

Research Paper

Effect of Synbiotics on Lipid Profile and Serum Levels of Gonadotropins, Insulin and Glucose in Rats with Polycystic Ovary Syndrome Induced by Lipopolysaccharide



Mojtaba Hedayati Ch<sup>1</sup>, \*Mahmood Abedinzade<sup>2,4</sup>, Zahra Bostani khalesi<sup>3</sup>, Behrooz Khakpour Taleghani<sup>4</sup>, Seiyedeh Narjes Naseran<sup>5</sup>, Tahere Pourmirzaee<sup>2</sup>

1. Department of Microbiology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.
2. Medical Biotechnology Research Center, School of Paramedicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.
3. Department of Midwifery, School of Nursing and Midwifery, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.
4. Department of Physiology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.
5. Department of Biology, School of Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.



**Citation** Hedayati M, Abedinzade M, Bostani khalesi Z, Khakpour Taleghani B, Naseran SN, Pourmirzaee T. Effect of Synbiotics on Lipid Profile and Serum Levels of Gonadotropins, Insulin and Glucose in Rats with Polycystic Ovary Syndrome Induced by Lipopolysaccharide. *Journal of Guilan University of Medical Sciences*. 2022; 31(1):50-61. <https://doi.org/10.32598/JGUMS.31.1.1737.1>

**doi** <https://doi.org/10.32598/JGUMS.31.1.1737.1>



Received: 13 Jun 2021

Accepted: 25 Jan 2022

Available Online: 01 Apr 2022

**ABSTRACT**

**Background** In women of childbearing age, Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is a common endocrine disorder. The cause of PCOS is still unknown and several factors may be involved.

**Objective** This study aims to evaluate the effect of synbiotics on serum parameters such as Follicle-Stimulating Hormone (FSH), Luteinizing Hormone (LH), triglyceride, cholesterol, glucose, and insulin in rats with PCOS.

**Methods** In this study, 40 adult female Wistar rats weighing approximately 180-200 g were randomly divided into five groups of control, PCOS, PCOS+LPS, PCOS+Synbiotic, PCOS+LPS+Synbiotic. To induce PCOS, rats were treated with Lipopolysaccharide (LPS) for 21 days. At the end, serum levels of LH, FSH, and insulin were measured by the ELISA method, and blood glucose, cholesterol, and triglyceride levels were measured by the enzymatic method. The results were analyzed in SPSS v. 22 software using one-way ANOVA and Tukey's Post Hoc test.

**Results** The levels of triglycerides, cholesterol, insulin, glucose, FSH, and LH in the PCOS and PCOS+LPS groups were significantly higher compared to the control group ( $P<0.05$ ). Treatment with synbiotics in the intervention groups caused a significant reduction in all variables ( $P<0.05$ ).

**Conclusion** Synbiotics have beneficial effects on the improvement of lipid profile, gonadotropins, insulin, and glucose levels in PCOS rats induced by LPS.

**Keywords:**

Polycystic ovary syndrome, Synbiotics, Lipopolysaccharide

**Extended Abstract**

**Introduction**

**P**olycystic ovary syndrome (PCOS) with a prevalence of 10-15%, is a complex endocrine disorder associated with dyslipidemia [1-2]. For the treatment of PCOS, different

methods such as lifestyle modification, medication, and surgery are used [3]. The most common method is the medication therapy but due to the many side effects of drugs, it is very important to find alternative methods.

Intestinal microbes (microbiome) protect against pathogens, regulate host metabolism and immunity, and modulate intestinal barrier integrity [4, 5]. Evidence suggests a possible role for the intestinal microbiome in the patho-

\* Corresponding Author:

Mahmood Abedinzade

Address: Department of Physiology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

Tel: +98 (13) 42565058

E-Mail: mahmood.abedinzade@gmail.com

genesis of PCOS [6]. Tremellen et al. proposed the theory of Dysbiosis of Gut Microbiota (DOGMA). According to this theory, a disrupted balance of intestinal microbes, due to the production of toxic products by these microbes, can lead to an inflammatory response by the host immune system and impair the function of insulin receptors (creating insulin resistance). The resulting hyperinsulinemia interferes with follicular growth and maturation and stimulates the production of androgens by ovarian monocytes. Thus, it causes all three classic features related to PCOS (irregular menstrual cycles, androgen excess, and polycystic ovaries) [7]. On the other hand, a high-sugar, high-fat, and low-fiber dietary regime as well as obesity increase the permeability of intestinal mucosa [8]. In case of intestinal damage which occurs in PCOS patients, Lipopolysaccharide (LPS) enters the bloodstream whose inflammatory effects play a key role in exacerbating the symptoms of PCOS [9].

Previous studies have shown the beneficial role of probiotics in various diseases such as gastrointestinal diseases and diabetes. Considering the effects of probiotic supplements on some metabolic disorders such as insulin resistance and inflammation, and the relationship of these disorders with PCOS, it seems that probiotics or synbiotics have favorable effects on PCOS [10,11]. This study aims to investigate the effect of synbiotics on serum parameters including Follicle-Stimulating Hormone (FSH), Luteinizing Hormone (LH), triglyceride, cholesterol (CL), glucose, and insulin in LPS-treated rats with PCOS.

## Methods

In this experimental study, 40 adult female Wistar rats weighing 180-200 g were prepared from the Pasteur Institute of Iran and were kept at a temperature of 22 °C and in a 12-12 h light cycle. All had free access to water and food. For

PCOS induction in animals, an aromatase inhibitor, namely letrozole (Iran Hormone Company, Iran) was used [12]. All rats in the estrous cycle were given 1 mg/kg of letrozole orally for 21 days. After daily administration, the vaginal smear test was conducted until the changes and irregularity happened in the estrous cycle and reached the stage of persistent vaginal cornification.

The rats were randomly divided into five groups of control (n=8, not received any treatment), PCOS (n=8, received 1 mg/kg of letrozole for 21 days by gavage), PCOS + LPS (n=8, received 3 mg/kg of LPS intraperitoneally prepared from SIGMA-Aldrich Company, Germany), PCOS + Synbiotic (n=8, received 20 CFU/ml of synbiotic supplement by gavage or by mixing in a drinking water prepared from Zist Takhmir Company, Iran), and PCOS+LPS+Synbiotic (n=8, received 3 mg/kg of LPS intraperitoneally plus synbiotic supplement).

One day after receiving the last dose of the extracts (22nd day), the animals were anesthetized with 100/20 mg/kg of Ketamine/Xylazine [13]. After cutting their chest, 5 mL blood was collected from the ventricle with a 5-mm syringe. To show the effectiveness of the treatments, the serum levels of endocrine variables related to inflammation and PCOS were measured by ELISA kits and finally the data were evaluated using statistical tests (one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test) in SPSS v.22 software (IBM, USA). Kolmogorov-Smirnov test or Shapiro-Wilk test was used for evaluating the normality of data distribution. Data were described as Mean±SEM, and a P<0.05 was considered as the statistically significance level.

