

## **To Study the Effect of Calcium Plus Vitamin D Supplementation on Nitric Oxide and Biomarkers of Oxidative Stress in Overweight and Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome**

Mehri Jamilian<sup>1\*</sup>, Somayeh Bakhshayeshy<sup>2</sup>

1- Associate Professor, Department of Gynecology, Endocrinology and Metabolism Research Center, Arak University of Medical Science, Arak, Iran.

2- Gynecology Resident, Department of Gynecology, Arak University of Medical Science, Arak, Iran.

Received: 5 March 2016, Accepted: 11 May 2016

### **Abstract**

**Background:** Few studies have examined the effects of calcium plus vitamin D supplementation on metabolic profiles in overweight women with polycystic ovary syndrome (PCOS). This study was conducted to determine the effects of calcium plus vitamin D supplementation on metabolic profiles among overweight women with PCOS.

**Materials and Methods:** This randomized double-blind placebo-controlled clinical trial was conducted among 104 overweight and obese women with PCOS. Participants were randomly assigned into four groups to receive: 1) 1000 mg/d calcium+ vitamin D placebo; 2) 50000 IU/weeks vitamin D; 3) 1000 mg calcium/d and 4) calcium placebo + vitamin D placebo for 8 weeks. Fasting blood samples were taken at baseline and after 8 weeks intervention to measure metabolic profiles.

**Results:** After administering calcium plus vitamin D supplementation, a significant decrease was observed in serum insulin ( $-3.3 \pm 11.4$  vs.  $-1.1 \pm 8.5$ ,  $-1.4 \pm 3.0$  and  $+3.1 \pm 6.1$   $\mu$ IU/ml,  $p=0.03$ ), insulin resistance ( $-0.7 \pm 2.4$  vs.  $-0.3 \pm 2.5$ ,  $-0.2 \pm 0.6$  and  $+0.8 \pm 1.9$ ,  $p=0.04$ ), malondialdehyde ( $-0.6 \pm 0.3$  vs.  $-0.1 \pm 0.2$ ,  $-0.5 \pm 0.2$  and  $+0.6 \pm 0.4$   $\mu$ mol/L,  $p=0.009$ ) and a significant rise was seen in total antioxidant capacity ( $+35.2 \pm 21.7$  vs.  $+22.5 \pm 37.7$ ,  $+21.1 \pm 34.1$  and  $-153.8 \pm 65.2$  mmol/L,  $p=0.006$ ) and glutathione ( $+216.0 \pm 79.3$  vs.  $-47.5 \pm 60.2$ ,  $+3.9 \pm 31.3$  and  $-160.8 \pm 82.9$   $\mu$ mol/L,  $p=0.001$ ) compared with vitamin D, calcium and placebo groups.

**Conclusion:** In conclusion, calcium plus vitamin D supplementation for eight weeks among women with PCOS had beneficial effects on metabolic profiles.

**Keywords:** Calcium, Vitamin D, Supplementation, Polycystic ovary syndrome, Metabolic profiles

\*Corresponding Author:

Address: Department of Gynecology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Email: mjamilian@yahoo.com

## بررسی تأثیر مکمل یاری کلسیم و ویتامین D بر روی نیتریک اکساید و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در زنان چاق و دارای اضافه وزن مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک

مهری جمیلیان<sup>۱\*</sup>، سمیه بخشایشی<sup>۲</sup>

۱- دانشیار، گروه زنان، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۲- دستیار تخصصی زنان، گروه زنان، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۲۲

