	۱۷/۲۹±۲/۹۳	۰/۵۶±۰/۰۳
PCOS+EX+GA+HF		۴/۰۲±۰/۹۷	۴/۴۴±۱/۰۱	۱۸/۰۶±۲/۰۴	۱۸/۵۲±۲/۳۸	۰/۶۸±۰/۰۳

تحقیق حاضر به‌منظور تأیید مدل تخدمان پلی‌کیستیک در موش‌های صحرایی نشان داد که استفاده از لتروزوول در مدت زمان ۲۸ روز می‌تواند کیست‌های تخدمانی را با ابعاد متفاوت ایجاد کند. چنین یافته‌ای در مطالعات قبلی به تأیید رسیده است [۳۰]. رضوان‌فر و همکاران نشان دادند که دوره تیمار ۲۱ روزه با لتروزوول سیکل استرووس را در روزهای ۱۲ تا ۱۵ ناپدید می‌سازد و از طرف دیگر، وزن تخدمانها و وزن رحم نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد [۳۰]. تحقیقات نشان داده است گالیک اسید به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی با مهار استرس‌اکسیداتیو از آسیب بافتی جلوگیری می‌نمایند. همچنین، می‌تواند میزان آنتی-اکسیدان‌های اندوژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد [۳۱]. گالیک اسید دارای نقش حفاظت آنتی‌اکسیدانی در برابر سمیت ناشی از سرب در خون، کبد و کلیه موش صحرایی می‌باشد [۳۲]. همچنین، این ترکیب می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی نقش حیاتی در برابر بیماری‌هایی مثل اختلالات نوروزنیک، الهاب، عفونت‌های ویروسی و زخم معده بازی کرده و گزارش شده است گالیک اسید با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی از استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند [۳۳]. Pal و همکاران نشان داده‌اند که گالیک اسید با مهار استرس‌اکسیداتیو و آپوپتوز مانع از گاسترولیپاتی ناشی از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی در موش صحرایی می‌شود [۳۴]. مشخص شده است که گالیک اسید با کاهش محصولات پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها اثر محافظتی روی تروپونین قلبی، و آنزیم‌های نشان‌گر قلب در

## بحث

در این پژوهش پس از القاء سندروم تخدمان پلی‌کیستیک با تجویز ۲۸ روزه لتروزوول و تأیید مدل به مطالعه اثر گالیک اسید، ۴ هفته تمرین شنا و اثر تعاملی این دو به‌همراه بررسی اثر رژیم غذایی پر چرب بر کیفیت بیماری‌زایی این سندروم پرداخته شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سطح برخی از هورمون‌های جنسی به‌دبیال القاء سندروم دچار تغییر می‌شوند. ازجمله این موارد می‌توان به کاهش چشم‌گیر پروژسترون، افزایش بیش از حد FSH، بتا استرادیول و تستوسترون اشاره کرد. Dumesic و همکاران نشان داده‌اند که تولید پروژسترون و استرادیول در سلول‌های گرانولولوزای زنان مبتلا به PCOS نرمال نیست [۲۷]. این امر نشان می‌دهد که بیماران مبتلا به PCOS در مقایسه با افراد سالم پاسخ متفاوتی به گندوتروپین‌ها سالم نشان می‌دهند [۲۸]. در واقع، در افراد مبتلا به PCOS غلظت سرمی استرادیول و پروژسترون به ترتیب کاهش و افزایش می‌یابد [۲۹]. همچنین، تمرینات ورزشی در گروه‌هایی که رژیم غذایی استاندارد دریافت داشتند، توانست تا حدود زیادی سبب تعدیل سطح هورمون‌های جنسی گردد که به اختصار می‌توان به افزایش سطح پروژسترون، کاهش LH، استرادیول و تستوسترون اشاره کرد. گالیک اسید نیز همانند تمرین شنا سبب تعدیل سطح سرمی هورمون‌های مورد بررسی گردید. تغذیه با رژیم غذایی پر چرب، همان‌گونه که انتظار می‌رفت، به عنوان عاملی در جهت تضعیف تعدیل کنندگی اثر تمرین شنا و تیمار با گالیک اسید خود را نشان داد. بررسی بافتی انجام شده در