## Results

As shown in Table 1, letrozole increased serum levels of triglycerides (TG), cholesterol, insulin, FSH, LH, and glu-

**Table 1.** Mean plasma levels of TG, CL, insulin, glucose, FSH, and LH in rats

Group	Mean±SD					
	TG (ng.dL)	CL (mg.dL)	Insulin (ng.mL)	Glucose (mmol/L)	FSH (ng.mL)	LH (ng.mL)
Control	80±19	120±17	0.5±0.3	5.5±0.5	6±0.8	0.2±0.01
PCOS	140±17*	200±18	2±0.4*	8.2±0.4*	13±0.75*	0.48±0.015*
PCOS+LPS	190±21*	300±21	3±0.5*	9±0.5*	15.1±0.7*	0.6±0.011*
PCOS+Synbiotic	120±18#	185±19	1.2±0.4#	7±0.4#	9.1±0.6#	0.4±0.016#
PCOS+LPS+Synbiotic	160±16#	210±22	1.5±0.45#	7.2±0.3#	10.2±0.7#	0.43±0.015#

\*P<0.05; # Significant compared to the PCOS group (P<0.05)

cose in PCOS rats compared to the control group (healthy rats) which was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Triglyceride, cholesterol, insulin, glucose, FSH, and LH levels in the PCOS and PCOS+LPS groups were increased significantly compared to the healthy group ( $P < 0.05$ ). Treatment with synbiotics in both intervention groups caused a significant reduction in triglyceride, cholesterol, insulin, glucose, FSH, and LH levels.

## Discussion

Analysis of serum markers in the present study showed a significant increase in triglyceride, cholesterol, FSH, LH, insulin, and glucose levels after PCOS induction by letrozole [14]. LPS, produced by the intestinal flora, are vital molecules in causing inflammatory and microbial diseases and have an endotoxin effect. LPS enters the bloodstream, binds to the LPS-binding protein (LBP), and CD14 toll-like receptor complex (TRL-4) on the surface of innate immune cells, activating the signaling pathway. This activity of the immune system interferes with the function of the insulin receptor, leading to increase in the serum level of insulin [15]. At the same time, the presence of a permeable gut increases TNF- $\alpha$  and IL-6, which is mediated by the activation of endotoxin-induced macrophages [16]. In PCOS patients, the expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 is increased, which is related to insulin resistance [7-17]. Insulin resistance and chronic inflammation are closely related to each other; when the function of the intestinal barrier is disrupted, the endotoxin enters the bloodstream to cause chronic inflammation of the ovaries and insulin resistance, which enhances the occurrence and progression of PCOS [18].

Rashad et al. found that probiotic supplementation (*L. delbrueckii* and *L. fermentum*) for 12 weeks significantly reduced the fasting plasma glucose level and improved the lipid profile [19]. Ghanei et al. reported that probiotic supplementation for 12 weeks balanced inflammation in women with PCOS [20]. One study showed that consuming synbiotic pomegranate juice for 8 weeks in women with PCOS increased insulin sensitivity [21]. Nasri et al. and Samimi et al. showed that synbiotic supplementation (*L. acidophilus*, *L. casei*, *B. bifidum* + inulin) for 12 weeks decreased serum insulin levels in women with PCOS [22, 23]. Synbiotic supplementation has beneficial effects in reducing the symptoms of PCOS including lipid profile, gonadotropins, insulin and glucose.

## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of [Guilan University of Medical Sciences](#) (Ethics Code: IR.GUMS.REC.1396.239).

### Funding

This work was funded by [Guilan University of Medical Sciences](#) (Grant number: 96062508).

### Authors' contributions

Conceptualization and design, data curation, data analysis, data interpretation, review, funding acquisition, and supervision: Mojtaba Hedayati Ch; Conceptualization and design, data curation, data analysis, data interpretation, review, funding acquisition, drafting, supervision, and statistical analysis: Mahmood Abedinzade; Conceptualization and design, data curation, data analysis, data interpretation, review, supervision, statistical analysis: Zahra Boštani Khalesi; Conceptualization and design, data curation, data analysis, data interpretation, review, and supervision: Behrooz Khakpour Taleghani; Investigation, drafting, and review: Seiyedeh Narjes Naseran, Tahere Pourmirzaee.

### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

### Acknowledgements

The authors would like to thank the Vice-Chancellor for Research and Technology of [Guilan University of Medical Sciences](#) for financial support.

مقاله پژوهشی

ارزیابی اثر درمانی سین بیوتیکی بر سطح سرمی پروفایل لیپیدی، گنادوتروپین‌ها، انسولین و گلوکز در موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک تیمار شده با لیپوپلی ساکارید

مجتبی هدایتی چکوسری<sup>۱</sup>، \* محمود عابدین‌زاده<sup>۲،۳</sup>، زهرا بستانی خالصی<sup>۴</sup>، بهروز خاکپور طالقانی<sup>۵</sup>، سیده نرجس ناصران<sup>۵</sup>، طاهره پورمیرزایی<sup>۲</sup>

۱. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.
۲. مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.
۳. گروه مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.
۴. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.
۵. گروه بیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون، کازرون، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۲۳ خرداد ۱۴۰۰  
تاریخ پذیرش: ۰۵ بهمن ۱۴۰۰  
تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۴۰۱

**زمینه:** در زنان در سن باروری، یک اختلال اندوکرینی شایع، سندرم تخمدان پلی کیستیک است. علت سندرم تخمدان پلی کیستیک هنوز ناشناخته است و ممکن است چندین فاکتور در آن نقش داشته باشد.

**هدف:** در مطالعه حاضر تأثیر نسل جدید داروهای پروبیوتیک، یعنی سین بیوتیک‌ها بر پارامترهای سرمی از جمله هورمون محرک فولیکولی، هورمون لوتئینی، تری گلیسرید، کلسترول، گلوکز و انسولین در رت‌های مدل سندرم تخمدان پلی کیستیک تیمار شده با لیپوپلی ساکارید بررسی شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه ۴۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۸۰-۲۰۰ گرم به طور تصادفی به پنج گروه سالم، سندرم تخمدان پلی کیستیک، لیپوپلی ساکارید، سین بیوتیک، لیپوپلی ساکارید+ سین بیوتیک تقسیم شدند. جهت اقای سندرم تخمدان پلی کیستیک، رت‌ها در مدت ۲۱ روز تحت تیمار لترزول قرار گرفتند. در پایان دوره، سطوح سرمی هورمون‌های محرک فولیکول، لوتئینه کننده و انسولین به کمک روش الایزا و میزان قند خون، کلسترول و تری گلیسرید با استفاده از روش آنزیمی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و آزمون آماری واریانس و تست تعقیبی توکی آنالیز شدند.