### چکیده

**زمینه و هدف:** تعداد مطالعات کمی اثرات مکمل یاری کلسیم به علاوه ویتامین D را بر روی پروفایل‌های متابولیک در زنان دارای اضافه وزن مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک بررسی نموده‌اند. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات مکمل یاری کلسیم و ویتامین D بر روی پروفایل‌های متابولیک در زنان دارای اضافه وزن مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک طراحی شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه کارآزمایی بالینی کنترل شده-پلاسبو و دو سوکور تصادفی بر روی ۱۰۴ زن چاق و دارای اضافه وزن مبتلا به PCOS انجام شده است. شرکت کنندگان به طور تصادفی به چهار گروه: (۱) مکمل ترکیب ویتامین D (۵۰۰۰ واحد به ازای هر هفته) و ۵۰۰ میلی گرم کلسیم (روزانه ۲ عدد)، (۲) مکمل ترکیب ویتامین D (۵۰۰۰ واحد به ازای هر هفته)، (۳) مکمل ۵۰۰ میلی گرم کلسیم (روزانه ۲ عدد) و (۴) پلاسبو برای هشت هفته تقسیم شدند. نمونه خون ناشتا در ابتدا و هشت هفته بعد از مداخله برای اندازه‌گیری پروفایل‌های متابولیک از بیماران گرفته شد.

**یافته‌ها:** به دنبال تجویز مکمل کلسیم به علاوه ویتامین D، یک کاهش معنی‌دار در انسولین سرمی ( $p=0.03$ )، مقاومت به انسولین ( $-0.7 \pm 2/4$ ) در مقابل مقابل  $-1.1 \pm 8/5$ ،  $-1.4 \pm 3/0$  و  $3.1 \pm 6/1$   $\mu\text{IU/ml}$ ، مالون دی آلدئید ( $p=0.04$ )،  $0.8 \pm 1/9$  و  $-0.2 \pm 0/6$ ،  $0.3 \pm 2/5$  و  $0.6 \pm 0/4$  میکرومول بر لیتر، و یک افزایش معنی‌دار در توتال آنتی اکسیدانت ( $3.5/2 \pm 21/7$ ) در مقابل مقابل  $0.6 \pm 0/4$ ،  $2.2/5 \pm 37/7$  و  $2.1/1 \pm 34/1$ ،  $-1.53/8 \pm 65/2$  میلی مول بر لیتر، ( $p=0.006$ ) و گلوکوتایون ( $2.16/0 \pm 79/3$ ) در مقابل مقابل  $0.47/5 \pm 60/2$ ،  $3/9 \pm 31/3$  و  $1.60/8 \pm 82/9$  میکرو مول بر لیتر، ( $p=0.001$ ) در مقایسه با ویتامین D، کلسیم و پلاسبو مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** در مجموع، مکمل یاری کلسیم به همراه ویتامین D برای هشت هفته در زنان مبتلا به PCOS اثرات مفیدی بر روی پروفایل‌های متابولیک داشته است.

**واژگان کلیدی:** کلسیم، ویتامین D، مکمل یاری، سندرم تخمدان پلی کیستیک، پروفایل‌های متابولیک

## مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)، شایع ترین اختلال آندوکروینی در زنان در سن باروری می باشد (۱). میزان شیوع آن، ۵ تا ۱۰ درصد زنان در سنین باروری بر حسب جمعیت مورد مطالعه می باشد (۲). شیوع این وضعیت در ایران ۷ درصد بر اساس معیار انجمن سلامت ملی (NIH)، ۱۵/۲ درصد بر اساس معیار روتردام (Rotterdam) و ۷/۹۲ درصد بر اساس معیار انجمن آندروژن (AES) می باشد (۳). دلیل اصلی بروز سندرم PCOS مشخص نمی باشد. اتیولوژی بیماری PCOS نامشخص است. مدارک قوی وجود دارد که اختلالات ژنتیکی می تواند در بروز آن نقش اصلی داشته باشد (۴). زنان مبتلا به سندرم پلی کیستیک تخمدان، مقادیر اضافی آندروژن، مقاومت به انسولین و مقادیر متغییری از استروژن دارند که می تواند بر روی شاخص های متابولیک تأثیر بگذارد و منجر به افزایش پروفایل های لیپیدی، فاکتور التهابی و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو شود (۵، ۶). PCOS با ناباروری (۷)، افزایش ریسک سرطان های آندومتر، پستان و تخمدان (۸)، افزایش شیوع دیابت تیپ ۲ و افزایش شیوع چندین اختلال سندرم متابولیک (۹) همراه می باشد. تغییر سبک زندگی از قبیل کاهش وزن و افزایش فعالیت بدنی، به تنهایی به عنوان خط اول درمانی در مدیریت زنان مبتلا به PCOS دارای اضافه وزن و چاق در نظر گرفته شده است (۱۰). استفاده از آنتی اکسیدان های A و E برای کاهش سطوح پروفایل های لیپیدی، پراکسیداسیون لیپیدی و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو (۱۱) و رژیم های غنی از منبع غذایی آرزین جهت افزایش تولید نیتریک اکساید (۱۲) پیشنهاد شده است. اخیراً ارتباط بین دریافت ویتامین D و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو مطرح شده است. کمبود ویتامین D ممکن است با چند مکانیسم از قبیل کاهش بیان گیرنده انسولین، کاهش فعالیت حامل گلوکز ۴ و افزایش جبرانی ترشح هورمون پاراتورمون منجر به افزایش مقاومت به انسولین و اختلال در متابولیسم چربی شود (۱۳). به علاوه، ویتامین D ممکن است از طریق تنظیم افزایشی آنزیم