می‌تواند موش‌های چاق مدل سندروم تخمدان پلی‌کیستیک را تولید کند که جهت مطالعات تمرينی و بررسی‌های متابولیکی و تولید مثلی نظیر آنچه در بیماران انسانی مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک دیده می‌شود، استفاده می‌گردد. در واقع، رژیم غذایی پرچرب در بیماری‌زایی سندروم تخمدان پلی‌کیستیک می‌تواند موثر واقع گردد [۲۴]. از آنجایی که که چاقی با فقدان تخمک-گذاری، سقط جنین یا سایر عوارض دوران بارداری مانند پره‌اکلامپسی و دیابت بارداری در ارتباط است [۴۰]، مشاهدات مطالعه حاضر نشان داد که گروه‌های تحت تغذیه با رژیم غذایی پرچرب اختلالات بیشتری را در سطح سرمی هورمون‌های مورد بررسی داشتند و نشانه‌های سندروم را لاقل در پروفایل هورمون‌های آندروژنیک باشد بیشتری نشان دادند. هرچند کنترل شرایط استاندارد تغذیه، نگهداری، فواصل زمانی تمرين و تیمار از نقاط قوت این کار محسوب می‌شود، با این حال، عدم کنترل میزان تحرک حیوانات، غذای دریافتی، سرعت شنا و مسافت پیموده شده در حوضچه شنا از محدودیت‌های مطالعه حاضر است.

### نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که تجویز گالیک اسید و تمرين شنا و اثر تعاملی آنها سبب تعديل سطح سرمی هورمون‌های جنسی گردیده و تغذیه با رژیم غذایی پرچرب علاوه بر افزایش اختلال در پروفایل هورمون‌های جنسی و افزایش میزان بیماری زایی، اثر بهبود بخش گالیک اسید و تمرين فیزیکی را در تعديل سطح هورمون‌های جنسی کاهش می‌دهد.

### تشکر و قدردانی

بخشی از منابع مالی این پژوهه توسط معاونت پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی شیراز و در قالب پژوهانه تأمین شده است. بدین‌وسیله، از مدیریت مذکور صمیمانه قدردانی می‌شود.

### References:

- [1] Crandall JP, Oram V, Trandafirescu G, Reid M, Kishore P, Hawkins M, et al. Prevalence and predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:48–53.
- [2] Moran LJ, Pasquali R, Teede HJ, Hoeger KM, Norman RJ. Treatment of obesity in polycystic ovary syndrome: a position statement of the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Fertil Steril* 2009; 92 (6): 1966–82.
- [3] Moran LJ, Ranasinghe S, Zoungas S, McNaughton SA, Brown WJ, Teede HJ. The contribution of diet,

انفارکتوس میوکارد قلب موش‌های صحرایی دارد [۳۵]. گالیک اسید اختلالات شناختی ناشی از دئنراسیون هیپوکامپ را در مدل تری‌متیل‌تین‌ای بیماری آلزایمر کاهش می‌دهد [۳۶]. تمرينات ورزشی می‌تواند در درمان مبتلایان به PCOS مفید باشد. افزایش فعالیت بدنی برای مبتلایان به PCOS توصیه شده است، ولی هنوز درک کافی از میزان فعالیت ورزشی، نوع و مدت زمان آن در ارتباط با این بیماران وجود ندارد [۳۷]. مطالعات مبتنی بر تغییر سبک زندگی که شامل افزایش فعالیت بدنی همراه با کاهش مصرف کالری است، باعث بهبود قابل توجهی در عملکرد تخمدانی، سطوح آندروژن‌های در گرددش، الگوی التهابی و حساسیت به انسولین در زنان مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود [۳۸]. مطالعه قبلی ما نشان داد که شنا کردن اجرای حیوانات می‌تواند سطح سرمی هورمون‌های آندروژنیک را در موش‌های صحرایی مدل PCOS القاء شده با لتروزول تعديل نماید [۳۹]. Al-Nozha و همکاران نشان داده‌اند که مصرف متفورمین و یک دوره فعالیت ورزشی با کاهش وزن بدن و کاهش نمایه توده بدنی می‌تواند موجب کاهش تستوسترون، کاهش نسبت هورمون لوتنین کننده به هورمون محرك فولیکولی و بهبود وضعیت متابولیکی شده و مانع افزایش پرولاکتین شود و به علاوه از اثرات سوء هایپرآندروژنیسم جلوگیری کند [۴۰]. با توجه به تغییرات وزن و هورمون‌های جنسی (تستوسترون آزاد و آندرو-استندیون) تمرينات ورزشی بهخصوص باشد کم ممکن است عالیم سندروم تخمدان پلی‌کیستیک را بهبود بخشد [۱۳]. Qiu و همکاران نشان دادند که تغییرات مورفو‌لوجیکی تخمدان در موش‌های صحرایی مدل PCOS در دو گروه تمرين و بدون تمرين مشابه یکدیگر بوده، اما تمرينات کوتاه‌مدت بهبود حساسیت به انسولین و کاهش سطح آندروژن‌ها را به دنبال داشت [۴۱]. در پژوهش حاضر سطح هورمون‌های جنسی در گروه تمرين کننده که به میزان ۴ هفته تمرين شنا داشتند، نسبت به گروه بدون تمرين تعديل گردید. تلفیق یک رژیم غذایی پرچرب و تزریق تستوسترون

physical activity and sedentary behaviour to body mass index in women with and without polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2013; 28 (8): 2276–83.