**یافته‌ها:** سطح تری گلیسرید، کلسترول، انسولین، گلوکز، هورمون محرک فولیکول و هورمون لوتئینه کننده در گروه سندرم تخمدان پلی کیستیک و سندرم تخمدان پلی کیستیک + لیپوپلی ساکارید به طور معنی داری در مقایسه با گروه سالم افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). تیمار با استفاده از سین بیوتیک در گروه‌های مداخله سبب کاهش معنی دار کلیه متغیرها شد ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** سین بیوتیک اثرات مفیدی بر بهبود پروفایل لیپیدی، گنادوتروپین‌ها، انسولین و گلوکز در مدل سندرم تخمدان پلی کیستیک ایجاد شده در حیوان آزمایشگاهی در حیوانات تحت بررسی نشان داده است.

کلیدواژه‌ها:

سندرم تخمدان پلی کیستیک، سین بیوتیک، لیپوپلی ساکارید

مقدمه

استین و لونتال فرم کلاسیک سندرم تخمدان پلی کیستیک را توصیف کردند و ارتباط بین تخمدان پلی کیستیک و عدم قاعدگی (آمنوره)، پرمویی و چاقی را توضیح دادند. این سندرم به مدت چند دهه تحت عنوان سندرم لونتال-اشتاین شناخته می‌شد [۲]. از جمله ویژگی‌های بیوشیمیایی و بالینی این سندرم، میزان

سندرم تخمدان پلی کیستیک<sup>۱</sup> با میزان شیوع ۱۰ تا ۱۵ درصد، یک اختلال اندوکرینی پیچیده و نسبتاً ناهمگن است و از متداول‌ترین اختلالات زنان در سن باروری است [۱]. اولین بار در سال ۱۹۳۵،

1. Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)

\* نویسنده مسئول:

محمود عابدین‌زاده

نشانی: رشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دانشکده پیراپزشکی، مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی.

تلفن: +۹۸ (۱۳) ۴۲۵۶۵۰۵۸

رایانامه: mahmood.abedinzade@gmail.com

و باعث تولید بیش از حد آندروژن توسط سلول‌های تکای تخمدان می‌شود. بنابراین هر سه ویژگی کلاسیک مربوط به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (بی‌نظمی قاعدگی، هایپراندرژیسم<sup>۱۱</sup> و تخمدان‌های پلی‌کیستیک) را ایجاد می‌کند [۴].

رژیم غذایی اشباع از چربی و قند که به طور معمول در بیماران سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با وزن بالا مشاهده می‌شود، باعث رشد باکتری‌های گرم منفی بد در روده می‌شود. در حالی که رشد باکتری‌های خوب مانند بیفیدوباکتریوم<sup>۱۲</sup> و لاکتو باسیلوس (که در داروهای پروبیوتیک و سین بیوتیکی مانند ویتالاکت وجود دارد) کاهش می‌یابد. لیپو پلی‌ساکارید<sup>۱۳</sup> موجود در دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی، یک محرک قوی سیستم ایمنی است که می‌تواند سبب فعال‌سازی عمیق سیستم ایمنی ذاتی شود. از سوی دیگر رژیم اشباع از قند و چربی و کم‌فیبر و همچنین چاقی باعث افزایش نفوذپذیری مخاط روده می‌شود [۱۲]. بروز آسیب در روده (در بیماران سندرم تخمدان پلی‌کیستیک اتفاق می‌افتد) موجبات ورود لیپو پلی‌ساکارید به گردش خون را فراهم می‌کند و اثرات التهابی این ماده در تشدید علائم سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نقش کلیدی ایفا می‌کند [۱۳]. در این مطالعه لیپو پلی‌ساکارید جهت تیمار استفاده شد به این دلیل که در مدل حیوانی آزمایشگاهی تحریک روده و حساسیت آن وجود ندارد تا موجبات افزایش نفوذپذیری سیستمیک لیپو پلی‌ساکارید را فراهم آورد.

مطالعات قبلی نقش مفید پروبیوتیک‌ها را در بیماری‌های مختلف نظیر بیماری‌های دستگاه گوارش و دیابت نشان داده‌اند. همچنین چندین مطالعه حیوانی گزارش داده‌اند که پروبیوتیک‌ها قند خون و مقاومت به انسولین را در موش‌های دیابتی بهبود بخشیده‌اند. یک مطالعه متاآنالیز نیز نشان داد که پروبیوتیک‌ها باعث بهبود مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی شده‌اند. با توجه به اثرات مکمل‌های پروبیوتیک در برخی از اختلالات متابولیکی از جمله مقاومت به انسولین و التهاب و ارتباط بین این اختلالات با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، به نظر می‌رسد که داروهای پروبیوتیک و یا سین‌بیوتیک دارای اثرات مطلوبی روی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک باشند [۱۴، ۱۵]. بدین منظور مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر نسل جدید داروهای پروبیوتیک، یعنی سین بیوتیک‌ها بر پارامترهای سرمی از جمله هورمون محرک فولیکول<sup>۱۴</sup>، هورمون لوتئینه‌کننده<sup>۱۵</sup>، تری‌گلیسرید، کلسترول، گلوکز و انسولین در رت‌های مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با لیپو پلی‌ساکارید انجام شد.

بالای آندروژن<sup>۲</sup> (پرمویی و آکنه)، ظاهر پلی‌کیستیک تخمدان‌ها، بی‌نظمی‌های قاعدگی و ناباروری ناشی از عدم تخمک‌گذاری است [۳، ۴]. اختلال در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز<sup>۲</sup>، عملکرد انسولین و فعالیت تخمدان‌ها، از جمله دلایل بروز سندرم تخمدان پلی‌کیستیک هستند [۵]. سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با چاقی، دیابت نوع ۲، افزایش فشار خون و دیس‌لیپیدمی<sup>۳</sup> ارتباط نزدیکی دارد [۱]. بیشتر زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مقاوم به انسولین هستند و دچار هایپرانسولینمی<sup>۵</sup> می‌شوند که به نظر می‌رسد نقش اساسی در پاتوژنز این سندرم در نتیجه تولید مازاد انسولین و در نتیجه عدم تخمک‌گذاری صحیح داشته باشد [۷]. دیس‌لیپیدمی یک اختلال متابولیکی متداول در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک است و شامل افزایش میزان کلسترول<sup>۶</sup>، تری‌گلیسریدها (تری‌گلیسرید)<sup>۷</sup> و لیپوپروتئین با چگالی کم<sup>۸</sup> می‌شود [۲].