نیتریک اکساید سنتتاز باعث افزایش تولید نیتریک اکساید (۱۴) و از طریق کاهش تولید هورمون پاراتورمون باعث کاهش التهاب و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو گردد (۱۵). هم چنین کلسی تریول (نوع فعال ویتامین D)، برداشت کلسیم توسط سلول های چربی را به سرعت افزایش می دهد که منجر به افزایش فعالیت پروتئینی، لیپولیز و آپوپتوز می شود (۱۶). دریافت اضافه کلسیم، منجر به کاهش ترشح هورمون پاراتیروئید می شود (۱۷) که به نوبه خود باعث کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو می گردد. تاکنون مطالعات بسیار محدودی، اثرات مفید مکمل یاری ترکیب ویتامین D و کلسیم بر روی نیتریک اکساید و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو را در زنان چاق و دارای اضافه وزن مبتلا به PCOS بررسی نموده اند. هم چنین مطالعات موجود، نتایج ضد و نقیضی را ارائه کرده اند. از طرف دیگر، با توجه به اهمیت موضوع درمان بیماران مبتلا به PCOS و ارائه یک روش کم هزینه و ایمن، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات مکمل یاری کلسیم و ویتامین D بر روی نیتریک اکساید و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در زنان اراکی مبتلا به PCOS در سال ۱۳۹۳ طراحی شد.

## مواد و روش ها

این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور با طرح پیش آزمون- پس آزمون بود که با سه گروه آزمودنی تجربی و یک گروه کنترل اجرا شد. آزمودنی های تحقیق بر روی ۱۰۴ زن مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک مراجعه کننده به کلینیک زنان کوثر وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل خانم های مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک بر اساس معیار روتردام، سن ۱۸ تا ۳۵ سال و عدم مصرف سیگار و معیارهای خروج از مطالعه شامل عدم تمایل به همکاری، دیابت آشکار، کم کاری یا پرکاری تیروئید قبل از تشخیص، استفاده از قرص های خوراکی پیش گیری از بارداری، نیاز به تحریک تخمک گذاری به دلیل نازایی و هیپرپرولاکتینمیا بود.

ابتدا زنان مبتلا به PCOS پس از انجام تست‌های هورمونی (برای رد علل PCOS) شناسایی شدند و پس از تعیین وقت، ملاقات حضوری صورت گرفتند. در این ملاقات، اهداف پژوهش برای زنان مبتلا به PCOS توضیح داده شد و در صورت موافقت شفاهی آن‌ها، رضایت نامه کتبی نیز اخذ گردید.

