

Received: 2024/4/7

Accepted: 2024/9/8

How to cite:

Abouhamzeh B, Farhadi M, Abdollahi

M. Induction of polycystic ovary

model through one-time injection of

estradiol valerate in female adult rats

in animal laboratory of Aja University

of Medical Sciences. EBNESINA

2024;26(3):79-85.

DOI: 10.22034/26.3.79

Brief Report

Induction of polycystic ovary model through one-time injection of estradiol valerate in female adult rats in animal laboratory of Aja University of Medical Sciences

Beheshteh Abouhamzeh¹, Mohammad Farhadi¹, Maasoume Abdollahi[✉]

Abstract

Background and aims: One of the most common endocrine disorders affecting females during their reproductive years is polycystic ovary syndrome (PCOS), which is associated with symptoms such as dysmenorrhea, infertility, hirsutism, acne, and obesity. This study aimed to induce a polycystic ovary model in female adult rats through a single injection of estradiol valerate.

Methods: In this experimental study, 50 adult female rats were divided into four groups: PCO+1 (N=15), PCO+2 (N=15), control (N=10), and sham (N=10). The PCO+1 and PCO+2 groups received subcutaneous injections of estradiol valerate at doses of 1 mg and 2 mg, respectively, combined with 0.2 ml of olive oil. The sham group received a subcutaneous injection of 0.2 ml of olive oil, while the control group underwent no intervention. Body and ovarian weights were measured, and histological analyses were performed to count ovary follicles.

Results: A significant increase in weight was observed in the PCO+2 group compared to the other groups. The numbers of primary, secondary, and mature follicles, as well as corpora lutea, were lower in the PCO+2 group compared to the others. However, there was no significant difference in the number of atretic follicles. Notably, the PCO+2 group showed a significant increase in the number of cystic follicles compared to the other groups.

Conclusion: The results of this study indicate that a single injection of 2 mg of estradiol valerate effectively induces a polycystic ovary model, characterized by the presence of cystic follicles and a reduction in mature follicles.

Keywords: Polycystic Ovary Syndrome, Estradiol Valerate, Ovarian Follicle, Laboratory Rats

EBNESINA - IRIAF Health Administration

(Vol. 26, No. 3, Serial 88 Autumn 2024)

1. Department of Anatomical Sciences,
Faculty of Medicine Aja University of
Medical Sciences, Tehran, Iran

✉ Corresponding Author:

Maasoume Abdollahi

Address: Department of Anatomical

Sciences, Faculty of Medicine Aja

University of Medical Sciences,

Tehran, Iran

Tel: +98 (21) 88337919

E-mail: abdollahi_masume@yahoo.com



Copyright© 2024. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: <http://www.ebnesina.ajaums.ac.ir>

القاء مدل تخمدان پلی کیستیک به وسیله تزریق یک نوبت استرادیول والرات در موش صحرایی ماده بالغ در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی آجا

بهشته ابوحمزہ^۱، محمد فرهادی^۱، معصومه عبدالهی^۱ ✉

چکیده

زمینه و اهداف: یکی از رایج‌ترین بیماری‌های دستگاه غدد درون‌ریز در زنان در سنین بارداری، سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) است که با نقص قاعدگی، ناباروری، پرمویی، آکنه و چاقی همراه است. این مطالعه با هدف سهولت القاء مدل حیوانی تخمدان پلی کیستیک تزریق یک نوبت استرادیول والرات در موش صحرایی ماده بالغ انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی بالغ ماده نژاد ویستار به چهار گروه PCO+1 (تزریق زیرجلدی ۱ میلی‌گرم در هر رت استرادیول والریت ۰/۲ میلی لیتر روغن زیتون، تعداد: ۱۵)، PCO+2 (تزریق زیرجلدی ۲ میلی‌گرم در هر رت استرادیول والریت ۰/۲ میلی لیتر روغن زیتون، تعداد: ۱۵) و گروه کنترل (بدون تزریق، تعداد: ۱۰) و گروه شم (تزریق زیر جلدی ۰/۲ میلی لیتر روغن زیتون، تعداد: ۱۰) تقسیم شدند. اندازه‌گیری وزن بدن و همچنین تخمدان‌ها انجام شد. بررسی‌های بافت‌شناسی به منظور شمارش فولیکول‌های تخمدان انجام شد.

