

Clinical Trial Article

The Effect of Vitamin D Supplementation on Anthropometric Indices and Total Testosterone in Women with Polycystic Ovary Syndrome Treated with Low Calorie Diet: A Randomized Clinical Trial

Samira Jafari Sfidvajani¹, Roghayeh Ahangari², Mohammad Hozoori³, Hassan Mozaffari Khosravi¹, Hosein Fallahzadeh⁴, Azadeh Nadjarzadeh^{1*}

¹Department of Nutrition, Faculty of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

²Department of Obstetrics & Gynecology, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

³Department of Community Medicine, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

⁴Research Center of Prevention & Epidemiology of Non-Communicable Diseases, Faculty of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

***Corresponding Author:**

Azadeh Najarzadeh;
Department of Nutrition, Faculty of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Email:
azadehnajarzadeh@gmail.com

Received: 2 Oct, 2017
Accepted: 23 Aug, 2018

Abstract

Background and Objectives: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrine disorder in reproductive age women. In the present study, the effect of weight loss diet and vitamin D supplementation was investigated on total testosterone, anthropometric indices, and body composition in patients PCOS.

Methods: In this controlled clinical trial, 60 PCOS women with vitamin D deficiency, were randomly received vitamin D3 supplementation orally at the dose of 50000IU/week along with weight-loss intervention or one placebo/week along with weight-loss diet for 12 weeks. At the beginning and the end of the study, indices, such as anthropometric, body composition, serum level of 25-hydroxyvitamin D3, and total testosterone, were measured using parametric and non-parametric tests.

Results: After a 12-week intervention, the median of serum 25-hydroxyvitamin D3 significantly increased from 18.5 to 42.69ng/ml in vitamin D group compared to the placebo group ($p < 0.001$). Moreover, the mean of weight, body mass index (BMI), Waist circumference, hip circumference, waist to hip ratio, and fat mass significantly decreased in both groups, but was not different between the two groups. The mean of total testosterone decreased from 0.7 to 0.5ng/ml in vitamin D group, which was not statistically significant.

Conclusion: According to the results of this study, vitamin D supplementation in combination with low-calorie diet had no effect on total testosterone.

Keywords: Polycystic Ovary Syndrome; Vitamin D; Testosterone; A Randomized Clinical Trial.

DOI: 10.29252/qums.12.11.2

تأثیر مکمل ویتامین D بر شاخص‌های آنتروپومتریک و توتال تستوسترون در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک تحت درمان با رژیم کم کالری: کارآزمایی بالینی تصادفی شده

سمیرا جعفری اسفیدواجانی^۱، رقیه آهنگری^۲، محمد حضوری^۳، حسن مظفری خسروی^۱، حسین فلاح‌زاده^۴، آزاده نجارزاده^۱

چکیده

زمینه و هدف: سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)، شایع‌ترین اختلال آندوکرینی زنان در سنین باروری است. در مطالعه حاضر اثر رژیم کاهش وزن و مکمل ویتامین D بر توتال تستوسترون، شاخص‌های تن سنجی و ترکیب بدن در بیماران مبتلا به PCOS بررسی گردید. **روش بررسی:** در این کارآزمایی بالینی کنترل‌شده، ۶۰ زن مبتلا به PCOS دچار کمبود ویتامین D، به‌طور تصادفی به مدت ۱۲ هفته مکمل ویتامین D خوراکی را با دوز ۵۰۰۰ واحد در هفته همراه با رژیم کاهش وزن، یا هفته‌ای یک عدد پلاسبو و رژیم کاهش وزن دریافت کردند. در ابتدا و انتهای مطالعه، شاخص‌هایی همچون تن سنجی، ترکیب بدن، سطح سرمی ویتامین D و توتال تستوسترون با استفاده از آزمون‌های آماری پارامتریک و ناپارامتریک اندازه‌گیری شد. **یافته‌ها:** پس از ۱۲ هفته مداخله، میانه سطح سرمی ۲۵ هیدروکسی ویتامین D، به‌طور معنی‌داری از ۱۸/۵ به ۴۲/۶۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر در گروه ویتامین D در مقایسه با گروه پلاسبو افزایش یافت ($p < 0/001$). همچنین میانگین وزن، نمایه توده‌بدنی، دور کمر، دور باسن، نسبت دور کمر به دور باسن و توده چربی در هر دو گروه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما بین دو گروه متفاوت نبود. میانگین توتال تستوسترون از ۰/۷ به ۰/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر در گروه ویتامین D کاهش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه، در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک، مکمل ویتامین D و رژیم کاهش وزن در بهبود سطح تستوسترون تأثیری ندارد.

کلیدواژه‌ها: سندرم تخمدان پلی کیستیک؛ ویتامین D؛ تستوسترون؛ کارآزمایی بالینی تصادفی شده.

^۱گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران.

^۲گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

^۳گروه پزشکی جامعه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

^۴گروه تحقیقات اپیدمیولوژی و پیشگیری از بیماری‌های غیرواگیر، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

آزاده نجارزاده؛ گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

azadehnajarzadeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱

تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۱۰

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Jafari Sfidvajani S, Ahangari R, Hozoori M, Mozaffari Khosravi H, Fallahzadeh H, Nadjarzadeh A. The effect of vitamin d supplementation on anthropometric indices and total testosterone in women with polycystic ovary syndrome treated with low calorie diet. Qom Univ Med Sci J 2019;12(11):10-22. [Full Text in Persian]

مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS)، شایع‌ترین اختلال آندوکرینی زنان با شیوع تقریبی ۷-۱۵٪ می‌باشد (۱-۳). این سندرم با ظهور ۲ تا ۳ علائم زیر تشخیص داده می‌شود:

- ۱- اختلال در عملکرد تخمدان که به صورت الیگومنوره یا آمنوره بروز می‌کند. ۲- علائم بالینی یا بیوشیمیایی هایپراندروژنیسم و ۳- وجود کیست‌های ریز متعدد در تخمدان (۴). سندرم تخمدان پلی‌کیستیک منجر به بروز اختلالاتی؛ از جمله مقاومت به انسولین، اختلال تحمل گلوکز، دیس‌لیپیدمی، اضافه وزن و افزایش ریسک بیماری قلبی - عروقی می‌شود (۵، ۶). تقریباً ۳۰-۷۰٪ از زنان مبتلا به این سندرم، چاق و یا دارای اضافه وزن هستند (۷). چاقی از طریق مکانیسم‌های مختلفی منجر به افزایش سطوح آندروژن‌ها، از جمله توتال تستوسترون می‌شود (۸). همچنین کم شدن ۱۰-۵٪ وزن، ریسک فاکتورهای بیماری قلبی - عروقی، دیابت نوع ۲، پارامترهای اندوکرینی و تولید مثلی را کاهش می‌دهد (۹). بنابراین، تغییر سبک زندگی می‌تواند در بهبود پروفایل آندروژن مؤثر باشد و به عنوان اولین راهکار درمانی در بیماران PCOS توصیه می‌شود (۱۰). افزایش وزن خود منجر به مقاومت به انسولین شده و می‌تواند از جمله دلایل هایپراندروژنیسم محسوب گردد (۱۱، ۱۲). سطح تستوسترون آزاد در افراد چاق مبتلا به PCOS نیز به علت کاهش گلوکون باندشونده به هورمون‌های جنسی (SHBG) افزایش می‌یابد (۱۳، ۱۴). از طرف دیگر، انسولین ساخت SHBG را در کبد مهار کرده و از این طریق هایپرانسولینمیا مستقیماً سبب افزایش ترشح تستوسترون از تخمدان می‌شود (۱۱، ۱۵، ۱۶). در سال‌های اخیر، وضعیت سرمی ویتامین D نیز به عنوان یکی از فاکتورهای مرتبط با PCOS در نظر گرفته شده است (۱۷). کمبود ویتامین D در زنان مبتلا به PCOS و چاق، شیوع بالایی دارد؛ زیرا تجمع ویتامین D در بافت چربی، دسترسی به آن را کاهش می‌دهد (۱۸، ۱۹). در مطالعات بسیاری، ارتباط بین سطوح سرمی ناکافی ۲۵ هیدروکسی ویتامین D و اختلالات آندوکراین گزارش شده است (۲۱-۱۹).
- عملکرد بیولوژیکی ویتامین D از طریق رسپتورهای ویتامین D که در بافت اسکلتی، غدد پاراتیروئید و تخمدان بیان می‌شوند،