[4] Teede HJ, Meyer C, Hutchison SK, Zoungas S, McGrath BP, Moran LJ. Endothelial function and insulin resistance in polycystic ovary syndrome: the effects of medical therapy. *Fertil Steril* 2010; 93(1): 184–91.

[5] Teede HJ, Misso ML, Deeks AA, Moran LJ, Stuckey BG, Wong JL, et al. Assessment and management of polycystic ovary syndrome: summary of

- an evidence-based guideline. *Med J Aust* 2011; 195 (6): S65-112.
- [6] Gonzalez F, Sia CL, Stanczyk FZ, Blair HE, Krupa ME. Hyperandrogenism exerts an anti-inflammatory effect in obese women with polycystic ovary syndrome. *Endocrine* 2012; 42 (3): 726-35.
- [7] Maharaj A. Polycystic ovary syndrome. *JEMDS-A* 2009; 14 (2): 86-95.
- [8] Lakhani K, Prelevic GM, Seifalian AM, Atiomo WU, Hardiman P. Polycystic ovary syndrome, diabetes and cardiovascular disease: risks and risk factors. *J Obstet Gynaecol* 2004; 24(6): 613-21.
- [9] Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W. et al. Position statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(11): 4237-45.
- [10] Nestler JE, Jakubowicz DJ. Decreases in ovarian cytochrome P450c17 activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1996; 335(9): 617-23.
- [11] Wickenheisser JK, Quinn PG, Nelson VL, Legro RS, Strauss III JF, Mcallister JM. Differential activity of the cytochrome P450 17-hydroxylase and steroidogenic acute regulatory protein gene promoters in normal and polycystic ovary syndrome theca cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(6): 2304-11.
- [12] Miri M, Jashni HK, Alipour F. Effect of exercise intensity on weight changes and sexual hormones (androstenedione and free testosterone) in female rats with estradiol valerate-induced PCOS. *J Ovarian Res* 2014; 7: 37.
- [13] Mohan SK, Priya VV. 2009 Lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E, antioxidant enzyme and serum homocysteine status in patients with polycystic ovary syndrome. *Biol Med* 2009; 1 (3): 44-9.
- [14] Al-kataan MA, Ibrahim MA, Al-jammas MH, Shareef YS, Sulaiman MA. Serum Antioxidant Vitamins Changes in Women with Polycystic Ovarian Syndrome. *J Bahrain Med Sci* 2010; 22 (2): 68-71.
- [15] Amini L, Sadeghi Avvalshahr H. Complementary therapies in polycystic ovary syndrome. *Darmangar* 2011; 30: 48. [in Persian]
- [16] Dikmen A, Ergenoglu AM, Yeniel AO, Dilsiz OY, Ercan G, Yilmaz H. Evaluation of glycemic and oxidative/antioxidative status in the estradiol valerate-induced PCOS model of rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 160(1): 55-9.
- [17] Wang S, He G, Chen M, Zuo T, Xu W, Liu X. The role of antioxidant enzymes in the ovaries. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017: 4371714.
- [18] Moran LJ, Brinkworth G, Noakes M, Norman RJ. Effects of lifestyle modification in polycystic ovarian syndrome. *Reprod Biomed Online* 2006; 12(5): 569-78.
- [19] Yao Y, Wu M, Huang Y, Li C, Pan X, Zhu W, et al. Appropriately raising fermentation temperature beneficial to the increase of antioxidant activity and gallic acid content in *Eurotium cristatum*-fermented loose tea. *LWT-Food Sci Technol* 2017; 82: 248-54.
- [20] Mansouri MT, Farbood Y, Sameri MJ, Sarkaki A, Naghizadeh B, Rafeirad M. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *Food chem* 2013; 138(2-3): 1028-33.
- [21] Karimi-Khouzani O, Heidarian E, Amini SA. Anti-inflammatory and ameliorative effects of gallic acid on fluoxetine-induced oxidative stress and liver damage in rats. *Pharmacol Rep* 2017; 69(4): 830-835.
- [22] Bruner B, Chad K, Chizen D. Effects of exercise and nutritional counseling in women with polycystic ovary syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab* 2006; 31(4): 384-91.
- [23] Dikmen A, Ergenoglu AM, Yeniel AO, Dilsiz OY, Ercan G, Yilmaz H. Evaluation of glycemic and oxidative/antioxidative status in the estradiol valerate-induced PCOS model of rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 160(1): 55-9.
- [24] Wu C, Lin F, Qiu S, Jiang Z. The characterization of obese polycystic ovary syndrome rat model suitable for exercise intervention. *PLoS One* 2014; 9(6): e99155.
- [25] Rafiei S, Bazyar Y, Edalatmanesh M A. Effect of gallic acid and endurance exercise training on BDNF in a model of hippocampal degeneration. *Shefaye Khatam* 2016; 4(1): 1-6. [in Persian]
- [26] Malek-Mohammadi R, Roghani M, Salami M. The effect of aqueous extracts of *Melissa officinalis* on the oxidative stress indices in the midbrain tissue. *Feyz* 2015; 19(1): 8-14. [in Persian]
- [27] Dumescic DA, Oberfield SE, Stener-Victorin E, Marshall JC, Laven JS, Legro RS. Scientific statement on the diagnostic criteria, epidemiology, pathophysiology, and molecular genetics of polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev* 2015; 36(5): 487-525.
- [28] Hosseinkhani A, Asadi N, Pasalar M, Mohammad MZ. Insights of traditional Persian medicine to polycystic ovary syndrome and its management. *Planta Medica Int Open* 2017; 4(S 01): Tu-PO.
- [29] Tomatis V, Wassell S, Venables M, Walker C, Ray S, Siervo M, et al. Effects of green tea and coffee polyphenols on cardiometabolic function in women with polycystic ovary syndrome. *FASEB J* 2015; 29(1 Supplement): LB271.
- [30] Rezvanfar MA, Shojaei Saadi HA, Gooshe M, Abdolghaffari AH, Baeeri M, Abdollahi M. Ovarian aging-like phenotype in the hyperandrogenism-induced murine model of polycystic ovary. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 948951.
- [31] Roidoung S, Dolan KD, Siddiq M. Gallic acid as a protective antioxidant against anthocyanin degradation and color loss in vitamin-C fortified cranberry juice. *Food Chem* 2016; 210: 422-7.