یافته‌ها: افزایش معنادار وزن گروه PCO+2 نسبت به سایر گروه‌ها وجود داشت. تعداد فولیکول‌های اولیه، ثانویه و بالغ و همچنین تعداد جسم‌های زرد در گروه‌های کنترل، شم و PCO+1 نسبت به گروه PCO+2 بیشتر بود. اما تعداد فولیکول‌های آترتیک تفاوت معناداری را نشان نداد. علاوه بر این، تعداد فولیکول‌های کیستیک افزایش معناداری را در گروه PCO+2 نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد.

نتیجه‌گیری: مدل تخمدان پلی کیستیک با تزریق یک نوبت استرادیول والرات به میزان ۲ میلی‌گرم در موش صحرایی بالغ القاء می‌شود و با ایجاد فولیکول‌های کیستی و کاهش فولیکول‌های بالغ همراه است.

کلمات کلیدی: تخمدان پلی کیستیک، استرادیول والرات، فولیکول، موش صحرایی

(سال بیست و ششم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۳، مسلسل ۸۸)
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۱۸

فصلنامه علمی پژوهشی ابن سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهجا
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱/۱۹

۱. دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، تهران، ایران

✉ نویسنده مسئول: معصومه عبدالهی
آدرس: دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، تهران، ایران
تلفن: ۸۸۳۳۷۹۱۹ (۲۱) +۹۸
ایمیل: abdolahi_masume@yahoo.com

مقدمه

یکی از رایج‌ترین بیماری‌های دستگاه غدد درون‌ریز در زنان در سنین بارداری، سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS)^۱ است که با نقص قاعدگی، ناباروری، پرمویی، آکنه و چاقی همراه است [۱، ۲]. وجود حداقل یک تخمدان با حجم بیش از ۱۰ میلی‌لیتر و یک تخمدان با حدود ۱۰ کیست کوچک با اندازه ۲ تا ۹ میلی‌متر به عنوان تظاهرات تخمدان پلی‌کیستیک در نظر گرفته می‌شوند [۳]. در سال ۲۰۱۶ مؤسسه ملی سلامت، میزان ابتلا به PCOS در زنان سنین باروری در سراسر جهان را حدود ۱۰-۴٪ پیش‌بینی کرد [۱]. همین‌طور سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۲۲ میزان ابتلا به آن را در سراسر جهان را حدود ۲۰-۴٪ تخمین زد [۴، ۵].

علت دقیق این بیماری ناشناخته است، اما ترکیبی از عوامل ارثی و محیطی نقش مهمی را در ایجاد این بیماری به عهده دارند [۶]. از جمله دلایل ایجاد PCOS می‌توان به عدم تعادل هورمونی، التهاب خفیف مزمن، مقاومت به انسولین و افزایش هورمون‌های مردانه اشاره کرد [۷]. همچنین اخیراً ارتباطی بین PCOS و میکروبیوم روده معرفی شده است و اختلال در جمعیت میکروبیوم‌های روده که ممکن است به دلیل عوامل خطر محیطی اتفاق بیافتد را به عنوان عامل مهم در ایجاد و پیشرفت این بیماری در نظر می‌گیرند [۸].

اهمیت مدل‌های حیوانی بیماری‌های انسان مورد تأکید پژوهش‌های زیادی قرار گرفته است [۹، ۱۰]. مدل‌های حیوانی به ما در درک بهتر ساز و کار بیماری‌ها و انتخاب روش درمانی بهتر کمک می‌کنند [۹]. به منظور ایجاد مدل تخمدان پلی‌کیستیک مطالعات از داروهای متفاوت از جمله دهیدرواپی‌آندروسترون، دهیدروستوسترون، لتروزول و استرادیول‌والرات و همچنین دست‌کاری‌های ژنتیکی و محیطی (مثل مواجهه مداوم با نور یا استرس) بهره می‌برند [۱۱]. در پژوهش‌های گذشته ایجاد مدل تخمدان پلی‌کیستیک با تزریق

استرادیول‌والرات به میزان ۴ میلی‌گرم صورت گرفته است [۱۲].