برای درمان سندرم تخمدان پلی‌کیستیک روش‌های درمانی متعددی مانند تغییر عادت زندگی، مصرف دارو و جراحی به کار می‌روند. مرسوم‌ترین روش، استفاده از داروهایی چون متفورمین<sup>۹</sup> است [۸]، اما با توجه به عوارض جانبی زیاد در نتیجه مصرف طولانی، یافتن و به کار بردن روش‌ها و داروهای جایگزین اهمیت بالایی دارد.

میکروب‌های روده (میکروبیوم)<sup>۱۰</sup> در سلامت و بیماری انسان نقش کلیدی دارند [۹]. محافظت در برابر پاتوژن‌ها، تنظیم متابولیسم و ایمنی میزبان و تنظیم یکپارچگی سد روده‌ای از جمله فواید آن‌هاست [۱۰]. از آنجایی که میکروبیوم روده عملکردهای فیزیولوژیکی مختلفی مانند هومئوستاز انرژی، متابولیسم گلوکز، التهاب سیستمیک را تنظیم می‌کنند که در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مختل می‌شوند، ممکن است میکروبیوم روده در پاتوژنز سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نقش داشته باشند [۱۱].

ترملن و همکارانش، نظریه اختلال زیستی میکروب‌های روده را مطرح کردند و نقش آن را در بیماری‌زایی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شرح دادند. بر اساس آن، عدم تعادل میکروب‌های روده می‌تواند منجر به پاسخ التهابی مزمن توسط سیستم ایمنی میزبان شود و عملکرد گیرنده انسولین را مختل کند (ایجاد مقاومت به انسولین). هایپرانسولینمی ناشی از عدم تعادل میکروب‌های روده در رشد و بلوغ فولیکولی تداخل ایجاد می‌کند

2. Androgen
3. Hypothalamus-pituitary
4. Dyslipidemia
5. Hyperinsulinemia
6. Cholesterol (CL)
7. Triglycerides (TG)
8. Low density lipoprotein (LDL)
9. Metformin
10. Dysbiosis of Gut Microbiota

11. Hyperandrogenism
12. Bifidobacterium
13. Lipopolysaccharide (LPS)
14. Follicle-Stimulating Hormone (FSH)
15. Luteinizing Hormone (LH)

## روش‌ها

یک روز پس از دریافت آخرین وعده عصاره، از روز بیست و دوم حیوانات تحت بیهوشی با کتامین/زایلازین<sup>۱۹</sup> (۱۰۰/۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) قرار گرفتند و با رعایت اصول و اخلاق پژوهش پس از شکافتن قفسه سینه موش‌ها از ناحیه بطنی توسط سرنگ پنج میلی‌متر خون‌گیری انجام شد [۱۵]. نمونه‌های خونی به لوله‌های مخصوص منتقل شد و سرم آن‌ها توسط دستگاه سانتریفیوژ با سرعت سه هزار دور بر دقیقه و به مدت پنج دقیقه جدا شد و نمونه‌های سرم توسط پیپت پاستور به لوله‌های جداگانه منتقل شدند و در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش‌های هورمونی نگهداری شدند. برای نشان دادن اثربخشی تیمارهای دریافت‌شده توسط حیوانات مدل میزان سرمی متغیرهای اندوکراین مرتبط با التهاب و سندرم تخمدان پلی‌کیستیک حیوانات مورد سنجش قرار گرفت. برای این منظور هورمون‌های هورمون محرک فولیکول، هورمون لوتئینه‌کننده و انسولین به کمک روش الایزا<sup>۲۰</sup> (CDB, E1037Ra, and E0182Ra, China) و میزان قند خون، کلسترول و تری‌گلیسرید با استفاده از روش آنزیمی (Cayman Chemical, 10010303 and 10007640, USA) سنجش شدند و پس از آنالیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و آزمون آماری واریانس<sup>۲۱</sup> یک‌طرفه و تست تعقیبی<sup>۲۲</sup> مورد ارزیابی قرار گرفتند و سطح  $P < 0.05$  به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

در مطالعه حاضر، گاوآژ لتروزول جهت القای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک منجر به افزایش سطح سرمی تری‌گلیسرید، کلسترول، انسولین، هورمون محرک فولیکول، هورمون لوتئینه‌کننده و گلوکز در رت‌های سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در مقایسه با گروه کنترل (سالم) شد (جدول شماره ۱). این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

سطح تری‌گلیسرید در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و پلی‌کیستیک+لیپو پلی‌ساکارید به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سالم افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). تیمار با استفاده از سین بیوتیک در هر دو گروه آزمایش سبب کاهش غیرمعنی‌دار سطح تری‌گلیسرید شد (جدول شماره ۱).

سطح کلسترول در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و پلی‌کیستیک+لیپو پلی‌ساکارید به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سالم افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). تیمار با استفاده از سین بیوتیک در هر دو گروه آزمایش سبب کاهش معنی‌دار سطح کلسترول شد ( $P < 0.05$ ) (جدول شماره ۱).

در این مطالعه تجربی، چهل سر موش صحرایی ماده بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور کرج تهیه شدند و در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری دوازده-دوازده ساعت نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به پنج گروه هشت‌تایی تقسیم شدند به کلیه گروه‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داده شد. گروه‌ها شامل موارد ذیل بودند: گروه کنترل که هیچ تیمار دارویی دریافت نکردند؛ گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک که یک میلی‌گرم/کیلوگرم لتروزول (ساخت شرکت ابرا هورمون، ایران) را به مدت ۲۱ روز به صورت گاوآژ دریافت کردند؛ گروه تجربی یک سندرم تخمدان پلی‌کیستیک که لیپو پلی‌ساکارید (SIGMA-L3024, Germany) را به صورت درون‌صفاقی<sup>۱۶</sup> با دز ۳ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کردند؛ گروه تجربی دو سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، که مکمل سینبیوتیک را به مقدار ۲۰ CFU/ml به صورت گاوآژ و یا مخلوط در آب آشامیدنی دریافت کردند؛ گروه تجربی سه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، که ابتدا لیپو پلی‌ساکارید را به صورت درون‌صفاقی با دز سه میلی‌گرم/کیلوگرم، سپس مکمل سینبیوتیک (شرکت زیست تخمیر، ایران) را دریافت کردند. پس از بررسی روش‌های مختلف القای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در مدل‌های حیوانی، در این مطالعه از روش استفاده از مهارکننده آروماتاز<sup>۱۷</sup> یعنی لتروزول<sup>۱۸</sup> استفاده شد [۵]. تیمار موش‌ها با قرص لتروزول یک میلی‌گرم/کیلوگرم با توجه به تقسیم‌بندی گروه‌ها، به صورت دهانی، توسط گاوآژ و به مدت ۲۱ روز انجام شد.