سپس در این ملاقات ضمن پر کردن مشخصات جمعیت شناختی، پرسش‌نامه یادآور سه روزه تغذیه (دو روز عادی و یک روز تعطیل) تکمیل شد و قد و وزن زنان توسط ماما‌های آموزش دیده در کلینیک زنان کوثر وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اراک اندازه‌گیری شد. کلیه زنان مبتلا به PCOS مراجعه کننده به کلینیک زنان کوثر که معیارهای ورود به مطالعه را داشتند به روش ذیل انتخاب شدند:

تشخیص PCOS بر اساس معیار حمایت مشترک انجمن اروپایی تولید مثل و رویان شناسی انسان و انجمن آمریکایی طب تولید مثل در سال ۲۰۰۳ در روتردام هلند انجام شد، به طوری که دو مورد از سه مورد ذیل به عنوان PCOS در نظر گرفته شدند: تخمک گذاری کم و یا عدم تخمک گذاری، نشانه‌های بالینی یا بیوشیمیایی هیپراندرونیسم و تخمدان پلی کیستیک و نیز رد کردن سایر اختلالات همراه با تولید بیش از حد آندروژن (۱۸).

شرکت کنندگان مطالعه به طور تصادفی به چهار گروه ۱- مکمل ترکیب ویتامین D (۵۰۰۰ واحد به ازای هر هفته و در مجموع ۸ عدد پرل برای دو ماه از شرکت ظهراوی، تبریز، ایران) و ۵۰۰ میلی گرم کلسیم (روزانه ۲ عدد)، ۲- مکمل ترکیب ویتامین D (۵۰۰۰ واحد به ازای هر هفته و در مجموع ۸ عدد پرل برای دو ماه از شرکت ظهراوی، تبریز، ایران)، ۳- مکمل ۵۰۰ میلی گرم کلسیم (روزانه ۲ عدد) و ۴- پلاسبو برای مدت هشت هفته تقسیم شدند. هم‌چنین از افراد خواسته شد که در طی این دوره، فعالیت‌های فیزیکی عادی خود را تغییر ندهند. پیروی بیماران از مصرف رژیم‌ها، هفته ای یک بار از طریق تماس تلفنی کنترل می‌شد. هم‌چنین پیروی از مصرف مکمل‌ها با استفاده از ثبت غذای سه روزه در طی مطالعه، مجدداً کنترل

شد. برای به دست آوردن دریافت مواد مغذی شرکت کنندگان بر پایه گزارش غذایی سه روزه، از نرم افزار N4 اصلاح شده بر اساس الگوی غذای ایرانی استفاده شد. مراحل کار با این نرم افزار به صورت زیر بود:

ابتدا مقدار دریافت غذای هر فرد بر حسب تعداد واحد استاندارد تغذیه‌ای پرسیده شد.

۲- تعداد واحد به مقدار گرم تبدیل شد.

۳- مقدار گرم دریافت غذایی روزانه هر فرد به نرم افزار مذکور داده شد.

۴- نرم افزار مذکور، مقدار انرژی، درشت مغذی‌ها (کربوهیدرات، چربی، پروتئین و اسیدهای آمینه) و ریز مغذی‌ها (شامل حداقل ۲۰ ریز مغذی از جمله ویتامین‌های محلول در آب، محلول در چربی و مواد معدنی) را محاسبه نمود.

شاخص‌های آنتروپومتریک در ابتدا و ۸ هفته بعد از مداخله توسط ماما‌های آموزش دیده ارزیابی شد. بعد از اتمام مداخله، پی‌گیری افراد توسط ماماها و یک کارشناس تغذیه آموزش دیده انجام شد. وزن در حالت ناشتایی، بدون کفش، با حداقل لباس و با استفاده از ترازوی دیجیتالی Seca با دقت ۰/۱ کیلوگرم اندازه‌گیری شد. قد با کمک متر نواری و با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. شاخص توده بدنی (BMI) از تقسیم وزن بر حسب کیلوگرم به قد به توان ۲ بر حسب متر محاسبه شد. ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون ناشتا در ابتدا و ۸ هفته بعد از مداخله رژیمی در آزمایشگاه کوثر اراک از بیماران گرفته شد.

در این مطالعه، برای تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ استفاده گردید. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. داده‌های کمی به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند.

برای مقایسه پروفایل‌های متابولیک بین چهار گروه از آزمون آنووا و برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون بن فرونی استفاده شد.

