

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 S¹, Edalatmanesh MA^{2*}

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 تخمدان پلی‌کیستیک

سماحه رفیعی^۱، محمد امین عدالت منش^{۲*}

خلاصه:

سابقه و هدف: سندروم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) با اختلالات هورمونی-متابولیکی، چاقی، استرس اکسیداتیو و اختلال در تخمک گذاری همراه است. هدف از مطالعه حاضر بررسی 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 پاکره به صورت 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) به مدت ۲۸ روز گاوآژ شدند. سپس، سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، بتا استرادیول، پروژسترون و تستوسترون با روش الیزا 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، درحالی‌که رژیم غذایی پرچرب اثر تعدیل‌کننده هورمونی گالیک اسید و تمرین شنا را در گروه‌های مختلف کاهش داد.

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

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

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

مقدمه

هنوز زن یا زن‌های دخیل در اتیولوژی تخمدان 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 به خصوص در قسمت فوقانی بدن رابطه مثبتی با هیپراندروژنیسم و مقاومت به انسولین دارد [۶]. این بیماران با ناهنجاری‌های هورمونی و متابولیکی در کنترل تولید آندروژن‌ها مواجه هستند [۷]. غلظت بالای سرمی هورمون‌های آندروژنیک مانند تستوسترون، آندرواستندیون، ۱۷-هیدروکسی پروژسترون و دهیدرواپی آندروسترون سولفات در این بیماران دیده شده است [۸]. هرچند، در این سندروم ممکن است چرخه‌های منظم تولید مثلی بدون هیچ نشانه‌ای از هایپراندروژنیسم دیده شود که البته این امر خیلی به ندرت اتفاق می‌افتد [۹]. به علاوه، این بیماری با مقاومت به انسولین و افزایش سطح انسولین خون همراه است. افزایش LH و انسولین به طور عمده موجب اختلال در روند تولید استروئیدها می‌شود [۱۰]. به عبارت دیگر تستوسترون و آندرو-ستندیون با کمک آنزیم P450 آروماتاز به ترتیب به استرادیول و استرون تبدیل می‌شوند که نقش مهمی در تعادل هورمونی تخمدان

سندروم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یک اختلال شایع آندروکربین است که حدود ۱۰-۵ درصد زنان را قبل از یائسگی تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱]. عدم تخمک‌گذاری یا تخمک‌گذاری محدود با افزایش سطوح بیولوژیک تستوسترون و افزایش تولید آندروژن‌های تخمدانی از علائم 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 سطوح سرمی هورمون‌های لوتئینه کننده، تستوسترون، انسولین و پرولاکتین در این بیماران شایع است [۴].

^۱ دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین‌المللی کیش، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

شیراز، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی

دورنویس: ۰۷۱۳۶۴۱۰۰۵۹

تلفن: ۰۷۱۳۶۴۱۰۰۴۱

پست الکترونیک: amin.edalatmanesh@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۸/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۱/۱۳۹۶/۱۵

اکسیداتیو و به دلیل اثرات تعدیل کننده ایمنی و عملکردهای تنظیم کننده هورمونی تمرینات ورزشی و نقش بالقوه چاقی یا داشتن رژیم غذایی پرچرب در اتیولوژی و بروز نشانه‌های بیماری‌زای 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 پرچرب و استاندارد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۷۲ سر موش صحرایی ماده باکره نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزنی 20.0 ± 1.0 گرم و سن تقریبی 85 ± 5 روز استفاده شد. این حیوانات در مرکز پرورش و تکثیر حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی شیراز پرورش یافتند و تحت شرایط استاندارد دمایی (25 ± 2 درجه سانتی‌گراد) و رطوبت (50 ± 10 درصد) و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در این پژوهش از غذای مخصوص موش با فرمولاسیون استاندارد (شرکت تولیدی غذای 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 ۷۱۷۶-۱۰۲۶-۹۴ در این کمیته به تصویب رسید. حیوانات در ۹ گروه ۸ تایی به صورت تصادفی به تفکیک زیر تقسیم شدند: ۱- کنترل 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 پلی-کیستیک دریافت نمودند. سپس، به مدت ۴ هفته نرمال سالین را به صورت گاوآژ دریافت نمودند؛ ۳- PCOS+HF: همانند گروه قبل لتروزول جهت القاء PCOS دریافت کردند و در طول آزمایش رژیم پرچرب دریافت نمودند؛ ۴- PCOS+EX: پس از القاء سندروم، برای ۴ هفته تمرین شنا داشتند؛ ۵- PCOS+EX+HF: حیوانات این گروه پس از القاء سندروم، به مدت ۴ هفته تمرین شنا داشته و طی دوره آزمایش با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شدند؛ ۶- PCOS+GA: پس از القاء PCOS، گالیک اسید (Sigma-Aldrich, Germany) با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۴ هفته به حیوان خوراندند؛ 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 هاپیرآندروژنیسم باید به عنوان یکی از معیارهای تعریف این سندروم تلقی گردد. افزایش سطح سرمی هورمون تستوسترون، FSH و شاخص آندروژن‌های آزاد و کاهش استروژن، LH و پروژسترون در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده 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 آنتی-اکسیدان‌ها 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 سنتز 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 لیپیدی ایجاد شده در PCOS می‌تواند دلیل بسیاری از مشکلات ایجاد شده در این بیماران باشد [۱۹]، یافتن ترکیباتی که این عوارض را کاهش دهند 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]. باتوجه به خواص آنتی‌اکسیدانی گالیک اسید و نقش آن در کاهش استرس