مراحل سیکل جنسی موش‌ها از طریق اسمیر واژینال (نمونه‌گیری از ترشحات واژن و مشاهده سلول‌های موجود در اسمیر در زیر میکروسکوپ نوری) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور سوآپ آغشته به سرم فیزیولوژی را وارد واژن موش کرده و نمونه گرفته شد و بلافاصله بر روی لام گسترش داده شد. جهت تثبیت نمونه، الکل هفتاد درصد بر روی لام ریخته و در مجاورت هوای آزاد قرار داده شد تا خشک شود. در ادامه، از رنگ گیمسا جهت رنگ‌آمیزی نمونه استفاده شد و بعد از پنج تا ده دقیقه، لام با آب شست‌وشو داده شد. مرحله سیکل لام تهیه‌شده زیر میکروسکوپ نوری تعیین شد.

به تمامی موش‌ها در مرحله استروس سیکل تولید مثلی، مقدار یک میلی‌گرم/کیلوگرم قرص لتروزول به مدت ۲۱ روز به صورت خوراکی داده شد. پس از تجویز روزانه، تست اسمیر واژینال تا تغییرات سیکل استروس و نامنظم شدن آن و رسیدن به مرحله اسمیر واژینال شاخی پایدار، ادامه پیدا کرد.

19. Ketamine/Xylazine

20. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

21. Analysis of Variance (ANOVA)

22. Post Hoc test

16. Intraperitoneal (IP)

17. Aromatase

18. Letrozole

جدول ۱. اندازه‌گیری سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، انسولین، گلوکز، هورمون محرک فولیکولی و لوتئینی کننده

گروه	میانگین ± انحراف معیار				
	تری‌گلیسرید (نانوگرم/دسی‌لیتر)	کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	انسولین (نانوگرم/دسی‌لیتر)	گلوکز (میلی‌مول/لیتر)	هورمون محرک فولیکولی (نانوگرم/دسی‌لیتر)
کنترل	۸۰±۱۹	۱۲۰±۱۷	۰/۳±۰/۵	۵/۵±۰/۵	۶±۰/۸
سندرم تخمدان پلی‌کیستیک	۱۴۰±۱۷*	۲۰۰±۱۸*	۲±۰/۳*	۸/۲±۰/۳*	۱۳±۰/۷۵*
سندرم تخمدان پلی‌کیستیک+لیپوپولی‌ساکارید	۱۹۰±۲۱*	۳۰۰±۲۱*	۳±۰/۵*	۹±۰/۵*	۱۵/۱±۰/۷*
سندرم تخمدان پلی‌کیستیک+سین بیوتیک	۱۲۰±۱۸#	۱۸۵±۱۹#	۱/۲±۰/۳#	۷±۰/۳#	۹/۱±۰/۶#
سندرم تخمدان پلی‌کیستیک+لیپوپولی‌ساکارید+سین بیوتیک	۱۶۰±۱۶#	۲۱۰±۲۳#	۱/۵±۰/۳#	۷/۲±۰/۳#	۱۰/۲±۰/۷#

\* P&lt;۰/۰۵، # P&lt;۰/۰۵

اندازه‌گیری سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، انسولین، گلوکز، هورمون محرک فولیکولی و لوتئینی کننده

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

محرک فولیکول، هورمون لوتئینه کننده، انسولین و گلوکز بعد از القای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک توسط لئروزولرا نشان داد.

مطالعات نشان داده اند که حداقل ۵۰ درصد زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بدون ارتباط به چاقی آن‌ها، مقاومت به انسولین دارند. با این حال حداقل ۵۰ درصد زنان مبتلا، چاق هستند و تقریباً ۲۰ درصد آن‌ها از عدم تحمل گلوکز یا دیابت شیرین نوع ۲ رنج می‌برند [۱۶]. در مقاومت به انسولین، سلول‌ها نمی‌توانند به انسولین پاسخ دهند و انسولین مازاد باعث اختلال عملکرد تخمدان می‌شود که می‌تواند منجر به اختلالات هورمونی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تخمدان شود [۱۷]. افزایش کلسترول و تری‌گلیسرید یکی از مهم‌ترین اختلالات لیپیدی در افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک است [۱۸] که مطالعه حاضر تأییدکننده این مطلب است. در این مطالعه القای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با لئروزول، افزایش پروفایل لیپیدی، چون تری‌گلیسرید را در پی داشت و تغییر در پروفایل لیپیدی نشان داده شد. لیندهیم و همکارانش در مطالعه خود در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تنوع کمتر فلور روده و همچنین تغییر مارکر سرمی لیپو پلی‌ساکارید به دلیل تخریب سد روده‌ای و التهاب را مشاهده کردند [۱۹].

لیپو پلی‌ساکارید تولیدشده توسط فلور روده‌ای، مولکول‌های حیاتی در ایجاد بیماری‌های التهابی و میکروبی هستند و اثری اندوتوکسین دارند. لیپو پلی‌ساکارید وارد خون شده، به پروتئین اتصال به لیپو پلی‌ساکارید (پروتئین متصل شونده به لیپوپولی‌ساکارید) متصل شده، پروتئین اتصال به کمپلکس گیرنده که عوارض مانند CD<sub>14</sub> (فناوری تایید شده در آزمایشگاه<sup>۲۴</sup>) بر روی سطح سلول‌های ایمنی ذاتی متصل می‌شود و مسیر سیگنالیته را فعال می‌کند. این فعالیت

23. LPS-binding protein (LBP)

24. Technology Validated in Lab (TRL 4)

سطح انسولین در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و پلی‌کیستیک+لیپو پلی‌ساکارید به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سالم افزایش یافت (P<۰/۰۵). تیمار با استفاده از سین بیوتیک در هر دو گروه آزمایش سبب کاهش معنی‌دار سطح انسولین در مقایسه با این گروه‌ها شد (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۱).

سطح گلوکز در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و پلی‌کیستیک+لیپو پلی‌ساکارید به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سالم افزایش یافت (P<۰/۰۵). تیمار با استفاده از سین بیوتیک در هر دو گروه آزمایش سبب کاهش معنی‌دار سطح گلوکز شد (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۱).

سطح هورمون محرک فولیکول در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و پلی‌کیستیک+لیپو پلی‌ساکارید به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سالم افزایش یافت (P<۰/۰۵). تیمار با استفاده از سین بیوتیک در هر دو گروه آزمایش سبب کاهش معنی‌دار سطح هورمون محرک فولیکول شد (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۱).