این مطالعه با شماره ۱۱۳۳ در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک و با کد ۱۵-۱۶۶-۹۳ در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک به تایید رسیده و هم چنین با شماره IRCT201407015623N21 در مرکز ثبت کارآزمایی‌های ایران ثبت شده است.

### یافته‌ها

ابتدا تعداد ۱۲۰ بیمار مبتلا به PCOS که معیارهای ورود به مطالعه را داشتند انتخاب شدند و به روش تصادفی در چهار گروه ۲۶ نفره برای مصرف مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم و پلاسبو قرار گرفتند. از میان افراد حاضر، ۳ بیمار [IVF (n=1)، مشکل سلامتی (n=1) و باردار شدن (n=1)]، از گروه ویتامین D با کلسیم ۳ بیمار [انصراف (n=1)، مشکل سلامتی (n=1) و عدم استفاده از دارو (n=1)] از گروه ویتامین D و ۳ بیمار [انصراف (n=2) و مشکل سلامتی (n=1)] از گروه کلسیم از مطالعه خارج

شدند. هم چنین بیماران خارج شده از مطالعه در گروه پلاسبو شامل ۳ بیمار [IVF (n=1)، مشکل سلامتی (n=1) و باردار شدن (n=1)] بود. در نهایت، ۱۰۴ نفر شرکت کننده [گروه ویتامین D با کلسیم (n=۲۶)، ویتامین D (n=۲۶)، کلسیم (n=۲۶) و گروه پلاسبو (n=۲۶)] مطالعه را با پروتکل ITT به پایان رساندند.

در جدول ۱، مشخصات عمومی بیماران مبتلا به PCOS در ابتدا و انتهای مداخله در چهار گروه دریافت کننده مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم، ویتامین D، کلسیم و پلاسبو ارائه شده است. میانگین مقادیر سن، قد، وزن و BMI در ابتدا و انتهای مداخله بیماران مبتلا به PCOS نشان می‌دهد که تفاوت معنی داری بین چهار گروه دریافت کننده مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم، ویتامین D، کلسیم و پلاسبو وجود ندارد.

جدول ۱. مشخصات عمومی شرکت کنندگان مطالعه

#p	گروه کلسیم (n=۲۶)	گروه ویتامین D (n=۲۶)	گروه ویتامین D و کلسیم (n=۲۶)	گروه پلاسبو (n=۲۶)	
۰/۸۷	۲۵/۰±۶/۷	۲۵/۶±۴/۴	۲۴/۹±۵/۱	۲۴/۵±۵/۲	سن (سال)
۰/۲۰	۱۵۹/۰±۴/۵	۱۶۰/۸±۵/۰	۱۶۰/۵±۵/۴	۱۶۱/۹±۴/۵	قد (سانتی متر)
۰/۵۷	۷۱/۵±۱۱/۹	۷۵/۶±۱۰/۴	۷۰/۹±۱۶/۹	۷۱/۹±۱۳/۸	وزن در ابتدای مداخله (کیلوگرم)
۰/۶۰	۷۱/۴±۱۲/۲	۷۵/۲±۱۰/۷	۷۰/۴±۱۶/۲	۷۲/۱±۱۴/۳	وزن در انتهای مداخله (کیلوگرم)
۰/۴۳	۲۸/۳±۴/۷	۲۹/۳±۳/۹	۲۷/۳±۵/۳	۲۷/۵±۵/۲	BMI در ابتدای مداخله (کیلوگرم بر متر مربع)
۰/۴۸	۲۸/۳±۴/۸	۲۹/۱±۳/۹	۲۷/۱±۵/۰	۲۷/۵±۵/۴	BMI در پایان مداخله (کیلوگرم بر مترمربع)

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند. \*تغییرات بین گروه‌ها بر اساس آزمون آنووا

روزه) بیماران مبتلا به PCOS در دوران مطالعه ارائه شده است. اطلاعات به دست آمده از دریافت رژیم غذایی سه روزه در سراسر طول مطالعه، تفاوت آماری معنی داری بین چهار گروه از لحاظ دریافت انرژی، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب غیر اشباع، پلی، اسیدهای چرب غیر اشباع مونو، کلسترول، فیبر رژیمی، کلسیم و ویتامین D نشان نداد.