در رژیم غذایی موش‌های صحرایی تحت تیمار با غذای پرچرب به ۲۰ درصد رسید. مدت زمان تغذیه با رژیم پرچرب در گروه‌های دریافت کننده این رژیم ۸ هفته بود. در گروه‌هایی که تمرین شنا داشتند، پروتکل تمرین شامل ۴ هفته شنا کردن در استخر مدور مخصوص شنای جوندگان با قطر ۱ متر، ارتفاع آب ۵۰ سانتی‌متر و دمای آب 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه در هر جلسه و سه جلسه در هفته بود. به‌طور 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 می‌رساندند. سکوی نجات به قطر ۱۰ سانتی‌متر و از جنس پلکسی‌گلاس شفاف، یک سانتی‌متر زیر آب قرار داشت. به‌محض قرار گرفتن روی سکو، موقعیت سکو تغییر داده شد تا حیوان مجدداً به شنای 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 به‌طور ثابت انجام شد. پس از اتمام تمرین، حیوانات خشک شده و به قفس‌های خود منتقل شدند. در پایان دوره تمرین، موش‌های صحرایی توسط دی‌ان‌ایل‌اثر بی‌هوش شدند. سپس، پوست ناحیه قفسه سینه، جناغ و دنده‌ها برش داده شد و با کنار کشیدن جناغ و دنده‌ها از بطن چپ قلب توسط سرنگ ۲ میلی‌لیتر خون‌گیری انجام شد. خون گرفته شده بدون ماده ضد انعقاد درون لوله آزمایش ریخته شده و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور INB400 (Memmert, Germany) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، لوله‌ها در دستگاه سانتریفیوژ 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 -70 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۶]. با استفاده از دستگاه خوانش‌گر الایزا 2100 (Stat Fax, USA) و کیت‌های الایزا (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 $P < 0.05$ ، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

دریافت کرده و با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شدند؛ ۸- PCOS+EX+GA: موش‌های صحرایی این گروه پس از القاء سندروم تخمدان پلی‌کیستیک، هم‌زمان با تمرین شنا تجویز گاوآژ گالیک اسید دریافت نمودند؛ ۹- PCOS+EX+GA+HF: این گروه پس از القاء سندروم، تمرین شنا و تجویز گاوآژ گالیک اسید را به مدت ۴ هفته و رژیم غذایی پرچرب 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 میلی‌لیتر 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 ۴۰۰ 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 اپی‌تلیال بوده و فاقد لوکوسیت است [۲۳]. لازم به ذکر است که در این تحقیق از بین ۱۱۰ سر موش صحرایی ماده ۷۲ سر که در شرایط یکسان سیکل استروس بودند انتخاب گردیدند. تجویز دهانی یک میلی‌گرم لتروزول به مدت ۲۸ روز سبب القاء سندروم تخمدان پلی‌کیستیک در موش‌های صحرایی می‌گردد [۲۴]. در شروع تجویز لتروزول سیکل‌های تخمدانی 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 تخمدان است [۲۴]. وجود سلول‌های شاخی شده و عدم تغییرات سلولی (کروی شدن و متراکم شدن سلول‌ها) نشان-دهنده نامنظم بودن سیکل‌های تخمدانی است که ۲۸ روز پس از تجویز لتروزول در نمونه‌های انتخاب شده تصادفی دیده شد. پس از پایان ۲۸ روزه تجویز لتروزول، جهت تایید مدل چند حیوان به صورت تصادفی انتخاب شدند و پس از قربانی شدن با دوز کشنده کلروفورم (Merck, Germany)، تخمدان‌ها خارج شد. به دنبال فیکساسیون به کمک فرمالین ۱۰ درصد، مقاطع بافتی از قسمت‌های مختلف تخمدان تهیه شد. رنگ آمیزی با استفاده از هماتوکسیلین-ائوزین صورت گرفت، آنگاه به مشاهده کیست‌های تخمدانی در زیر میکروسکپ نوری پرداخته شد. میزان چربی موجود در رژیم غذایی استاندارد مورد استفاده در این مطالعه ۵ درصد بود. جهت تهیه رژیم غذایی پرچرب میزان ۱۵ درصد چربی حیوانی به غذای استاندارد اضافه شد و به این ترتیب میزان چربی

نتایج

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 تخمدان در تصاویر میکروسکوپی قابل مشاهده بود (شکل شماره ۱). هرچند، وجود فولیکول‌های آترتیک نیز در برش‌های تخمدانی دیده شد که نشان‌دهنده ایجاد مدل سندروم تخمدان پلی کیستیک بود.