سطح هورمون لوتئینه کننده در گروه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و پلی‌کیستیک+لیپو پلی‌ساکارید به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سالم افزایش یافت (P<۰/۰۵). تیمار با استفاده از سین بیوتیک در هر دو گروه آزمایش سبب کاهش معنی‌دار سطح هورمون لوتئینه کننده شد (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۱).

## بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حال حاضر، اثر داروی سین بیوتیک بر پروفایل‌های تری‌گلیسرید، کلسترول، گنادوتروپین‌ها (هورمون محرک فولیکول)، هورمون لوتئینه کننده، شاخص‌های مقاومت به انسولین (انسولین و گلوکز) در رت‌های مدل سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تیمار شده با لیپو پلی‌ساکارید بررسی شد. آنالیز مارکرهای سرمی افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در سطوح تری‌گلیسرید، کلسترول، هورمون

می‌شوند [۲۹]. مطالعات قبلی نشان دادند که مکمل پروبیوتیک اثرات مطلوبی بر پروفایل متابولیکی در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک دارد. احمدی و همکاران مشاهده کردند که مکمل پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<sup>۲۸</sup>، لاکتوباسیلوس کازه‌ئی<sup>۲۹</sup> و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم<sup>۳۰</sup>) به مدت دوازده هفته در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک منجر به کاهش معنی‌دار در میزان گلوکز پلاسمایی ناشتا، غلظت انسولین سرم، تری‌گلیسرید، سطوح کلسترول در مقایسه با گروه کنترل شد [۳۰]. به طور مشابه در مطالعه دیگری که مکمل به مدت هشت هفته مصرف شده بود، همین نتایج گرفته شد، اما با این تفاوت که مکمل پروبیوتیک شامل میکروارگانسیم‌های بیشتری نسبت به مطالعه‌ی قبلی بود [۱۵].

راشد و همکاران پی بردند مکمل پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس فرمنتوم<sup>۳۱</sup>) به مدت دوازده هفته به طور قابل توجهی میزان گلوکز پلاسمایی ناشتا را کاهش داد و همچنین پروفایل لیپیدی رو بهبود داد [۳۱].

قناعی و همکاران مشاهده کردند که مکمل پروبیوتیک به مدت دوازده هفته التهاب را در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک متعادل کرد [۳۲].

تعدادی از مطالعات هم اثرات مکمل پروبیوتیک را بر روی میکروبیوم روده ارزیابی کردند. از جمله آن‌ها مطالعه ژانگ و همکارانش بود که اثرات داروی دیان<sup>۳۳</sup> (داروی مورد استفاده برای درمان سندرم تخمدان پلی‌کیستیک) و پروبیوتیک بربرین را در رت‌های مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ناشی از دی‌هیدروتستوسترون مقایسه کردند. آن‌ها گزارش دادند که تزریق پروبیوتیک تنوع میکروبیوم روده را افزایش داد [۳۳].

پری بیوتیک‌ها مواد غذایی تخمیر شده‌ای هستند که بر ترکیب و یا فعالیت میکروارگانسیم‌های دستگاه گوارش اثر می‌گذارند و اثرات مثبتی بر سلامت میزبان دارند. پری بیوتیک‌های شناخته شده عبارت‌اند از فروکتولیگوساکاریدها، اینولین، گالاکتولیگوساکاریدها و لاکتولوز [۲۸]. پری بیوتیک‌ها با تغییر دادن ترکیب میکروبیوتا بر مارکرهای متابولیکی تأثیر مثبتی دارند [۳۴]. پری بیوتیک‌ها همچنین اثرات مثبت مهمی بر بهبود پروفایل لیپیدی و گلوکز خون دارند [۳۴]. در مطالعه‌ای بالینی پی برده شد که مصرف مکمل‌های پری بیوتیک به مدت سه ماه در زنان دارای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک منجر به کاهش قابل توجهی در میزان گلوکز پلاسمایی ناشتا، تری‌گلیسرید سرم و کلسترول شد. همچنین مصرف آن در این زنان توانست سطوح آندروژن، هیرسوتیسم و

سیستم ایمنی، در عملکرد گیرنده انسولین تداخل ایجاد می‌کند و در نتیجه سبب افزایش سطح سرمی انسولین می‌شود [۲۰]. در همان زمان، وجود روده نفوذپذیر، افزایشی در میزان فاکتور نکروز توموری آلفا<sup>۲۵</sup> و اینترلوکین<sup>۲۶</sup> ایجاد خواهد کرد که توسط فعال شدن ماکروفاژهای القاشده با اندوتوکسین میانجی می‌شود [۲۱]. در بیماران سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، بیان فاکتور نکروز توموری آلفا و اینترلوکین ۶ افزایش می‌یابد که به مقاومت به انسولین مرتبط است [۴، ۲۲].

مطالعات دیگری نیز نشان داده‌اند که استفاده مستقیم از لیپو پلی‌ساکارید در گردش خون موش و انسان می‌تواند باعث افزایش قند خون ناشتا و انسولین شود [۲۳، ۲۴]. مقاومت در برابر انسولین<sup>۲۷</sup> و التهاب مزمن ارتباط تنگاتنگی دارند، این بدان معناست که وقتی عملکرد سد روده‌ای مختل می‌شود، اندوتوکسین تولید شده توسط فلور روده وارد خون می‌شود تا باعث التهاب مزمن تخمدان و مقاومت در برابر انسولین شود. از این رو وقوع و پیشرفت سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را تقویت می‌کند [۲۵].

درمان کلی برای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک وجود ندارد. از این رو تغییر سبک زندگی جهت کاهش وزن (رژیم غذایی و ورزش) و در صورت کافی نبودن این روش در کاهش علائم بیماری، درمان دارویی (آنتی دیابتیک‌ها و کنتراستپتوهای خوراکی) به بیماران تجویز می‌شود [۲۶، ۲۷]. اما از آنجایی که این درمان‌ها بعضی از علائم بیماری را بهبود نمی‌دهند، رویکردهای درمانی جدید برای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مورد نیاز هستند.

با توجه به درک نقش میکروبیوتا در پاتوژنز سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، اخیراً استفاده از عواملی که بر میکروبیوتا تأثیر می‌گذارند (میکروبیوتا را هدف قرار می‌دهند) در درمان سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مطرح شده است. به این منظور، تصور می‌شود درمان‌هایی مانند پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها گزینه‌های درمانی جدیدی برای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک هستند [۴]. اثربخشی این مفهوم کاملاً در مطالعه حال حاضر نشان داده شده است. بدین ترتیب که در گروه‌های دریافت کننده تیمار پروبیوتیکی، پروفایل‌های لیپیدی و استروئیدی که به نفع وخامت و پاتوژنز سندرم تخمدان پلی‌کیستیک هستند، کاهش پیدا می‌کنند.