با توجه به مطالعات قبلی [۱۵-۱۳]، در این مطالعه به منظور سهولت ایجاد مدل تخمدان پلی‌کیستیک در موش‌های صحرایی بالغ ماده نژاد ویستار از تک دوز ۱ میلی‌گرم و ۲ میلی‌گرم داروی استرادیول‌والرات استفاده شد و تظاهرات بافت‌شناسی تخمدان در این مدل پس از ۸ هفته مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی بالغ ماده نژاد ویستار با وزن ۲۱۰-۱۷۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. در ابتدا حیوانات برای تطابق با محیط جدید به مدت ۱۴ روز در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. حیوانات به ۴ گروه PCO+1 (۱۵ سر)، PCO+2 (۱۵ سر)، کنترل (۱۰ سر) و شم (۱۰ سر) تقسیم شدند. در گروه‌های PCO+1 و PCO+2 به ترتیب ۱ و ۲ میلی‌گرم استرادیول‌والرات (شرکت داروسازی ابوریحان) در ۰/۲ میلی‌لیتر روغن زیتون به صورت زیرجلدی در هر رت تزریق شد. گروه کنترل بدون تزریق بودند و در گروه شم تزریق زیرجلدی ۰/۲ میلی‌لیتر روغن زیتون انجام گرفت [۱۶، ۱۷].

پس از گروه‌بندی، وزن حیوانات در ابتدا ثبت شد و ۸ هفته پس از شروع مطالعه وزن حیوانات و همچنین وزن تخمدان‌ها اندازه‌گیری شد. به منظور دسترسی به تخمدان‌های موش‌ها با روش جابه‌جایی مهره‌های گردنی کشته شدند و با ایجاد شکاف طولی T در سطح شکم، تخمدان‌ها جدا و پس از برداشتن بافت هم‌بند و چربی مورد وزن‌گیری قرار گرفتند.

به منظور بررسی بافت‌شناسی، تخمدان‌های فاقد بافت هم‌بند و چربی در پارافرمالدهید ۱۰٪ فیکس شدند. مراحل آب‌گیری و شفاف‌سازی به ترتیب به وسیله درجات مختلف الکل و گزیلول انجام گرفت و برای قالب‌گیری از پارافین

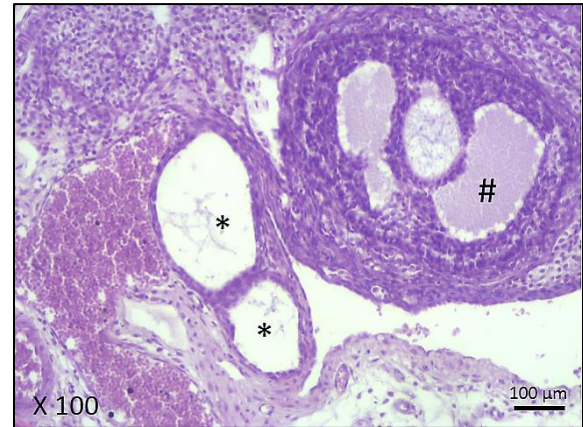
1. Polycystic ovary syndrome

مقایسه وزن ابتدایی و انتهایی موش‌ها از آزمون تی جفتی استفاده شد و مقایسه داده‌ها بین سه گروه توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تحلیل تعقیبی توکی انجام شد و مقادیر $p < 0.05$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد. داده‌های به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد.