صورت می‌گیرد (۲۶-۲۲). تاکنون در مطالعه‌ای به بررسی اثر مکمل ویتامین D و رژیم کاهش وزن با هم بر روی سطوح توتال تستوسترون در مبتلایان به PCOS پرداخته نشده است؛ بنابراین این مطالعه با هدف بررسی اثر مکمل ویتامین D و رژیم کاهش وزن بر روی شاخص‌های آنتروپومتریک و سطوح توتال تستوسترون در بیماران مبتلا به PCOS با کمبود ویتامین D انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل‌شده دو سوکور، از فروردین‌ماه تا اسفندماه سال ۱۳۹۵ بر روی بیماران مراجعه‌کننده به درمانگاه زنان زایشگاه ایزدی قم انجام شد. حجم نمونه براساس مطالعات پیشین (۲۷)، با در نظر گرفتن کاهش میانگین توتال تستوسترون به مقدار ۰/۱۲ نانومول برلیتر، توان آزمون ۸۰٪، سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و انحراف معیار برابر ۰/۱۵، در هر گروه ۲۵ نفر محاسبه گردید و با احتساب ۲۰٪ ریزش، ۳۰ نفر در نظر گرفته شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل: داشتن سن بین ۲۰-۴۰ سال، ابتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (براساس معیارهای روتردام و اختلال در سیکل جنسی به صورت الیگومنوره یا آمنوره)، کمبود ویتامین D (سطح سرمی ۲۵ هیدروکسی ویتامین D کمتر از ۲۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر)، عدم استفاده از مکمل ویتامین D و رژیم کاهش وزن، مصرف نکردن قرص‌های خوراکی پیشگیری از بارداری و سایر داروهای هورمونی مؤثر بر سطوح توتال تستوسترون در طول سه ماه گذشته بود.

در ابتدا دریافت رژیمی؛ شاخص‌های آنتروپومتریک، سطح سرمی ویتامین D و توتال تستوسترون، سطح فعالیت فیزیکی و میزان مواجهه با نور خورشید، پس از ۱۲ هفته مداخله اندازه‌گیری شد. مطالعه حاضر توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تأیید و به تصویب رسید. همچنین از تمامی افراد رضایت‌نامه کتبی آگاهانه اخذ گردید. افراد مورد بررسی با استفاده از جدول اعداد تصادفی، در دو گروه مداخله و کنترل قرار گرفتند. گروه مداخله، پرل ویتامین D را با دوز ۵۰۰۰ واحد در هفته همراه با رژیم کاهش وزن و گروه کنترل هفته‌ای یک عدد پلاسبو را همراه با رژیم کاهش وزن، به مدت ۱۲ هفته

دریافت کردند. پلاسبو حاوی پارافین و از نظر ظاهر کاملاً شبیه ویتامین D بود که هر دو از شرکت داروسازی زهراوی (تبریز - ایران) تهیه شدند. افراد مورد بررسی و محقق، اطلاعی از تخصیص گروه‌ها نداشتند. پلاسبو و ویتامین D توسط شرکت سازنده کدگذاری شده بود. به منظور پنهان‌سازی اختصاص افراد به گروه‌ها، از پاکت‌های در بسته (حاوی کد گروه تخصیص‌یافته هر فرد همراه با درج شماره فرد بر روی پاکت) استفاده گردید. چهار عدد مکمل در طی هر ویزیت ماهانه به افراد داده شد و جهت یادآوری مصرف مکمل، یک جدول زمان‌بندی شده طراحی گردید. ارزیابی مصرف مکمل با شمارش پرل‌های باقیمانده و با حذف شرکت‌کنندگانی که بیش از ۳۰٪ از مکمل‌ها را مصرف نکرده بودند؛ صورت گرفت.

انرژی مورد نیاز روزانه افراد با استفاده از فرمول هریس بندیکت:

$$9 + 655/6 = \text{انرژی متابولیسم پایه در زنان}$$

(سن برحسب سال) $4/7 -$ (قد برحسب سانتی‌متر) $1/8 +$ (وزن برحسب کیلوگرم)

(۲۸) و سطح فعالیت فیزیکی آن‌ها محاسبه شد.

و به‌طور متوسط ۵۰۰ کیلوکالری از آن کسر گردید. توزیع درشت‌مغذی‌ها (شامل کربوهیدرات ۵۵٪، پروتئین ۱۵٪ و چربی ۳۰٪)، در هر دو گروه به‌طور یکسان انجام شد. جهت ارزیابی رژیم غذایی، افراد دریافت غذایی ۳ روز خود را (۲ روز در طول هفته و یک‌روز تعطیل) در پرسشنامه یادآمد خوراک ۲۴ ساعته یادداشت کردند. آنالیز پرسشنامه مذکور به کمک نرم‌افزار Nutritionist نسخه ۴ انجام شد. قد افراد با استفاده از متر نواری در وضعیت ایستاده در کنار دیوار، بدون کفش (با دقت ۰/۱ سانتی‌متر) و وزن با حداقل لباس، بدون کفش و با استفاده از ترازوی دیجیتالی کالیبره‌شده با دقت ۰/۱ کیلوگرم (model BF511, Omron, Japan) اندازه‌گیری شد. شاخص توده‌بدنی نیز با استفاده از تقسیم وزن (کیلوگرم) به مجذور قد (متر) محاسبه گردید. دور کمر به‌صورت کمترین شعاع در فاصله ناف تا انتهای استخوان جناغ به‌صورت عرضی و دور باسن با بزرگترین قطر در ناحیه باسن به‌طور عرضی با دقت ۰/۵ سانتی‌متر، در شرایط ایستاده اندازه‌گیری شد. درصد توده چربی و بدون چربی با دستگاه BIA (model BF511; Omron, Japan) تخمین زده شد.