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



شکل شماره ۱- کیست‌های تخمدانی به دنبال تجویز ۲۸ روزه لتروزول. ستاره‌ها وجود کیست‌ها را در بخش‌های مختلف تخمدان 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 تعدیل هورمونی است؛ به گونه‌ای که بین گروه PCOS+EX+GA و گروه‌های PCOS و PCOS+HF کاهش معنی‌داری در سطح سرمی LH، بتا استرادیول و تستوسترون دیده شد ($P < 0/05$). بین گروه‌های PCOS+EX+GA و PCOS+EX+GA+HF در سطح سرمی LH اختلاف معنی‌دار دیده شد ($P < 0/05$). (جدول شماره ۱). در بررسی اثر تیمارها، نتایج حاصل از آزمون واریانس چندمتغیره و آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که تمرین شنا اثر معنی‌داری بر کاهش سطح LH ($P = 0/003$)، تستوسترون ($P = 0/002$) و افزایش پروژسترون ($P = 0/001$) در موش‌های صحرایی مدل PCOS دارد. همچنین، مصرف گالیک اسید اثر معنی‌داری بر کاهش LH ($P = 0/001$)، 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 گردید ($P < 0/05$). همچنین، سطح سرمی LH و تستوسترون در گروه PCOS+EX نسبت به گروه‌های PCOS و PCOS+HF 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، 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 و PCOS+HF کاهش معنی‌داری در سطح سرمی LH، بتا استرادیول و تستوسترون دیده شد، در حالی که میزان پروژسترون تنها در مقایسه با گروه PCOS افزایش

اثر تمرین شنا، گالیک اسید و رژیم غذایی پر چرب، ...

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 به تنهایی 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)	بتا استرادیول (pg/ml)	پروژسترون (pg/ml)	تستوسترون (pg/ml)
کنترل	2/01 ± 0/42	3/47 ± 1/25	20/18 ± 2/21	20/43 ± 2/21	0/66 ± 0/02
PCOS	7/23 ± 1/51	5/78 ± 1/30	28/03 ± 2/23	12/74 ± 1/23	1/42 ± 0/23
PCOS+HF	12/84 ± 1/04	4/78 ± 1/00	34/64 ± 3/40	13/24 ± 1/86	1/86 ± 0/34
PCOS+EX	3/35 ± 0/87	4/06 ± 1/19	24/89 ± 2/51	20/80 ± 3/51	0/74 ± 0/05
PCOS+EX+HF	4/36 ± 1/23	4/88 ± 1/11	25/08 ± 2/45	14/58 ± 3/61	0/92 ± 0/07
PCOS+GA	3/93 ± 0/42	4/04 ± 1/61	23/17 ± 3/71	16/52 ± 2/73	0/70 ± 0/01
PCOS+GA+HF	4/08 ± 1/70	4/92 ± 1/45	26/87 ± 2/95	12/58 ± 2/80	0/76 ± 0/08
PCOS+EX+GA	2/68 ± 1/43	3/84 ± 0/54	17/01 ± 2/87	17/29 ± 2/93	0/56 ± 0/03
PCOS+EX+GA+HF	4/02 ± 0/97	4/44 ± 1/01	18/06 ± 3/04	18/52 ± 2/38	0/68 ± 0/03

بحث

در این پژوهش پس از القاء سندروم تخمدان پلی‌کیستیک با تجویز ۲۸ روزه لتروزول و تایید مدل به مطالعه اثر گالیک اسید، ۴ هفته تمرین شنا و اثر تعاملی این دو به همراه بررسی اثر رژیم غذایی پرچرب بر کیفیت بیماری‌زایی این سندروم پرداخته شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سطوح برخی از هورمون‌های جنسی به دنبال القاء سندروم دچار تغییر می‌شوند. از جمله این موارد می‌توان به کاهش چشم‌گیر پروژسترون، افزایش بیش از حد LH، FSH، بتا استرادیول و تستوسترون اشاره کرد. Dumesic و همکاران نشان داده‌اند که تولید پروژسترون و استرادیول در سلول‌های گرانولوزای زنان مبتلا به PCOS نرمال نیست [۲۷]. این امر نشان می‌دهد که بیماران مبتلا به PCOS در مقایسه با افراد سالم پاسخ متفاوتی به گنادوتروپین‌ها 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 پرچرب، همان‌گونه که انتظار می‌رفت، به عنوان عاملی در جهت تضعیف تعدیل‌کنندگی اثر تمرین شنا و تیمار با گالیک اسید خود را نشان داد. بررسی بافتی انجام شده در