یافته‌ها

مقایسه وزن ابتدا و انتهای حیوانات نشان داد که در هر چهار گروه مورد مطالعه وزن انتهایی نسبت به وزن ابتدایی افزایش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$) به طوری که وزن انتهایی در گروه PCO+2 $226/5 \pm 7/63$ ، در گروه کنترل $236/5 \pm 10/23$ و در گروه شم $235/8 \pm 10/05$ گرم بود. همچنین مقایسه وزن انتهایی بین چهار گروه مورد مطالعه، افزایش معنادار وزن را در گروه PCO+2 نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۱-الف). علاوه بر این، مقایسه اختلاف وزن ابتدایی و انتهایی در گروه‌های مورد مطالعه نشان‌دهنده میزان اختلاف وزن بالا و معنادار در گروه PCO+2 نسبت به سایر گروه‌ها بود به طوری که در این گروه اختلاف وزن $99/2 \pm 6/26$ گرم وجود داشت در حالی که در گروه‌های PCO+1، کنترل و شم به ترتیب اختلاف وزن $29/27 \pm 3/62$ ، $42/63 \pm 4/03$ و $41/49 \pm 3/93$ گرم وجود داشت ($p < 0.05$) (نمودار ۱-ب). مقایسه وزن تخمدان‌ها در گروه‌های مطالعه، وزن بیشتر تخمدان را در گروه PCO+2 نشان داد، اگرچه وزن تخمدان بین گروه‌ها تفاوت معنادار نداشت (نمودار ۱-ج).

تعداد فولیکول‌های بدوی در گروه‌های مطالعه تفاوت معناداری را نشان نداد، اما فولیکول‌های اولیه و ثانویه در گروه‌های کنترل، شم و PCO+1 نسبت به گروه PCO+2 بیشتر بود ($p < 0.05$). همچنین تعداد فولیکول‌های بالغ در گروه کنترل ($7/2 \pm 0/6$)، گروه شم ($7/0 \pm 0/58$) و PCO+1 ($7/4 \pm 0/7$) نسبت به گروه PCO+2 ($5 \pm 0/5$) افزایش معنادار نشان داد ($p < 0.05$). تعداد جسم زرد نیز در گروه‌های کنترل،



شکل ۱- مقطع تخمدان رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و انوزین (بزرگنمایی X100)

* نشان‌دهنده کیست؛ # نشان‌دهنده فولیکول بالغ

استفاده شد. سپس برش‌های بافتی به صورت سریالی و با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد و مورد رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و انوزین قرار گرفت. پس از رنگ‌آمیزی شمارش فولیکول‌ها شامل فولیکول‌های بدوی (دارای یک لایه سلول سنگفرشی گرانولوزا در اطراف تخمک)، فولیکول اولیه (دارای یک لایه سلول مکعبی گرانولوزا در اطراف تخمک)، فولیکول ثانویه (دارای بیش از یک لایه سلول مکعبی گرانولوزا در اطراف تخمک)، فولیکول بالغ یا آنترال (وجود حباب‌ها پر از مایع بین سلول‌های گرانولوزا)، فولیکول کیستیک (کیست‌های بزرگ با لایه نازکی از سلول‌های گرانولوزا) و اترتیک (فولیکول‌های چروکیده‌ایی که به بلوغ نرسیده‌اند) و همچنین شمارش جسم زرد، به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ انجام شد (شکل ۱).

ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه اخلاق پژوهش مبنی بر کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. شرایط مناسب از جمله آب و غذای کافی زیست برای آنها فراهم شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) استفاده شد. قبل از مقایسه داده‌ها در گروه‌ها، توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف انجام گرفت و $p > 0.05$ به عنوان توزیع نرمال در نظر گرفته شد. به منظور