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانسیم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف در مقادیر کافی و مناسب، اثرات مثبتی بر سلامتی میزبان می‌گذارند [۲۸]. پروبیوتیک‌ها دارای اثرات متابولیکی و آنزیمی مانند ضدسمی، ضد میکروبی، ضد التهابی، تعدیل کننده میکروبیوتای روده و تنظیم سیستم ایمنی هستند و از این رو می‌توانند موجب بهبود در پارامترهای متابولیکی

28. Lactobacillus Acidophilus (L delbruekii)  
29. Lactocaseibacillus Casei (Lc. paracasei)  
30. Bifidobacterium Bifidum (BB)  
31. Lactobacillus Fermentum (LF)  
32. Diane 35

25. Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF-α)  
26. Interleukin 6 (IL-6)  
27. Insulin Resistance (IR)



بی‌نظمی‌های چرخه قاعدگی را بهبود دهد [۳۵].

سین بیوتیک‌ها، غذا یا محصولاتی هستند که محتوای پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها هستند. تصور می‌شود که سین بیوتیک‌ها می‌توانند پروفایل متابولیکی را با تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و کاهش بیان ژن فاکتورهای التهابی بهبود دهند [۳۶]. در مطالعه‌ای پی برده شد که مصرف آب انار سین بیوتیک به مدت هشت هفته در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک حساسیت به انسولین را افزایش داد [۳۷]. نصری و همکاران، صمیمی و همکاران نشان دادند که مکمل سین بیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، بیفیدوباکتریوم اینولین) به مدت دوازده هفته در زنان دارای سندرم تخمدان پلی‌کیستیک میزان انسولین سرم را کاهش داد [۳۶، ۳۸].

نتیجه این تحقیق نشان داد که مصرف مکمل‌های دارویی، چون پروبیوتیک‌ها می‌تواند در بهبود علائم بیماری‌هایی چون سندرم تخمدان پلی‌کیستیک اثرات مفیدی در پی داشته باشد. برای نمونه ویتالاکت استفاده‌شده در این تحقیق اثرات مطلوبی بر بهبود پروفایل لیپیدی، گنادوتروپین‌ها، انسولین و گلوکز در مدل سندرم پلی‌کیستیک تخمدان ایجاد شده در حیوان آزمایشگاهی در حیوانات تحت بررسی از خود نشان داد.

## ملاحظات اخلاقی

### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان تصویب شد (کد اخلاق: IR.GUMS.REC.1396.239).

### حامی مالی

مطالعه حاضر با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گیلان (شماره گرنت ۹۶۰۶۲۵۰۸) انجام شده است.

### مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی و طراحی مطالعه، کسب، تحلیل و تفسیر داده‌ها، بازبینی نقادانه دست‌نوشته برای محتوای فکری مهم، نظارت بر مطالعه: مجتبی هدایتی چکوسری، محمود عابدین‌زاده، زهرا بستانی خالصی، بهروز خاکپور طالقانی؛ جذب منابع مالی: مجتبی هدایتی چکوسری، محمود عابدین‌زاده؛ تحلیل آماری: محمود عابدین‌زاده، زهرا بستانی خالصی؛ انجام مطالعه، تهیه پیش‌نویس دست‌نوشته: سیده نرجس ناصران طاهره پورمیرزایی.

### تعارض منافع

بنابر اعلام نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

## References

- [1] Kyrou I, Karteris E, Robbins T, Chatha K, Drenos F, Randeva HS. Polycystic ovary syndrome (PCOS) and COVID-19: An overlooked female patient population at potentially higher risk during the COVID-19 pandemic. *BMC Medicine*. 2020; 18(1):220. [PMID] [PMCID]
- [2] Rashidi H, Tafazoli M, Jalali MT, Eghbalnejad Mofrad AM. Serum lipid profile and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Journal of Diabetes, Metabolic Disorders & Control*. 2018; 5(3):148-52. [DOI:10.15406/jdmdc.2018.05.00147]
- [3] Abdalla MA, Deshmukh H, Atkin S, Sathyapalan T. A review of therapeutic options for managing the metabolic aspects of polycystic ovary syndrome. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*. 2020; 11:2042018820938305. [DOI:10.1177/2042018820938305] [PMID] [PMCID]
- [4] Tremellen K, Pearce K. Dysbiosis of Gut Microbiota (DOGMA)- a novel theory for the development of polycystic ovarian syndrome. *Medical Hypotheses*. 2012; 79(1):104-12. [DOI:10.1016/j.mehy.2012.04.016] [PMID]
- [5] Naseran SN, Mokhtari M, Abedinzade M, Shariati M. [Evaluation of the effect of nigella sativa hydro-alcoholic extract and honey on gonadotropins and sex hormones level in the polycystic ovarian syndrome model of wistar rat (Persian)]. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2020; 25(1):117-29. [DOI:10.52547/sjku.25.1.117]
- [6] Baptiste CG, Battista MC, Trottier A, Baillargeon JP. Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2010; 122(1-3):42-52. [PMID] [PMCID]
- [7] Diamanti-Kandarakis E, Kandarakis H, Legro RS. The role of genes and environment in the etiology of PCOS. *Endocrine*. 2006; 30(1):19-26. [DOI:10.1385/ENDO:30:1:19]
- [8] Azziz R, Carmina E, Chen Z, Dunaif A, Laven JS, Legro RS, et al. Polycystic ovary syndrome. *Nature Reviews. Disease Primers*. 2016; 2:16057. [DOI:10.1038/nrdp.2016.57] [PMID]
- [9] Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: An integrative view. *Cell*. 2012; 148(6):1258-70. [DOI:10.1016/j.cell.2012.01.035] [PMID] [PMCID]
- [10] Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 2016; 352(6285):539-44. [PMID] [PMCID]
- [11] Cozzolino M, Vitagliano A, Pellegrini L, Chirazzi M, Andriasani A, Ambrosini G, et al. Therapy with probiotics and synbiotics for polycystic ovarian syndrome: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Nutrition*. 2020; 59(7):2841-56. [DOI:10.1007/s00394-020-02233-0] [PMID]
- [12] Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews. Immunology*. 2009; 9(11):799-809. [PMID]
- [13] Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. 2007; 50(11):2374-83. [DOI:10.1007/s00125-007-0791-0] [PMID]
- [14] Pandey KR, Naik SR, Vakil BV. Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *Journal of Food Science and Technology*. 2015; 52(12):7577-87. [PMID] [PMCID]
- [15] Shoaie T, Heidari-Beni M, Tehrani HG, Feizi A, Esmailzadeh A, Askari G. Effects of probiotic supplementation on pancreatic  $\beta$ -cell function and c-reactive protein in women with polycystic ovary syndrome: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *International Journal of Preventive Medicine*. 2015; 6:27. [PMID] [PMCID]
- [16] Zare S, Nabiuni M, Tayanloo A, Hoseini S, Karimzadeh-Bardei L. The effects of *Urtica dioica* extract on lipid profile, insulin resistance index and liver histology in polycystic ovary syndrome-induced Wistar rats. *Advanced Herbal Medicine*. 2015; 1(2):23-33. <http://eprints.skums.ac.ir/4610/1/11.pdf>
- [17] Saremi A, Kazemi M. [Eight-week aerobic training in women with polycystic ovary syndrome: Effects on chronic low-grade inflammation and lipid profiles (Persian)]. *Hormozgan Medical Journal*. 2014; 18(2):143-50. <https://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=370587>
- [18] Abedini S, Pourghassem Gargari B, Babaei H, Aliasgarzadeh A, Pourabdollahi PJ. [Effect of supplementation with grape seed extract (*Vitis vinifera*) on serum lipid profiles in patient with type 2 diabetes (Persian)]. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2013; 15(1):59-66. <https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=339153>
- [19] Lindheim L, Bashir M, Münzker J, Trummer C, Zachhuber V, Leber B, et al. Alterations in gut microbiome composition and barrier function are associated with reproductive and metabolic defects in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): A pilot study. *PLoS One*. 2017; 12(1):e0168390. [DOI:10.1371/journal.pone.0168390] [PMID] [PMCID]
- [20] Hersoug LG, Møller P, Loft S. Gut microbiota-derived lipopolysaccharide uptake and trafficking to adipose tissue: Implications for inflammation and obesity. *Obesity Reviews*. 2016; 17(4):297-312. [DOI:10.1111/obr.12370] [PMID]
- [21] Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*. 2005; 115(5):1111-9. [DOI:10.1172/JCI25102]
- [22] Randeva HS, Tan BK, Weickert MO, Lois K, Nestler JE, Sattar N, et al. Cardiometabolic aspects of the polycystic ovary syndrome. *Endocrine Reviews*. 2012; 33(5):812-41. [PMID] [PMCID]
- [23] Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007; 56(7):1761-72. [DOI:10.2337/db06-1491] [PMID]
- [24] Andreassen AS, Larsen N, Pedersen-Skovsgaard T, Berg RM, Møller K, Svendsen KD, et al. Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. *The British Journal of Nutrition*. 2010; 104(12):1831-8. [PMID]
- [25] He FF, Li YM. Role of gut microbiota in the development of insulin resistance and the mechanism underlying polycystic ovary syndrome: A review. *Journal of Ovarian Research*. 2020; 13(1):73. [PMID] [PMCID]