تحقیق حاضر به منظور تأیید مدل تخمدان پلی‌کیستیک در موش‌های صحرایی نشان داد که استفاده از لتروزول در مدت زمان ۲۸ روز می‌تواند کیست‌های تخمدانی را با ابعاد متفاوت ایجاد کند. چنین یافته‌ای در مطالعات قبلی به تأیید رسیده است [۳۰]. رضوان-فر و همکاران نشان دادند که دوره تیمار ۲۱ روزه با لتروزول سیکل استروس را در روزهای ۱۲ تا ۱۵ ناپدید می‌سازد و از طرف دیگر، وزن تخمدان‌ها و وزن رحم نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد [۳۰]. تحقیقات نشان داده است گالیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی با مهار استراس‌اکسیداتیو از آسیب بافتی جلوگیری می‌نماید. 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 به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی نقش حیاتی در برابر بیماری‌هایی مثل اختلالات نورونیک، التهاب، عفونت‌های ویروسی و زخم معده بازی کرده و گزارش شده است گالیک اسید با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی از استراس‌اکسیداتیو جلوگیری می‌کند [۳۳]. Pal و همکاران نشان داده‌اند که گالیک اسید با مهار استراس‌اکسیداتیو و آپوپتوز مانع از گاستروپاتی 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

می‌تواند موش‌های چاق مدل سندروم تخمدان پلی‌کیستیک را تولید کند که جهت مطالعات تمرینی 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 آنجایی‌که که چاقی با فقدان تخمک‌گذاری، سقط جنین یا سایر عوارض دوران بارداری مانند پره-اکلامپسی 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 لااقل در پروفایل هورمون‌های آندورژنیک با شدت بیشتری نشان دادند. هرچند کنترل شرایط استاندارد تغذیه، نگهداری، فواصل زمانی تمرین 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 تمرین شنا و اثر تعاملی آنها سبب تعدیل سطوح سرمی هورمون‌های جنسی گردیده و تغذیه با رژیم غذایی پرچرب علاوه بر افزایش اختلال در پروفایل هورمون‌های جنسی و افزایش میزان بیماری‌زایی، اثر بهبود بخش گالیک اسید و تمرین فیزیکی را در تعدیل سطح هورمون‌های جنسی کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

بخشی از منابع مالی این پروژه توسط معاونت پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی شیراز و در قالب پژوهانه تأمین شده است. بدین وسیله، 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, Ranasinha 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 دژنراسیون هیپوکامپ را در مدل تری‌متیل‌تین‌ای بیماری آلزایمر کاهش می‌دهد [۳۶]. تمرینات 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 قابل‌توجهی در عملکرد تخمدانی، سطوح آندروژن‌های در گردش، الگوی التهابی و حساسیت به انسولین در زنان مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک می‌شود [۳۸]. مطالعه قبلی ما نشان داد که شنا کردن اجباری حیوانات می‌تواند سطح سرمی هورمون‌های آندورژنیک را در موش‌های صحرایی مدل PCOS القاء شده با لئروزول تعدیل 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 لوتئینه کننده به هورمون محرک فولیکولی و بهبود وضعیت متابولیکی شده و مانع افزایش پرولاکتین شود و به‌علاوه از اثرات سوء هاپیرآندروژنیسم جلوگیری کند [۴۰]. با توجه به تغییرات وزن و هورمون‌های جنسی (تستوسترون آزاد و آندرو-استندیون) تمرینات ورزشی به‌خصوص با شدت کم ممکن است علائم سندروم تخمدان پلی‌کیستیک را بهبود بخشد [۱۳]. Qiu و همکاران نشان دادند که تغییرات مورفولوژیکی تخمدان در موش‌های صحرایی مدل PCOS در دو گروه تمرین و بدون تمرین مشابه یکدیگر بوده، اما تمرینات کوتاه‌مدت بهبود حساسیت به انسولین و کاهش سطح آندروژن‌ها را به‌دنبال داشت [۴۱]. در پژوهش حاضر سطح هورمون‌های جنسی در گروه تمرین‌کننده که به میزان ۴ هفته تمرین شنا داشتند، نسبت به گروه بدون تمرین تعدیل 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-jammah 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] Dumesic 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, Baeri 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] Baziyar 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 β -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.