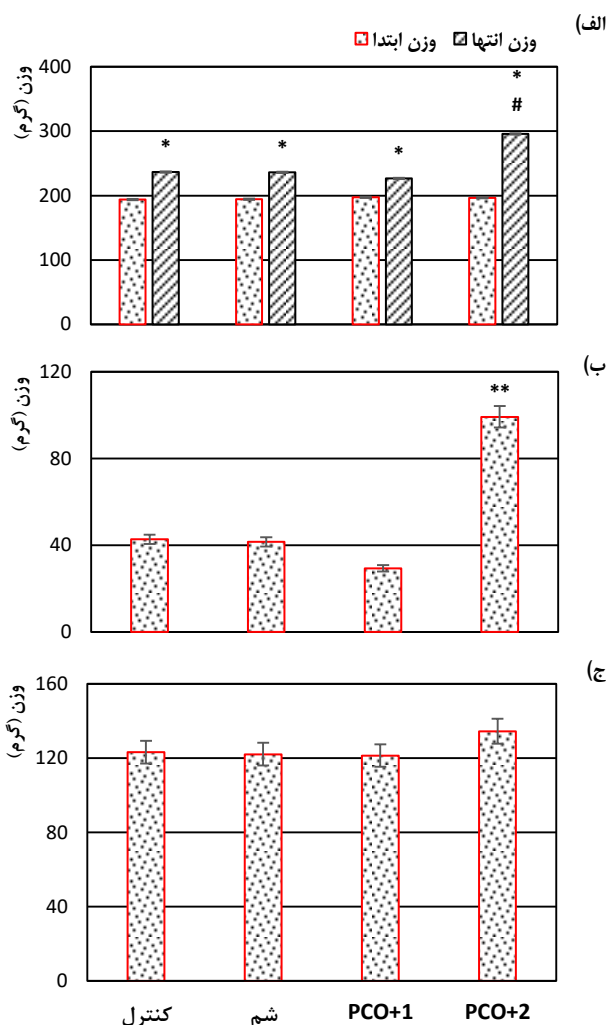
بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه به دنبال ایجاد مدل تخمدان پلی کیستیک از داروی استرادیول والرات استفاده شد. نتایج نشان داد که در گروه تزریق ۲ میلی گرم استرادیول والرات وزن حیوانات نسبت به گروه‌های دیگر مطالعه، وزن افزایش قابل توجهی را نشان داد. علاوه بر این تعداد فولیکول‌های اولیه و ثانویه در این گروه کمتر بود و تعداد فولیکول‌های بالغ هم به طور معناداری نسبت به گروه‌های دیگر کمتر بود. همچنین تعداد فولیکول‌های کیستیک قابل توجه در این گروه نشان‌دهنده ایجاد مدل تخمدان پلی کیستیک بود.

استرادیول والرات به عنوان یک داروی ضد بارداری به وسیله اختلال در محور هایپوتالاموس-هیپوفیز-تخمدان، تخمک‌زایی را مهار می‌کند [۱۸]. مطالعات نشان می‌دهد که این دارو باعث بلوغ زود هنگام، مهار LH، FSH در گردش، افزایش استرادیول، اختلال در چرخه تخمدانی، عدم حضور جسم زرد و ایجاد کیست‌های تخمدانی می‌شود [۱۹، ۲۰]. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که مکانیسم اثر این دارو از طریق فعال کردن عصب سمپاتیک تخمدان است و مطالعاتی که همراه با مداخله از بین بردن عصب سمپاتیک تخمدان هستند، برگشت عملکرد طبیعی تخمدان را گزارش داده‌اند [۲۰]. در مطالعه ما نیز بعد از تزریق استرادیول والرات، ایجاد کیست‌های فولیکولی و کاهش فولیکول‌های بالغ و جسم زرد دیده شد.

مطالعات زیادی برای مدل‌سازی PCOS از داروها و شرایط متفاوتی استفاده کرده‌اند، از جمله مطالعه کلهری و همکاران [۲۱] که به القای مدل تخمدان پلی کیستیک در موش توسط تستوسترون انانتات پرداختند و افزایش معنادار تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال و کیستیک را نسبت به گروه کنترل گزارش کردند. در مطالعه احمدی و همکاران [۲۲] هم به دنبال تزریق دی‌هیدرواپی‌آندروستندیون کاهش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های آنترال و جسم زرد و افزایش تعداد فولیکول‌های اولیه و پره‌آنترال و کیستی در مقایسه با گروه کنترل دیده شد.