- [32] Reckziegel P, Dias VT, Benvegnú DM, Boufleur N, Barcelos RC, Segat HJ, et al. Antioxidant protection of gallic acid against toxicity induced by Pb in blood, liver and kidney of rats. *Toxicol Reports* 2016; 3: 351-6.
- [33] De Cristo Soares Alves A, Mainardes RM, Khalil NM. Nanoencapsulation of gallic acid and evaluation of its cytotoxicity and antioxidant activity. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2016; 60:126-34.
- [34] Pal C, Bindu S, Dey S, Alam A, Goyal M, Iqbal MS, et al. Gallic acid prevents nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastropathy in rat by blocking oxidative stress and apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2010; 49(2): 258-67.
- [35] Priscilla DH, Prince PS. Cardioprotective effect of gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions* 2009; 179(2-3): 118-24.
- [36] Baziyan Y, Edalatmanesh MA, Hosseini SA, Zar A. The effects of endurance training and gallic acid on BDNF and TNF-A in male rats with Alzheimer. *Int J Applied Exercise Physiol* 2016; 5(4): 45-54.
- [37] Murri M, Luque-Ramirez M, Insenser M, Ojeda-Ojeda M, Escobar-Morreale HF. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2013; 19 (3): 268-88.
- [38] Benrick A, Maliqueo M, Miao S, Villanueva JA, Feng Y, Ohlsson C, et al. Resveratrol is not as effective as physical exercise for improving reproductive and metabolic functions in rats with dihydrotestosterone-induced polycystic ovary syndrome. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 964070.
- [39] Rafiei S, Edalatmanesh M A. The effect of exercise training on serum level of  $\beta$ -Estradiol, testosterone, and cognitive deficit in rats with letrozole-induced polycystic ovary syndrome. *Shefaye Khatam* 2016; 4(2): 11-8. [in Persian]
- [40] Al-Nozha O, Habib F, Mojaddidi M, El-Bab MF. Body weight reduction and metformin: Roles in polycystic ovary syndrome. *Pathophysiology* 2013; 20(2): 131-7.
- [41] Qiu S, Wu C, Lin F, Chen L, Huang Z, Jiang Z. Exercise training improved insulin sensitivity and ovarian morphology in rats with polycystic ovary syndrome. *Horm Metab Res* 2009; 41(12): 880-5.