سطح فعالیت فیزیکی افراد با استفاده از فرمت کوتاه‌شده پرسشنامه بین‌المللی فعالیت فیزیکی (IPAQ) دارای روایی و پایایی، به‌صورت خلاصه‌ای از مجموعه فعالیت فیزیکی افراد (۲۹) در طول یک‌هفته اخیر محاسبه گردید. همچنین از شرکت‌کنندگان خواسته شد سطح فعالیت فیزیکی خود را در طول مطالعه تغییر ندهند. میزان مواجهه هفتگی افراد با نور خورشید در طول سه ماه گذشته (تعداد ساعاتی که افراد در طول روزهای هفته، آخر هفته و در محل کار در معرض مواجهه مستقیم نور خورشید بودند) نیز با استفاده از پرسشنامه اندازه‌گیری، محاسبه و ثبت گردید. ۱۰ میلی‌لیتر خون سیاهرگی پس از ۱۲-۱۰ ساعت ناشتا بودن در اولین مراجعه و پس از ۱۲ هفته جمع‌آوری شد. نمونه خون در زنان دچار آمنوره به‌صورت تصادفی و در زنانی که قاعده می‌شدند بین روزهای دوم تا چهارم قاعدگی گرفته شد. جهت جداسازی سرم، نمونه‌ها در دمای اتاق با ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم حاصل در دمای ۴۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. سطح سرمی ۲۵ هیدروکسی ویتامین D با استفاده از کیت Euroimmun (ساخت کشور آلمان) و توتال تستوسترون با استفاده از کیت Dia Metra (ساخت کشور ایتالیا) با روش ELISA، به ترتیب با دقت ۰/۶۷ و ۰/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد.

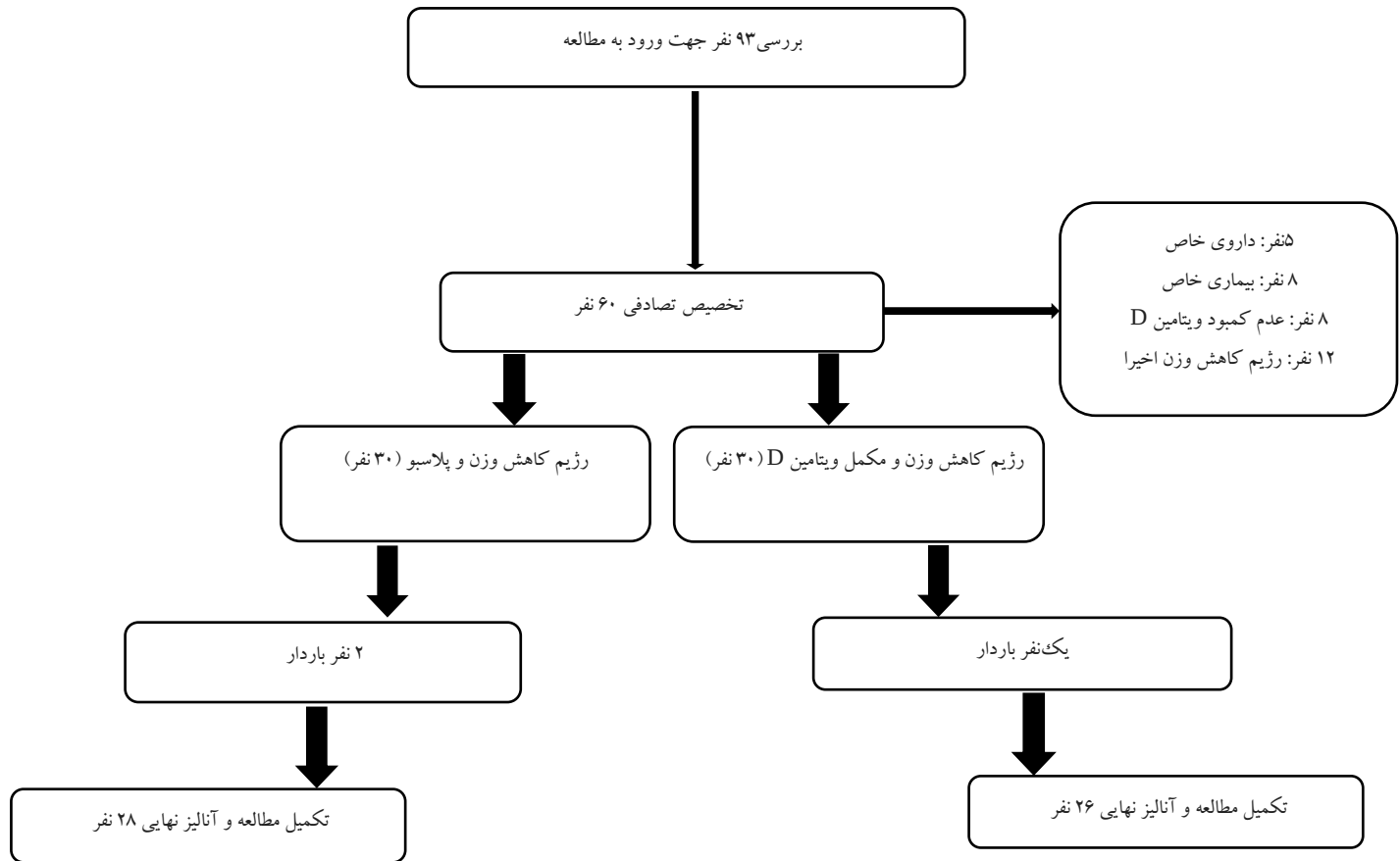
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶، آزمون آماری کلموگروف - اسمیرونف (جهت نرمالیتی توزیع داده‌ها)، آزمون تی زوجی (جهت بررسی تفاوت درون‌گروهی)، آزمون ویلکاکسون (برای داده‌های غیرنرمال)، آزمون تی مستقل (به‌منظور بررسی تفاوت بین گروهی) و آزمون من‌ویتنی (به ترتیب برای داده‌های نرمال و غیرنرمال) آنالیز شدند. از آنجایی که تعدادی از داده‌ها، توزیع غیرنرمال داشتند، تبدیل لگاریتمی صورت گرفت و جهت بررسی تفاوت و تغییرات سطح توتال تستوسترون و شاخص‌های آنروپومتریکی، از آنالیز کوواریانس با تعدیل اثر مقادیر اولیه داده‌ها، تغییرات وزن و چربی بدن استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار و داده‌های غیرنرمال به‌صورت میانه و IQR بیان شدند.

یافته‌ها

درمان در همه افراد انجام و هیچ عارضه خاصی گزارش نشد.

از نظر میانگین سن، فعالیت فیزیکی و مواجهه با نور خورشید، تفاوتی بین دو گروه مشاهده نگردید (جدول شماره ۱).

در این بررسی، ۵۴ نفر (۲۸ نفر در گروه کنترل و ۲۶ نفر در گروه مداخله)، دوره مطالعه را کامل کردند (شکل).



شکل: پیگیری شرکت کنندگان.