در مطالعه مصباح و همکاران [۱۶] PCOS با تزریق یک



نمودار ۱- مقایسه وزن ابتدایی و انتهایی (الف)، اختلاف وزن ابتدایی و انتهایی (ب)، و وزن تخمدان‌ها (ج) در گروه‌های مطالعه

* افزایش معنادار وزن انتهایی نسبت به وزن ابتدایی ($p \leq 0.05$)
 ** افزایش معنادار وزن گیری در گروه PCO+2 نسبت به سایر گروه‌ها ($p \leq 0.05$)
 # افزایش معنادار وزن انتهایی در گروه PCO+2 نسبت به سایر گروه‌ها ($p \leq 0.05$)

شم و PCO+1 نسبت به گروه PCO+2 بیشتر بود، اما تعداد فولیکول‌های آترتیک تفاوت معناداری را نشان نداد. تعداد فولیکول‌های کیستیک افزایش معناداری را در گروه PCO+2 (9 ± 0.6) نسبت به گروه PCO+1 (۰)، کنترل (۰) و شم (۰) نشان داد ($p < 0.05$). (جدول ۱)

جدول ۱- تعداد انواع فولیکول‌های تخمدانی در گروه‌های مختلف مورد آزمایش

گروه‌ها	تعداد فولیکول‌های تخمدانی				
	بدوی	اولیه	ثانویه	بالغ	کوریپوس لوتیوم آترتیک کیست
کنترل	۵۵±۳/۷	۲۸±۲/۳	۲۱±۲	۷/۲±۰/۶	۵/۷±۰/۷
شم	۵۴±۳/۵	۲۹±۱/۹	۲۰±۱/۹	۷±۰/۵	۵/۶±۰/۶
PCO+1	۵۷±۳/۵	۳۳±۳/۴*	۲۵±۲/۴*	۷/۴±۰/۷*	۶/۹±۰/۹
PCO+2	۵۲±۳/۶	۲۴±۲/۳	۱۷±۱/۵	۵±۰/۵	۷±۰/۸#

* افزایش معنادار نسبت به گروه PCO+2
 # افزایش معنادار نسبت به دو گروه کنترل، شم و PCO+1
 داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند.

می‌تواند در نتایج تحقیق خطا ایجاد کند.

نتایج این مطالعه نشان داد که مدل تخمدان پلی کیستیک با تزریق یک نوبت استرادیول والرات به صورت آزمایشی در موش صحرایی برانگیخته می‌شود و با ایجاد فولیکول‌های کیستی و کاهش فولیکول‌های بالغ همراه است. برای معرفی یک مدل حیوانی کامل و مشترک برای ایجاد مدل تخمدان پلی کیستیک پیشنهاد می‌گردد در یک بررسی کلی و تحت شرایط یکسان داروها و عوامل مؤثر در ایجاد این سندروم به طور همزمان مقایسه گردد به خصوص ارزیابی هورمونی خون و بررسی مورفومتریک تخمدان مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این اثر بخشی از پایان‌نامه نویسنده دوم است. این پژوهش با شناسه IR.AJAUMS.REC.1399.015 در سامانه اخلاق در پژوهش در دانشگاه علوم پزشکی آجا ثبت شده است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان

همه نویسندگان در ایده‌پردازی و انجام طرح، همچنین نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بوده‌اند و همه با تأیید نهایی مقاله حاضر مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

منابع مالی

در این پژوهش از هیچ ارگانی کمک مالی دریافت نگردید.

نوبت استرادیول والرات به میزان ۰/۴ میلی‌گرم القا شد و پس از ۱۲ هفته تخمدان حیوانات از بدن خارج و شواهد ایجاد تخمدان پلی کیستیک در بافت تخمدان مشاهده شد. مطالعه طهماسبی و همکاران [۱۵] همچنین ایجاد مدل تخمدان پلی کیستیک را در پی تزریق ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرادیول والرات بعد از ۸ هفته نشان دادند. علاوه بر این در این مطالعه نشان داده شد که میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری را نشان می‌دهد. در مطالعه فرهادی‌آذر و همکاران [۲۳] تزریق استرادیول والرات به میزان ۴ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به صورت روزانه تا ۲۸ روز جهت القا PCOS انجام شد و شواهد نشان داد که در گروه مدل PCOS وزن بدن افزایش قابل توجهی نسبت به گروه کنترل داشت. همچنین نمونه‌های بافت‌شناسی شواهد ایجاد کیست تخمدانی در گروه مدل تخمدان پلی کیستیک گزارش شد. در مطالعات قبلی [۱۲] ایجاد مدل تخمدان پلی کیستیک با تزریق استرادیول والرات به میزان ۴ میلی‌گرم نشان داد که افزایش وزن بدن و وزن تخمدان در این گروه مشاهده شد. در پژوهش حاضر تزریق دوز ۲ میلی‌گرمی استرادیول والرات باعث ایجاد شواهد تخمدان پلی کیستیک در موش صحرایی شد.