سطح فعالیت بدنی همه بیماران بر اساس پرسش‌نامه بین المللی فعالیت فیزیکی در ابتدا و انتهای مداخله، در سطح سبک ارزیابی شد.

در جدول ۲، دریافت انرژی و مواد مغذی (یادآور ۳ روزه) بیماران مبتلا به PCOS در چهار گروه دریافت کننده مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم، ویتامین D، کلسیم و پلاسبو، دریافت انرژی و مواد مغذی (یادآور ۳

جدول ۲. دریافت انرژی و مواد مغذی (یادآور ۳ روزه) بیماران مبتلا به PCOS در چهار گروه دریافت کننده مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم، ویتامین D، کلسیم و پلاسبو

p	گروه کلسیم (n=۲۶)	گروه ویتامین D (n=۲۶)	گروه ویتامین D با کلسیم (n=۲۶)	گروه پلاسبو (n=۲۶)	
۰/۴۱	۲۳۴۳±۲۹۵	۲۴۶۴±۲۴۷	۲۳۶۷±۳۰۵	۲۳۶۴±۲۷۳	انرژی (کیلو کالری در روز)
۰/۲۵	۳۱۸۷±۵۱/۲	۳۴۵/۴±۴۰/۲	۳۲۴/۸±۵۹/۷	۳۲۲/۳±۵۵/۷	کربوهیدرات (گرم در روز)
۰/۹۸	۸۷/۵±۲۰/۲	۸۷/۰±۱۲/۹	۸۷/۹±۱۸/۷	۸۶/۳±۱۳/۶	پروتئین (گرم در روز)
۰/۸۵	۸۳/۷±۱۴/۰	۸۱/۱±۱۴/۱	۸۳/۳±۱۶/۲	۸۴/۴±۱۳/۴	چربی (گرم در روز)
۰/۴۳	۲۶/۵±۵/۳	۲۵/۲±۴/۷	۲۶/۴±۶/۳	۲۴/۳±۵/۲	اسید چرب اشباع (گرم در روز)
۰/۹۶	۲۶/۲±۶/۱	۲۵/۵±۶/۹	۲۵/۹±۶/۳	۲۵/۳±۶/۱	اسید چرب غیر اشباع پلی (گرم در روز)
۰/۹۵	۲۳/۴±۵/۸	۲۲/۵±۵/۲	۲۳/۴±۶/۴	۲۳/۲±۷/۵	اسید چرب غیر اشباع مونو (گرم در روز)
۰/۹۱	۲۱۷/۴±۱۱۴/۹	۱۹۹/۹±۹۱/۸	۲۰۸/۱±۱۰۸/۷	۲۱۸/۹±۱۲۳/۲	کلسترول (میلی گرم در روز)
۰/۲۴	۱۹/۵±۴/۲	۲۱/۴±۴/۵	۱۹/۱±۴/۵	۱۹/۴±۴/۵	فیبر رژیمی (گرم در روز)
۰/۷۶	۱۱۳۶/۶±۱۸۹/۵	۱۱۶۶/۱±۱۸۴/۳	۱۱۱۰/۹±۱۶۷/۱	۱۱۲۹/۲±۲۱۰/۰	کلسیم (میلی گرم در روز)
۰/۷۷	۲/۹±۰/۹	۲/۵±۱/۰	۲/۷±۰/۷	۲/۸±۰/۹	ویتامین D (میلی گرم در روز)

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

\* تغییرات بین گروه ها بر اساس آزمون آنووا

تفاوت معنی داری بین متغیرهای کلسیم، ویتامین D، قند خون ناشتا، مقاومت به انسولین، نیتریک اکساید، توتال آنتی اکسیدانت، گلو تاتیون، کاتالاز و مالون دی آلدئید در ابتدای مداخله وجود دارد ( $p < 0/05$ ).