جدول شماره ۱: مقایسه مقادیر ابتدایی شاخص‌ها در دو گروه

متغیر	گروه مداخله (۳۰ نفر)	گروه کنترل (۳۰ نفر)	pvalue
سن [□] (سال)	۲۸/۴۳±۶/۲۷	۲۷/۸۳±۵/۷	۰/۷
فعالیت فیزیکی (دقیقه در هفته)	۲۱۷۱±۳۲۳۸	۱۸۱۱±۲۴۲۸	۰/۵۵
مواجهه با نور خورشید (ساعت در هفته)	۲/۵±۱/۳	۲/۲±۱/۳	۰/۵۸
وزن (کیلوگرم)	۸۱/۷۶±۱۳/۲۴	۸۳/۲۷±۱۳/۱۵	۰/۶۵
نمایه توده بدن (کیلوگرم بر مترمربع)	۳۱/۱±۴/۹	۳۱/۶±۴/۹	۰/۶۷
دور کمر (سانتی متر)	۱۰۱/۵۶±۱۲/۱۳	۱۰۲/۹۸±۱۱/۶۴	۰/۶۴
دور باسن (سانتی متر)	۱۱۱/۰۶±۸/۵	۱۱۳/۹±۱۰/۶	۰/۲۵
دور کمر/دور باسن [□]	۰/۹±۰/۰۶	۰/۸۹±۰/۰۶	۰/۶
درصد توده چربی (کیلوگرم)	۴۴/۶۹±۵/۳۵	۴۶/۲±۴/۳۶	۰/۲۳
درصد توده بدون چربی (کیلوگرم)	۲۳/۹۹±۲/۲۸	۲۳/۲۶±۱/۹۳	۰/۱۹
توتال تستوسترون (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۷±۰/۳۷	۰/۶±۰/۳۴	۰/۷۹
۲۵ هیدروکسی ویتامین D (نانوگرم بر میلی لیتر)	۱۸/۵(۱۰/۷۵-۲۰)	۱۷(۹-۲۰)	۰/۴

[□] داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. p معنی داری بین گروه‌ها با آزمون (تی مستقل).

^{□□} داده‌ها به صورت میانه و IQR بیان شدند. p معنی داری بین گروه‌ها با آزمون من ویتنی.

آنالیز توتال تستوسترون با لگاریتم صورت گرفت.

در پایان مداخله، دریافت رژیم انرژی، کربوهیدرات، چربی و کلسترول، به‌طور معنی‌داری در هر دو گروه در مقایسه با ابتدای مطالعه کاهش یافت، اما تفاوت بین دو گروه از نظر آماری معنی‌دار نبود. علاوه بر این، دریافت ویتامین D نیز در هر دو گروه افزایش داشت ($p < 0.001$)، بدون اینکه تفاوتی بین دو گروه مشاهده گردد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: مقایسه انرژی و مواد مغذی دریافتی شرکت‌کنندگان در طول مطالعه

متغیر	P	گروه‌ها		P	مداخله		P	کنترل		P
		انتها (۲۶ نفر)	ابتدا (۳۰ نفر)		انتها (۲۸ نفر)	ابتدا (۳۰ نفر)		انتها (۲۸ نفر)	ابتدا (۳۰ نفر)	
انرژی دریافتی (کیلوکالری در روز)	<0.001	1550.55±700.96	2438.02±1105.7	0.001	1499.75±377.44	2196.37±822.85	0.001	1499.75±377.44	2196.37±822.85	0.001
پروتئین (گرم در روز)	0.17	62.05±11.46	76.22±29.68	0.1	65.65±13.04	73.43±29.22	0.1	65.65±13.04	73.43±29.22	0.1
کربوهیدرات (گرم در روز)	<0.001	187.08±50.96	276.11±106.23	<0.001	198.5±36.8	262.79±77.84	<0.001	198.5±36.8	262.79±77.84	<0.001
چربی (گرم در روز)	<0.001	44.21±12.04	92.26±41.97	<0.001	45.46±10.15	91.87±47.5	<0.001	45.46±10.15	91.87±47.5	<0.001
درصد کالری دریافتی از چربی	<0.001	31.37±7.28	39.68±11.21	0.01	29.7±4.44	35.82±12.45	0.01	29.7±4.44	35.82±12.45	0.01
درصد کالری دریافتی از پروتئین	<0.001	18.39±2.33	13.79±1.88	<0.001	17.75±1.8	14.24±1.26	<0.001	17.75±1.8	14.24±1.26	<0.001
درصد کالری دریافتی از کربوهیدرات	<0.001	53.3±6.42	47.77±10.62	0.09	55.06±3.01	51.41±11.87	0.09	55.06±3.01	51.41±11.87	0.09
کلسترول (میلی گرم در روز)	0.05	130.28(115.6-173.44)	200.14(142.73-203.75)	0.06	125.49(105.42-153.96)	151.2(119.37-203.75)	0.06	125.49(105.42-153.96)	151.2(119.37-203.75)	0.06
ویتامین D (میکروگرم در روز)	<0.001	2.39(2.29-2.6)	0.5(0.0-1.06)	<0.001	2.39(2.29-2.6)	0.5(0.0-1.06)	<0.001	2.39(2.29-2.6)	0.5(0.0-1.06)	<0.001

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند.

[†]pvalue داخل گروه با آزمون تی زوجی، [†]pvalue بین گروه‌ها در ابتدا و انتها مطالعه با آزمون تی مستقل.

[‡]pvalue داخل گروه با آزمون Wilcoxon tests، [†]pvalue بین گروه‌ها در ابتدا و انتهای مطالعه با آزمون من‌ویتنی.

آنالیز داده‌های مربوط به پروتئین دریافتی و کالری دریافتی از پروتئین و چربی با استفاده از لگاریتم انجام شد. در پایان مطالعه، تمامی شاخص‌های آنتروپومتریک؛ از جمله وزن، شاخص توده‌بدنی، دور کمر، دور باسن، نسبت دور کمر به باسن و درصد توده چربی به‌طور معنی‌داری در هر دو گروه کاهش یافت، اما تفاوت بین دو گروه معنی‌دار نبود (جدول شماره ۳). پس از مداخله، سطح سرمی ۲۵ هیدروکسی ویتامین D به‌طور معنی‌داری در هر دو گروه افزایش یافت، اما میزان افزایش در

جدول شماره ۳: مقایسه شاخص‌های آنتروپومتریک، ترکیب بدن و شاخص‌های آزمایشگاهی در هر گروه و بین دو گروه پس از مداخله

متغیر	P	گروه‌ها		P	مداخله		P	کنترل		P
		قبل (۳۰ نفر)	بعد (۲۶ نفر)		قبل (۳۰ نفر)	بعد (۲۸ نفر)		قبل (۳۰ نفر)	بعد (۲۸ نفر)	
وزن (کیلوگرم)	0.17	81.76±13.2	79.27±13.7	<0.001	83.27±13.15	79.74±13.26	<0.001	83.27±13.15	79.74±13.26	<0.001
نمایه توده بدن (کیلوگرم بر مترمربع)	0.17	31.1±4.9	30.1±5.2	<0.001	31.6±4.9	30.5±5.3	<0.001	31.6±4.9	30.5±5.3	<0.001
دور کمر (سانتی‌متر)	0.052	101.56±12.13	94.03±11.07	<0.001	102.98±11.64	95.8±11.14	<0.001	102.98±11.64	95.8±11.14	<0.001
دور باسن (سانتی‌متر)	0.35	111.0±6.85	108.26±9.38	<0.001	113.9±10.6	110.78±10.47	<0.001	113.9±10.6	110.78±10.47	<0.001
دور کمر/دور باسن	0.73	0.9±0.06	0.87±0.07	<0.001	0.89±0.06	0.86±0.06	<0.001	0.89±0.06	0.86±0.06	<0.001
درصد توده چربی (کیلوگرم)	0.58	44.69±5.35	44.07±6.51	0.04	46.2±4.36	44.96±5.28	0.03	46.2±4.36	44.96±5.28	0.03
درصد توده بدون چربی (کیلوگرم)	0.6	23.99±2.28	24.01±2.78	0.85	23.26±1.93	23.65±2.31	0.28	23.26±1.93	23.65±2.31	0.28
۲۵ هیدروکسی ویتامین D (نانوگرم بر میلی لیتر)	<0.001	18.5(20-10.75)	42.69(53.25-34)	<0.001	17(20-9)	25.32(33-18)	<0.001	17(20-9)	25.32(33-18)	<0.001
توتال تستوسترون (نانوگرم بر میلی لیتر)	0.88	0.7±0.37	0.54±0.16	0.18	0.6±0.34	0.57±0.29	0.14	0.6±0.34	0.57±0.29	0.14

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند.