ایجاد سندروم تخمدان پلی کیستی به وسیله استروژن‌ها مانند استرادیول والرات (مثل آنچه که در این پژوهش مشاهده شد) نسبت به سایر روش‌ها برتری‌هایی دارد [۲۴، ۲۵] که از آن جمله می‌توان به در دسترس و ارزان بودن دارو، برانگیختگی دایمی این سندروم و کافی بودن تنها یک دوز ۲ میلی‌گرمی تجویز آن اشاره کرد. در حالی که استفاده از داروهای دیگر مثل دی‌هیدرواپی‌آندروستندیون [۲۲] و تستوسترون انانتات [۲۱] نیاز به تیمار با مدت زمان بیشتر و مداخلات بیشتری دارد که

References

1. El Hayek S, Bitar L, Hamdar LH, Mirza FG, Daoud G. Poly cystic ovarian syndrome: An updated overview. *Frontiers in Physiology*. 2016;7:124. doi:10.3389/fphys.2016.00124
2. Motlagh Asghari K, Nejadghaderi SA, Alizadeh M, Sanaie S, Sullman MJM, Kolahi AA, et al. Burden of polycystic ovary syndrome in the Middle East and North Africa region, 1990-2019. *Scientific Reports*. 2022;12(1):7039. doi:10.1038/s41598-022-11006-0