در جدول ۳، میزان پروفایل های متابولیک در ابتدای مداخله در چهار گروه بیماران مبتلا به PCOS دریافت کننده مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم، ویتامین D، کلسیم و پلاسبو ارائه شده است. ملاحظه می شود که

جدول ۳. میزان پروفایل های متابولیک در ابتدای مطالعه در چهار گروه بیماران مبتلا به PCOS

* p	گروه کلسیم (n=۲۶)	گروه ویتامین D (n=۲۶)	گروه ویتامین D با کلسیم (n=۲۶)	گروه پلاسبو (n=۲۶)	
۰/۰۱	۹/۵±۰/۴	۹/۳±۰/۶	۹/۴±۰/۴	۹/۱±۰/۶	کلسیم (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۰۰۸	۱۳/۹±۲/۰	۱۱/۶±۴/۷	۱۵/۱±۳/۶	۱۴/۰±۴/۱	ویتامین D (نانوگرم در میلی لیتر)
< ۰/۰۰۱	۷۱/۹±۱۱/۷	۸۷/۳±۱۶/۴	۸۱/۶±۱۰/۰	۶۷/۶±۱۱/۷	قند خون ناشتا (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۲۸	۸/۵±۴/۱	۱۳/۵±۹/۹	۱۱/۱±۱۴/۲	۱۲/۰±۵/۶	انسولین (میکرو و واحد بر میلی لیتر)
۰/۰۴	۱/۵±۰/۶	۳/۱±۲/۸	۲/۲±۲/۸	۲/۰±۱/۱	مقاومت به انسولین
< ۰/۰۰۱	۴۰/۴±۴/۱	۳۴/۰±۳/۰	۵۹/۰±۷/۴	۶۶/۹±۷/۷	نیتریک اکساید (میکرومول بر لیتر)
۰/۰۰۳	۷۵۶/۵±۳۸/۹	۸۶۹/۶±۳۳/۶	۷۵۸/۴±۲۷/۷	۹۷۱/۰±۷۰/۶	توتال آنتی اکسیدانت (میکرو مول بر لیتر)
۰/۰۴	۱۰۰۰/۲±۳۲/۲	۸۴۴/۰±۴۸/۵	۹۳۸/۵±۴۰/۲	۷۹۷/۳±۸۳/۸	گلو تاتیون (میکرو مول بر لیتر)
۰/۰۰۲	۳/۳±۰/۲	۳/۱±۰/۲	۳/۴±۰/۲	۲/۴±۰/۲	مالون دی آلدئید (میکرو مول بر لیتر)
۰/۰۱	۸/۱±۱/۳	۴/۹±۰/۹	۸/۸±۱/۳	۴/۴±۱/۱	کاتالاز (واحد بر میلی لیتر)

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

\* تغییرات بین گروه ها بر اساس آزمون آنووا

به دنبال تجویز مکمل کلسیم به علاوه ویتامین D، یک کاهش معنی دار در انسولین سرمی ( $۳/۳ \pm ۱۱/۴$ ) در مقابل  $۳/۱ \pm ۶/۱ \mu\text{IU/ml}$ ،  $-۱/۴ \pm ۳/۰$ ،  $-۱/۱ \pm ۸/۵$ ،  $p=۰/۰۳$ ، مقاومت به انسولین  $-۰/۷ \pm ۲/۴$  در مقابل

در جدول ۴، تغییرات در میزان پروفایل های متابولیک بعد از ۸ هفته مداخله در چهار گروه بیماران مبتلا به PCOS دریافت کننده مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم، ویتامین D، کلسیم و پلاسبو ارائه شده است.

لیتر،  $p=0/006$ ) و گلوکوتائون ( $216/0 \pm 79/3$ ) در مقابل  $160/8 \pm 82/9$  و  $3/9 \pm 31/3$ ،  $-47/5 \pm 60/2$  لیتر،  $p=0/001$ ) در مقایسه با ویتامین D، کلسیم و پلاسبو مشاهده شده است.