^ap داخل گروه با آزمون، ^bp (paired sample t test) بین گروه‌ها با آزمون (independent t test)؛

[‡]p داخل گروه با آزمون (Wilcoxon tests)؛

[†]p بین گروه‌ها با آزمون (ANCOVA)، ادجاست شده بر اساس داده‌های اولیه، تغییرات وزن و چربی بدن؛

آنالیز داده‌های مربوط به BMI و به توتال تستوسترون با استفاده از لگاریتم انجام شد.

جدول شماره ۴: مقایسه تغییرات شاخص های آزمایشگاهی و آنتروپومتریک بین گروه ها در طول مطالعه

متغیر	گروه ها	مداخله (۳۰ نفر)	کنترل (۳۰ نفر)	pvalue
تغییرات وزن (کیلوگرم)		$-3/06 \pm 2/75$	$-2/99 \pm 2/55$	۰/۲۴
تغییرات نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)		$-1/15 \pm 1/03$	$-1/14 \pm 1/00$	۰/۹۵
تغییرات دور کمر (سانتی متر)		$-6/11 \pm 4/93$	$-5/67 \pm 5/68$	۰/۸۳
تغییرات دور باسن (سانتی متر)		$-3/3 \pm 2/43$	$-3/28 \pm 3/21$	۰/۹۸
تغییرات دور کمر/ دور باسن		$-0/03 \pm 0/03$	$-0/02 \pm 0/03$	۰/۶۸
تغییرات درصد توده چربی (کیلوگرم)		$-0/84 \pm 2/02$	$-1/03 \pm 2/48$	۰/۶۹
تغییرات درصد توده بدون چربی (کیلوگرم)		$0/03 \pm 1/04$	$0/31 \pm 1/54$	۰/۴
تغییرات توتال تستوسترون (نانوگرم بر میلی لیتر)		$-0/15 \pm 0/4$	$-0/08 \pm 0/3$	۰/۲۴
۲۵ تغییرات هیدروکسی ویتامین D (نانوگرم بر میلی لیتر)		$27/5 \pm 13/21$	$10/38 \pm 8/04$	<0/001

داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شدند.

P بین گروه ها با آزمون آنوا ادجاست شده براساس داده های اولیه، تغییرات وزن و چربی بدن.

بحث

این مطالعه، اولین کارآزمایی بالینی انجام شده جهت بررسی اثر مکمل ویتامین D و رژیم کم کالری بر روی تستوسترون در زنان چاق مبتلا به PCOS بود. نتایج نشان داد استفاده از مکمل خوراکی ویتامین D با دوز ۵۰۰۰ واحد در هفته و رژیم کاهش وزن می تواند در کاهش وزن، نمایه توده بدنی، دور کمر، دور باسن، نسبت دور کمر و باسن و درصد توده چربی در افراد مبتلا به PCOS مؤثر باشد؛ اگرچه تأثیری بر سطح تستوسترون تام ندارد.

افزایش چاقی در جامعه، می تواند پیامدهایی همانند اختلال در سیکل جنسی و ناباروری را به خصوص در زنان مبتلا به PCOS به همراه داشته است (۳۱-۳۰). همچنین چاقی منجر به ایجاد یک اختلال پیچیده بین غده هیپوفیز، پانکراس و تخمدان می شود که در پی آن الگوی ترشح هورمون ها نیز تغییر می کند (۳۲)، و ارتباط مستقیمی بین شدت عوارض بالینی، متابولیکی و شاخص توده بدنی در افراد COS وجود دارد (۳۳). زنان چاق مبتلا به PCOS همراه با چاقی شکمی، در معرض خطر افزایش مقاومت به انسولین قرار دارند (۳۴). مکانیسم هایی همچون اختلال در عملکرد انسولین (۳۵) و سلول های β پانکراس (۳۶)، افزایش ترشح انسولین در پاسخ به دریافت رژیمی (۳۷) و کاهش برداشت انسولین در کبد (۳۸)، منجر به مقاومت به انسولین در بیماران PCOS می شود.

از طرفی، کاهش وزن همراه با کاهش مقاومت به انسولین، تأثیر مفیدی بر تولیدمثل و شرایط متابولیک در بیماران PCOS مبتلا به اضافه وزن دارد و رژیم کاهش وزن نیز می تواند منجر به کاهش فعالیت آنزیم P450c17a در نتیجه کاهش تولید آندروژن ها، از جمله تستوسترون در تخمدان شود (۳۹). علاوه بر این، تولید لپتین با کم شدن وزن، کاهش می یابد و در پی آن کنترل نورواندوکرین بر روی ترشح استروئیدهای تخمدان نیز غیرفعال می گردد (۴۰). همچنین کاهش انرژی دریافتی و کاهش وزن بر روی فاکتورهای رشد شبه انسولین و پروتئین باندشونده به آنها تأثیر می گذارد (۴۱). بنابراین، در نتیجه کاهش سطح انسولین در طول محدودیت دریافت انرژی، سطح IGF باندینگ پروتئین ۱ افزایش می یابد (۴۲). از طرفی، ارتباط معکوسی بین سطح سرمی آدیپونکتین و شدت مقاومت به انسولین وجود دارد (۴۳-۴۴)، و در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک، سطوح آدیپونکتین کاهش و لپتین افزایش می یابد (۴۵، ۴۶). بنابراین، رژیم کاهش وزن و فعالیت فیزیکی، در بهبود پروفایل آندروژن، از جمله تستوسترون مؤثر است و می توان آن را به عنوان اولین راهکار درمانی به بیماران PCOS توصیه کرد (۱۰). رژیم غذایی با محدودیت انرژی همراه با کاهش شاخص آندروژن آزاد، توتال تستوسترون، تستوسترون آزاد و افزایش گلوکون باندشده به هورمون های جنسی (SHBG)، منجر به کاهش هایپرآندروژنیسم، القای تخمک گذاری و باروری می شود (۴۲).