- [26] Norman R, Wu R, Stankiewicz MT. Polycystic ovary syndrome. *The Medical Journal of Australia*. 2004; 180(3):132-7. [DOI:10.5694/j.1326-5377.2004.tb05838.x] [PMID]
- [27] El Hayek S, Bitar L, Hamdar LH, Mirza FG, Daoud G. Poly cystic ovarian syndrome: An updated overview. *Frontiers in Physiology*. 2016; 7:124. [PMID] [PMCID]
- [28] Guarner F, Khan AG, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Probiotics and prebiotics October 2011. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2012; 46(6):468-81. [DOI:10.1097/MCG.0b013e3182549092] [PMID]
- [29] Kaplanoglu H, Dinc E. Diameters and flow characteristics of forearm arteries in the preoperative period using doppler ultrasonography in healthy individuals. *Iranian Journal of Radiology*. 2018; 15(2):e12904. [DOI:10.5812/iranradiol.12904]
- [30] Ahmadi S, Jamilian M, Karamali M, Tajabadi-Ebrahimi M, Jafari P, Taghizadeh M, et al. Probiotic supplementation and the effects on weight loss, glycaemia and lipid profiles in women with polycystic ovary syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Human Fertility*. 2017; 20(4):254-61. [PMID]
- [31] Rashad NM, Shal AS, Amin AI, Soliman MH. Effects of probiotics supplementation on macrophage migration inhibitory factor and clinical laboratory feature of polycystic ovary syndrome. *Journal of Functional Foods*. 2017; 36:317-24. [DOI:10.1016/j.jff.2017.06.029]
- [32] Arbex PM, de Castro Moreira ME, Toledo RCL, de Morais Cardoso L, Pinheiro-Sant'ana HM, dos Anjos Benjamin L, et al. Extruded sorghum flour (*Sorghum bicolor* L.) modulate adiposity and inflammation in high fat diet-induced obese rats. *Journal of Functional Foods*. 2018; 42:346-55. [DOI:10.1016/j.jff.2018.01.010]
- [33] Zhang F, Ma T, Cui P, Tamadon A, He S, Huo C, et al. Diversity of the gut microbiota in Dihydrotestosterone-induced PCOS rats and the pharmacologic effects of Diane-35, probiotics, and Berberine. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10:175. [PMID] [PMCID]
- [34] Yurtdaş G, Akdevelioğlu Y. A new approach to polycystic ovary syndrome: The gut microbiota. *Journal of the American College of Nutrition*. 2020; 39(4):371-82. [PMID]
- [35] Gholizadeh Shamasbi S, Dehgan P, Mohammad-Alizadeh Charandabi S, Aliasgarzadeh A, Mirghafourvand M. The effect of resistant dextrin as a prebiotic on metabolic parameters and androgen level in women with polycystic ovarian syndrome: A randomized, triple-blind, controlled, clinical trial. *European Journal of Nutrition*. 2019; 58(2):629-40. [PMID]
- [36] Nasri K, Jamilian M, Rahmani E, Bahmani F, Tajabadi-Ebrahimi M, Asemi Z. The effects of synbiotic supplementation on hormonal status, biomarkers of inflammation and oxidative stress in subjects with polycystic ovary syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC Endocrine Disorders*. 2018; 18(1):21. [PMID] [PMCID]
- [37] Esmailinezhad Z, Babajafari S, Sohrabi Z, Eskandari MH, Amooee S, Barati-Boldaji R. Effect of synbiotic pomegranate juice on glycemic, sex hormone profile and anthropometric indices in PCOS: A randomized, triple blind, controlled trial. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*. 2019; 29(2):201-8. [PMID]
- [38] Samimi M, Dadkhah A, Haddad Kashani H, Tajabadi-Ebrahimi M, Seyed Hosseini E, Asemi Z. The effects of synbiotic supplementation on metabolic status in women with polycystic ovary syndrome: A randomized double-blind clinical trial. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019; 11(4):1355-61. [PMID]

This Page Intentionally Left Blank