3. Balen AH, Tan SL, MacDougall J, Jacobs HS. Miscarriage rates following in-vitro fertilization are increased in women with polycystic ovaries and reduced by pituitary desensitization with busserelin. *Human Reproduction*. 1993;8(6):959-964. doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a138174
4. Vidya Bharathi R, Swetha S, Neerajaa J, Varsha Madhavica J, Janani DM, Rekha SN, et al. An epidemiological survey: Effect of predisposing factors for PCOS in Indian urban and rural population. *Middle East Fertility Society Journal*. 2017;22(4):313-316. doi:10.1016/j.mefs.2017.05.007
5. Jabeen A, Yamini V, Rahman Amberina A, Dinesh Eshwar M, Vadakedath S, Begum GS, Kandi V. Polycystic ovarian syndrome: Prevalence, predisposing factors, and awareness among adolescent and young girls of South India. *Cureus*. 2022;14(8):e27943. doi:10.7759/cureus.27943
6. Singh S, Pal N, Shubham S, Sarma DK, Verma V, Marotta F, Kumar M. Polycystic ovary syndrome: Etiology, current management, and future therapeutics. *Journal of Clinical Medicine*. 2023;12(4):1454. doi:10.3390/jcm12041454
7. Lujan ME, Chizen DR, Pierson RA. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: pitfalls and controversies. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2008;30(8):671-679. doi:10.1016/s1701-2163(16)32915-2
8. Batra M, Bhatnager R, Kumar A, Suneja P, Dang AS. Interplay between PCOS and microbiome: The road less travelled. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2022;88(2):e13580. doi:10.1111/aji.13580
9. Lange S, Inal JM. Animal models of human disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(21):15821. doi:10.3390/ijms242115821
10. Reza Khorramzadeh M, Saadat F. Chapter 8 - Animal models for human disease. In: Verma AS, Singh A, eds. *Animal Biotechnology (Second Edition)*. Boston: Academic Press; 2020:153-171. doi:10.1016/B978-0-12-811710-1.00008-2
11. Venegas B, De León Gordillo LY, Rosas G, Espinoza JA, Morán C, Domínguez R, Morales-Ledesma L. In rats with estradiol valerate-induced polycystic ovary syndrome, the acute blockade of ovarian β -adrenoreceptors improve ovulation. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2019;17(1):95. doi:10.1186/s12958-019-0539-y
12. Rakic D, Joksimovic Jovic J, Jakovljevic V, Zivkovic V, Nikolic M, Sretenovic J, et al. High fat diet exaggerate metabolic and reproductive PCOS features by promoting oxidative stress: An improved EV model in rats. *Medicina* 2023;59(6):1104. doi:10.3390/medicina59061104
13. Picut CA, Dixon D, Simons ML, Stump DG, Parker GA, Remick AK. Postnatal ovary development in the rat: Morphologic study and correlation of morphology to neuroendocrine parameters. *Toxicologic Pathology*. 2015;43(3):343-353. doi:10.1177/0192623314544380
14. Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson BM, Holmång A. Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2005;3:44. doi:10.1186/1477-7827-3-44
15. Tahmasebi F, Movahedin M, Mazaheri Z. Poly cystic ovary model as an elevated oxidative stress factor. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2015;25(127):82-91. [Persian]
16. Mesbah F, Moslem M, Vojdani Z, Mirkhani H. Estradiol valerate-induced polycystic ovary syndrome: An animal model study. *Armaghane Danesh*. 2011;15(4):325-334. [Persian]
17. Stener-Victorin E, Lundeberg T, Cajander S, Aloe L, Manni L, Waldenström U, Janson PO. Steroid-induced polycystic ovaries in rats: effect of electro-acupuncture on concentrations of endothelin-1 and nerve growth factor (NGF), and expression of NGF mRNA in the ovaries, the adrenal glands, and the central nervous system. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2003;1:33. doi:10.1186/1477-7827-1-33
18. Haverinen A, Luiro K, Kangasniemi MH, Piltonen TT, Hustad S, Heikinheimo O, Tapanainen JS. Estradiol valerate vs ethinylestradiol in combined oral contraceptives: Effects on the pituitary-ovarian axis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2022;107(7):e3008-e3017. doi:10.1210/clinem/dgac150
19. Brawer JR, Munoz M, Farookhi R. Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the estradiol valerate-treated rat. *Biology of Reproduction*. 1986;35(3):647-655. doi:10.1095/biolreprod35.3.647
20. Rosa ESA, Guimaraes MA, Padmanabhan V, Lara HE. Prepubertal administration of estradiol valerate disrupts cyclicity and leads to cystic ovarian morphology during adult life in the rat: Role of sympathetic innervation. *Endocrinology*. 2003;144(10):4289-4297. doi:10.1210/en.2003-0146
21. Kalhori Z, Azadbakht M, Bazdar A, Zeinali H. Polycystic ovary induction in mouse by testosterone enanthate. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*. 2013;3(4):387-391. [Persian]
22. Ahmadi M, Rezaei MJ, Fathi F. Polycystic ovary induction by Dehydroepiandrosterone in Mice. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2017;25(3):100-107. [Persian] doi:10.29252/sjimu.25.3.100
23. Farhadi-Azar M, Ghahremani M, Mahboobifard F, Noroozadeh M, Yaghmaei P, Tehrani FR. Effects of Rosa damascena on reproductive improvement, metabolic parameters, liver function and insulin-like growth factor-1 gene expression in estradiol valerate induced polycystic ovarian syndrome in Wistar rats. *Biomedical Journal*. 2023;46(3):100538. doi:10.1016/j.bj.2022.05.003
24. Hadijafari M, Khani S, Abouhamzeh B, Abdollahi M, Mirghazanfari SM. Yarrow (*Achillea millefolium* L.) extract produces beneficial effects on reproductive parameters in estradiol valerate-induced polycystic ovarian syndrome in rats. *Future Natural Products*. 2020;6(1):1-13.
25. Khani S, Abdollahi M, Khalaj A, Heidari H, Zohali S. The effect of hydroalcoholic extract of *Nigella Sativa* seed on dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovarian syndrome in rats: An experimental study. *International Journal of Reproductive Biomedicine*. 2021;19(3):271-282. doi:10.18502/ijrm.v19i3.8575