بنابراین، کاهش وزن معمولاً با کاهش آندروژن، انسولین و بهبود علائم بالینی در زنان چاق مبتلا به PCOS همراه است (۴۸،۴۷،۳۹). اگرچه کاهش وزن اثرات مفیدی در درمان PCOS دارد، اما ترکیب یک رژیم غذایی ایده‌آل هنوز مشخص نیست (۴۹). در مطالعات زیادی به بررسی اثر رژیم غذایی در بهبود PCOS پرداخته شده که نتایج برخی از آن‌ها با یافته‌های مطالعه حاضر همسو و برخی متفاوت است. در مطالعه Marsh، تفاوتی در میزان کاهش وزن، توده چربی و بهبود پروفایل آندروژن در بیماران PCOS تحت درمان با رژیم کم‌کالری با نمایه گلاسمی پایین و رژیم کاهش وزن متداول مشاهده نشد (۵۰)، و احتمالاً به علت اینکه شرکت‌کنندگان قادر نبودند ۷٪ از وزن اولیه خود را از دست بدهند، سطح سرمی توتال تستوسترون تغییری نکرده بود. در مطالعه Moran و همکاران نیز تفاوتی در وزن، توده چربی، پروفایل آندروژن و مقاومت به انسولین بین دو گروه از بیماران PCOS دریافت‌کننده رژیم کاهش وزن پر پروتئین یا کم پروتئین مشاهده نشد که نشان می‌دهد با توجه به کاهش سطح انسولین در طول محدودیت انرژی در کوتاه‌مدت (به‌طور مثال پس از ۴ هفته مداخله) و افزایش سطح IGF باندینگ پروتئین ۱ که در پی آن خود منجر به کاهش IGF-I آزاد شده و از این طریق ساخت آندروژن‌ها را کاهش می‌دهد (۴۲)؛ درمقابل کاهش وزن در مدت زمان طولانی، تأثیری بر روی IGFها و ناقلین پروتئینی آنها ندارد و احتمالاً دوره طولانی این مداخله باعث عدم تأثیر رژیم غذایی بر سطح توتال تستوسترون می‌شود، اما در مطالعه انجام‌شده توسط Azadi-Yazdi و همکاران (۵۱)، رژیم کاهش وزن DASH در مقایسه با رژیم کاهش وزن متداول، شاخص‌های آنتروپومتریک و پروفایل آندروژن را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشید.

با در نظر گرفتن اینکه میزان کلسیم دریافتی از طریق رژیم DASH تقریباً ۱/۵ برابر رژیم عادی است و کلسیم نقش بسیار مهمی در تکامل فولیکول‌ها و تخمک‌گذاری دارد؛ علاوه بر این، کلسیم و ویتامین D می‌توانند آندروژن‌ها را در سلول‌های گرانولا تخمدان به استروژن تبدیل کنند و وضعیت هایپرآندروژنیسم را بهبود بخشند؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً ترکیب غذایی متفاوت رژیم DASH در مقایسه با رژیم کاهش وزن، سطح

توتال تستوسترون و سایر آندروژن‌ها را بهبود بخشیده است. همچنین با توجه به مطالعات می‌توان احتمال داد ترکیب رژیم کاهش وزن استفاده‌شده در مطالعه حاضر در هر دو گروه یکسان بوده و تغییرات شاخص‌های آنتروپومتریک و توتال تستوسترون نیز بین دو گروه مشابه بوده است؛ علاوه بر این، اگر پارامترهای مورد نظر پس از ۴ هفته اندازه‌گیری می‌شد، احتمال داشت تحت تأثیر IGFها، پروتئین‌های ناقل آنها نیز به‌طور معنی‌داری بهبود یابند. نتایج برخی مطالعات که اثر رژیم و مکمل ویتامین D را با هم بر روی گروه‌های هدف دیگر بررسی کرده‌اند نیز با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی داشت؛ به‌عنوان مثال می‌توان به مطالعه انجام‌شده توسط Mason و همکاران (۵۲) اشاره کرد. در این مطالعات هیچ تفاوتی در میزان وزن، توده چربی و پروفایل آندروژن در زنان یائسه چاق و مبتلا به کمبود ویتامین D گزارش نشده است. علت احتمالی که منجر به عدم تأثیر مکمل ویتامین D بر شاخص‌های آنتروپومتریک و تستوسترون شده است، می‌تواند وجود رابطه دوز - پاسخ باشد؛ به‌گونه‌ای که نتایج آنالیز براساس میزان افزایش سطح سرمی ویتامین D نشان داد افرادی که ذخایر ویتامین D آنها به‌طور کامل بازسازی شده است نسبت به افرادی که افزایش جزئی در سطح سرمی ویتامین D دارند، دارای کاهش وزن معنی‌داری بوده که در پی آن، سطح سرمی SHBG و تستوسترون نیز به ترتیب افزایش و کاهش می‌یابد. علاوه بر این، نتیجه مطالعه انجام‌شده توسط امیری لروند و همکاران (۵۳)، بهبودی در کاهش وزن، درصد چربی، مقاومت به انسولین و سطح آنزیم‌های کبدی در مبتلایان به کبد چرب غیرالکلی که رژیم کاهش وزن و مکمل ویتامین D یا پلاسبو دریافت می‌کردند، نشان نداد. این نتایج احتمالاً به این دلیل بوده که همه افراد تحت درمان با رژیم کاهش وزن قرار داشته‌اند و شاخص‌های آنتروپومتریک در هر دو گروه به میزان یکسان کاهش یافته است. از آنجایی که، ویتامین D یک ویتامین محلول در چربی بوده و بافت چربی به‌عنوان اولین جایگاه تجمع و ذخایر ویتامین D در نظر گرفته می‌شود؛ لذا سطح سرمی آن در افراد چاق کاهش می‌یابد، هرچند هنوز مقادیر سطح سرمی ویتامین D حساس به تغییر، در نتیجه کاهش وزن مشخص نشده است، اما با کاهش وزن و بافت‌های چربی، ویتامین D آزاد می‌گردد (۵۴-۵۸).

توانسته سطح آندروژن‌ها و استروژن را در بیماران PCOS به سطح نرمال برساند.

ازجمله محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم انجام آنالیزها براساس میزان کاهش وزن و مقدار افزایش سطح ویتامین D اشاره کرد. از آنجایی که بیماران در هر دو گروه، رژیم کاهش وزن دریافت کردند، اثر مستقل ویتامین D بر پروفایل آندروژن قابل اندازه‌گیری نبود.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مکمل یاری ویتامین D همراه با رژیم کاهش وزن به مدت ۱۲ هفته در زنان چاق و یا دارای اضافه وزن مبتلا به PCOS، برخی فاکتورهای آنتروپومتری را کاهش می‌دهد؛ اگرچه در مقایسه با گروه دریافت‌کننده رژیم معنی‌دار نیست. مکمل ویتامین D نیز تأثیری بر میانگین توتال تستوسترون ندارد؛ لذا پیشنهاد می‌گردد مطالعات کارآزمایی بالینی با دوره مداخله طولانی‌تر و حجم نمونه بیشتر انجام شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی بیماران شرکت‌کننده در این مطالعه، همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تشکر کرده و از خداوند منان برای آنها سلامتی و موفقیت روزافزون را خواهیم. این مطالعه به‌عنوان بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام شد.

شماره ثبت بالینی:

IRCT=2016062710826N19

همچنین با توجه به افزایش سطح سرمی ویتامین D در گروه پلاسبو در این مطالعه، ممکن است آزادسازی ویتامین D از بافت چربی، سبب افزایش سطح سرمی آن شده باشد و مکمل D نتوانسته تفاوت معنی‌داری در کاهش پروفایل آندروژن بین دو گروه ایجاد کند. از طرفی، با در نظر گرفتن عدم انجام آنالیز دوز - پاسخ به دلیل حجم کم نمونه، بهبود معنی‌داری در گروه مداخله نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد؛ در نتیجه در افرادی که به میزان بیشتری کاهش وزن داشتند یا سطح سرمی ویتامین D آنان به میزان بیشتری افزایش یافته بود، بهبود بیشتری در سطح توتال تستوسترون آن‌ها مشاهده گردید؛ البته در ابتدای مطالعه میانگین سطح سرمی توتال تستوسترون بیماران با مقادیر نرمال آن، تفاوت جزئی داشت. در واقع، با توجه به اینکه شدت هایپرآندروژنیسم در بیماران مورد مطالعه زیاد نبود، مکمل ویتامین D نیز کاهش معنی‌داری در تستوسترون ایجاد نکرد. در مطالعه حاضر هیچ داده‌ای مبنی بر تأثیر مستقیم و معنی‌دار مکمل ویتامین D بر روی توتال تستوسترون یافت نشد. نتایج مطالعه پایلوت انجام‌شده توسط Selimoglu و همکاران نیز کاهش معنی‌داری در میانگین توتال تستوسترون در نتیجه مصرف تنها یک مکمل ویتامین D (با دوز ۳۰۰۰۰ واحد در طول ۳ هفته) در بیماران مبتلا به PCOS نشان نداد (۵۹)، که عدم مشاهده نتیجه احتمالاً به علت حجم کم نمونه و دوره کوتاه مداخله بوده است. Bonakdaran و همکاران نیز پس از مقایسه اثر مکمل ویتامین D با پلاسبو و متفورمین در ۵۳ بیمار مبتلا به PCOS، تفاوت معنی‌داری در کاهش تستوسترون بین سه گروه مشاهده نکردند (۶۰). با توجه به اینکه در این مطالعه، مکمل ویتامین D کاهشی در مقاومت به انسولین ایجاد نکرد؛ ممکن است عدم تغییر تستوسترون نیز به علت عدم بهبود مقاومت به انسولین بوده است.

نتایج برخی مطالعات با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی داشت (۶۱، ۶۲). در مطالعه انجام‌شده توسط Garg و همکاران (۶۳) مکمل ویتامین D توانست میانگین توتال تستوسترون را پس از ۶ ماه در مقایسه با ابتدای مطالعه در گروه مداخله کاهش دهد. احتمالاً واسطه‌های ۲۵ و ۱ دی‌هیدروکسی ویتامین D3 در سلول‌های گرانولا تخمدان، مشتقات آندروژن ازجمله تستوسترون را به استروژن تبدیل کرده‌اند؛ بنابراین ویتامین D از این طریق

References:

1. Farquhar C, Birdsall M, Manning P, Mitchell JM, France JT. The prevalence of polycystic ovaries on ultrasound scanning in a population of randomly selected women. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1994;34(1):67-72. Link
2. Lobo RA, Carmina E. The importance of diagnosing the polycystic ovary syndrome. *Ann Intern Med* 2000;132(12):989-93. Link
3. Mehrabian F, Khani B, Kelishadi R, Ghanbari E. The prevalence of polycystic ovary syndrome in Iranian women based on different diagnostic criteria. *Endokrynol Pol* 2011;62(3):238-42. Link
4. Rotterdam E, Group A-SPCW. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod (Oxford, England)* 2004;19(1). Link
5. Wehr E, Möller R, Horejsi R, Giuliani A, Kopera D, Schweighofer N, et al. Subcutaneous adipose tissue topography and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Wien Klin Wochenschr* 2009;121(7):262-9. PubMed
6. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: The complete task force report. *Fertil Steril* 2009;91(2):456-88. PubMed
7. Moran LJ, Brinkworth GD, Norman RJ, editors. Dietary therapy in polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Med* 2008;26(1):85-92. PubMed
8. Pasquali R, Casimirri F, Vicennati V. Weight control and its beneficial effect on fertility in women with obesity and polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1997;Suppl 1:82-7. PubMed
9. Panidis D, Farmakiotis D, Rousso D, Kourtis A, Katsikis I, Krassas G. Obesity, weight loss, and the polycystic ovary syndrome: effect of treatment with diet and orlistat for 24 weeks on insulin resistance and androgen levels. *Fertil Steril* 2008;89(4):899-906. PubMed
10. Costello MF, Misso ML, Wong J, Hart R, Rombauts L, Melder A, et al. The treatment of infertility in polycystic ovary syndrome: A brief update. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2012;52(4):400-3. PubMed
11. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: Mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997;18(6):774-800. PubMed
12. Yildizhan R, Kurdoglu M, Adali E, Kolusari A, Yildizhan B, Sahin HG, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 2009;280(4):559. PubMed
13. Martínez-García MÁ, Gambineri A, Alpañés M, Sanchón R, Pasquali R, Escobar-Morreale HF. Common variants in the sex hormone-binding globulin gene (SHBG) and polycystic ovary syndrome (PCOS) in Mediterranean women. *Hum Reprod* 2012;27(12):3569-76. PubMed
14. Pasquali R, Casimirri F, Plate L, Capelli M. Characterization of obese women with reduced sex hormone-binding globulin concentrations. *Horm Metab Res* 1990;22(05):303-6. PubMed
15. Nestler JE, Powers LP, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Rittmaster RS, et al. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72(1):83-9. PubMed
16. Cobin R, Futterweit W, Nestler J, Reaven G, Jellinger P, Handelsman Y, et al. American association of clinical endocrinologists position statement on metabolic and cardiovascular consequences of polycystic ovary syndrome. *Endocr Pract* 2005;11(2):125-34. Link
17. Thomson RL, Spedding S, Buckley JD. Vitamin D in the aetiology and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77(3):343-50. PubMed

18. Lagunova Z, Porojnicu AC, Lindberg F, Hexeberg S, Moan J. The dependency of vitamin D status on body mass index, gender, age and season. *Anticancer Res* 2009;29(9):3713-20. PubMed
19. Mahmoudi T, Gourabi H, Ashrafi M, Yazdi RS, Ezabadi Z. Calcitropic hormones, insulin resistance, and the polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2010;93(4):1208-14. PubMed
20. Rodríguez-Rodríguez E, Navia-Lomban B, López-Sobaler A, Ortega R. Associations between abdominal fat and body mass index on vitamin D status in a group of Spanish schoolchildren. *Rodríguez-Rodríguez E* 2010;64(5):461-7. PubMed
21. Wehr E, Pilz S, Schweighofer N, Giuliani A, Kopera D, Pieber T, et al. Association of hypovitaminosis D with metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2009;161(4):575-82. PubMed
22. Ding C, Gao D, Wilding J, Trayhurn P, Bing C. Vitamin D signalling in adipose tissue. *Br J Nutr* 2012;108(11):1915-23. PubMed
23. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 1998;78(4):1193-231. PubMed
24. Mahmoudi T. Genetic variation in the vitamin D receptor and polycystic ovary syndrome risk. *Fertil Steril* 2009;92(4):1381-3. PubMed
25. Ranjzad F, Mahban A, Shemirani AI, Mahmoudi T, Vahedi M, Nikzamir A, et al. Influence of gene variants related to calcium homeostasis on biochemical parameters of women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet* 2011;28(3):225-32. PubMed
26. Wehr E, Trummer O, Giuliani A, Gruber H-J, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D-associated polymorphisms are related to insulin resistance and vitamin D deficiency in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2011;164(5):741-9. PubMed
27. Sørensen LB, Søb M, Halkier KH, Stigsby B, Astrup A. Effects of increased dietary protein-to-carbohydrate ratios in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Clin Nutr* 2012;95(1):39-48. PubMed
28. Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc* 2002;102(11):1621-30. PubMed
29. Pasco J, Sanders K, Henry M, Nicholson G, Seeman E, Kotowicz M. Calcium intakes among Australian women: Geelong osteoporosis study. *Aust N Z J Med* 2000;30(1):21-7. PubMed
30. Sharpe RM, Franks S. Environment, lifestyle and infertility-an inter-generational issue. *Nat Cell Biol* 2002;4 Suppl:s33-40. PubMed
31. Norman RJ, Davies MJ, Lord J, Moran LJ. The role of lifestyle modification in polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2002;13(6):251-7. PubMed
32. Norman RJ, Noakes M, Wu R, Davies MJ, Moran L, Wang JX. Improving reproductive performance in overweight/obese women with effective weight management. *Hum Reprod Update* 2004;10(3):267-80. PubMed
33. Norman RJ, Masters SC, Hague W, Beng C, Pannall P, Wang JX. Metabolic approaches to the subclassification of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63(2):329-35. PubMed
34. Pasquali R, Casimirri F, Venturoli S, Antonio M, Morselli L, Reho S, et al. Body fat distribution has weight-independent effects on clinical, hormonal, and metabolic features of women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1994;43(6):706-13. PubMed
35. Dunaif A, Xia J, Book C-B, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1995;96(2):801. PubMed

36. Ehrmann DA, Sturis J, Byrne MM, Karrison T, Rosenfield RL, Polonsky KS. Insulin secretory defects in polycystic ovary syndrome. Relationship to insulin sensitivity and family history of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1995;96(1):520. PubMed
37. Holte J, Bergh T, Berne C, Berglund L, Lithell H. Enhanced early insulin response to glucose in relation to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome and normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78(5):1052-8. PubMed
38. Ciampelli M, Fulghesu A, Cucinelli F, Pavone V, Caruso A, Mancuso S, et al. Heterogeneity in beta cell activity, hepatic insulin clearance and peripheral insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1997;12(9):1897-901. PubMed
39. Jakubowicz DJ, Nestler JE. 17α -Hydroxyprogesterone responses to leuprolide and serum androgens in obese women with and without polycystic ovary syndrome after dietary weight loss 1. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(2):556-60. PubMed
40. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, et al. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(8):2767-74. PubMed
41. Hamilton-Fairley D, Kiddy D, Anyaoku V, Koistinen R, Seppälä M, Franks S. Response of sex hormone binding globulin and insulin-like growth factor binding protein-1 to an oral glucose tolerance test in obese women with polycystic ovary syndrome before and after calorie restriction. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993;39(3):363-7. PubMed
42. Moran L, Noakes M, Clifton P, Tomlinson L, Norman R. Dietary composition in restoring reproductive and metabolic physiology in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(2):812-9. PubMed
43. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(5):1930-5. PubMed
44. Orio Jr F, Palomba S, Cascella T, Milan G, Mioni R, Pagano C, et al. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(6):2619-23. PubMed
45. Brzechffa PR, Jakimiuk A, Agarwal SK, Weitsman SR, Buyalos RP, Magoffin DA. Serum immunoreactive leptin concentrations in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(11):4166-9. PubMed
46. Panidis D, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rouso D, Koliakos G. Serum adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2003;18(9):1790-6. PubMed
47. Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Bush A, Short F, Anyaoku V, Reed MJ, et al. Improvement in endocrine and ovarian function during dietary treatment of obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;36(1):105-11. PubMed
48. Pasquali R, Antenucci D, Casimirri F, Venturoli S, Paradisi R, Fabbri R, et al. Clinical and hormonal characteristics of obese amenorrheic hyperandrogenic women before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68(1):173-9. PubMed
49. Nuttall FQ, Gannon MC, Wald JL, Ahmed M. Plasma glucose and insulin profiles in normal subjects ingesting diets of varying carbohydrate, fat, and protein content. *J Am Coll Nutr* 1985;4(4):437-50. PubMed
50. Marsh KA, Steinbeck KS, Atkinson FS, Petocz P, Brand-Miller JC. Effect of a low glycemic index compared with a conventional healthy diet on polycystic ovary syndrome. *Am J Clin Nutr* 2010;92(1):83-92. PubMed
51. Azadi-Yazdi M, Karimi-Zarchi M, Salehi-Abargouei A, Fallahzadeh H, Nadjarzadeh A. Effects of dietary approach to stop hypertension diet on androgens, antioxidant status and body composition in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome: A randomised controlled trial. *J Hum Nutr Diet* 2017;30(3):275-83. PubMed

52. Mason C, Tapsoba JDD, Duggan C, Imayama I, Wang C-Y, Korde LA, et al. Effects of vitamin D supplementation during weight loss on sex hormones in postmenopausal women. *Menopause* 2016;23(6):645-52. PubMed
53. Lorvand AH, Agah S, Mousavi S, Hosseini A, Shidfar F. Regression of non-alcoholic fatty liver by vitamin D supplement: A double-blind randomized controlled clinical trial. *Arch Iran Med* 2016;19(9):631-8. PubMed
54. Del Valle HB, Yaktine AL, Taylor CL, Ross AC. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington: National Academies Press(US); 2011. Link
55. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;72(3):690-3. PubMed
56. Rayalam S, Della-Fera MA, Ambati S, Yang JY, Park HJ, Baile CA. Enhanced effects of 1, 25 (oh) 2d3 plus genistein on adipogenesis and apoptosis in 3t3-l1 adipocytes. *Obesity* 2008;16(3):539-46. Link
57. Mason C, Xiao L, Imayama I, Duggan CR, Bain C, Foster-Schubert KE, et al. Effects of weight loss on serum vitamin D in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2011;94(1):95-103. PubMed
58. Rock CL, Emond JA, Flatt SW, Heath DD, Karanja N, Pakiz B, et al. Weight loss is associated with increased serum 25-hydroxyvitamin D in overweight or obese women. *Obesity*. 2012;20(11):2296-301. PubMed
59. Selimoglu H, Duran C, Kiyici S, Ersoy C, Guclu M, Ozkaya G, et al. The effect of vitamin D replacement therapy on insulin resistance and androgen levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2010;33(4):234-8. PubMed
60. Bonakdaran S, Khorasani ZM, Davachi B, Khorasani JM. The effects of calcitriol on improvement of insulin resistance, ovulation and comparison with metformin therapy in PCOS patients: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Iran J Reprod Med* 2012;10(5):465. PMC
61. Raja-Khan N, Shah J, Stetter CM, Lott ME, Kunselman AR, Dodson WC, et al. High-dose vitamin D supplementation and measures of insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: A randomized, controlled pilot trial. *Fertil Steril* 2014;101(6):1740-6. PubMed
62. Wehr E, Pieber T, Obermayer-Pietsch B. Effect of vitamin D3 treatment on glucose metabolism and menstrual frequency in polycystic ovary syndrome women: A pilot study. *J Endocrinol Invest* 2011;34(10):757-63. PubMed
63. Garg G, Kachhawa G, Ramot R, Khadgawat R, Tandon N, Sreenivas V, et al. Effect of vitamin D supplementation on insulin kinetics and cardiovascular risk factors in polycystic ovarian syndrome: A pilot study. *Endocr Connect* 2015;4(2):108-16. PubMed