$0/3 \pm 2/5$ ،  $-0/2 \pm 0/6$  و  $0/8 \pm 1/9$ ،  $p=0/04$ )، مالون دی آلدئید ( $0/6 \pm 0/3$ ) در مقابل  $0/1 \pm 0/2$ ،  $-0/5 \pm 0/2$  و  $0/6 \pm 0/4$  میکرومول بر لیتر،  $p=0/009$ ) و یک افزایش معنی دار در توتال آنتی اکسیدانت ( $35/2 \pm 21/7$ ) در مقابل  $153/8 \pm 65/2$  و  $21/1 \pm 34/1$ ،  $22/5 \pm 37/7$  میلی مول بر

جدول ۴. میزان تغییرات در پروفایل‌های متابولیک در انتهای مطالعه در چهار گروه بیماران مبتلا به PCOS

* p	گروه کلسیم (n=26)	گروه ویتامین D (n=26)	گروه ویتامین D با کلسیم (n=26)	گروه پلاسبو (n=26)	
0/002	0/3 ± 0/4	0/2 ± 0/4	0/3 ± 0/3	-0/2 ± 0/7	کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر)
<0/001	0/3 ± 2/0	11/8 ± 6/0	11/7 ± 8/1	0/4 ± 2/6	ویتامین D (نانوگرم بر میلی لیتر)
0/08	-0/7 ± 15/4	-0/5 ± 14/8	-5/2 ± 8/3	5/9 ± 20/8	قند خون ناشتا (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/03	-1/4 ± 3/0	-1/1 ± 8/5	-3/3 ± 11/4	3/1 ± 6/1	انسولین (میکرو واحد بر میلی لیتر)
0/04	-0/2 ± 0/6	-0/3 ± 2/5	-0/7 ± 2/4	0/8 ± 1/9	مقاومت به انسولین
0/84	9/0 ± 7/0	-1/0 ± 3/4	3/6 ± 10/1	4/7 ± 9/1	نیتریک اکساید (میکرو مول بر لیتر)
0/006	21/2 ± 34/1	22/5 ± 37/7	35/5 ± 21/7	-153/8 ± 65/2	توتال آنتی اکسیدانت (میل مول بر لیتر)
0/001	3/9 ± 31/3	-47/5 ± 60/2	216/0 ± 79/3	-160/8 ± 82/9	گلوکوتائون (میکرو مول بر لیتر)
0/009	-0/5 ± 0/2	-0/1 ± 0/2	-0/6 ± 0/3	0/6 ± 0/4	مالون دی آلدئید (میکرو مول بر لیتر)
0/51	3/7 ± 1/6	5/8 ± 3/4	7/0 ± 3/0	1/9 ± 1/8	کاتالاز (واحد بر میلی لیتر)

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

\* تغییرات بین گروه‌ها بر اساس آزمون آنووا

## بحث

وضعیت متابولیک زنان مبتلا به PCOS وجود دارد. در راستای مطالعه ما، وان هرستو همکاران نشان دادند که مکمل یاری ویتامین D (4000 واحد روزانه)، برای 6 ماه، حساسیت به انسولین را به طور معنی‌داری در زنان سالم افزایش داد (20). یافته‌های مشابهی در مورد بیماران دیابتیکی که 5000 واحد ویتامین D به طور هفتگی برای 8 هفته (21) و هم‌چنین در زنان بارداری که 5000 واحد ویتامین D هر دو هفته از هفته 12 بارداری تا زمان زایمان (22) دریافت می‌نمودند، مشاهده شد. هم‌چنین بهبود مقاومت به انسولین بعد از مکمل یاری با 1000 میلی‌گرم کلسیم روزانه و 9570 واحد ویتامین D بعد از دو ماه در بیماران غیر دیابتیک مبتلا به کمبود ویتامین D مشاهده شده است (23). بر خلاف مطالعه ما، تعدادی از مطالعات نتوانستند اثری از مکمل یاری ویتامین D و کلسیم را بر روی متابولیسم انسولین مشاهده

این مطالعه نشان داد که مصرف مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم به مدت 8 هفته در بیماران مبتلا به PCOS، اثرات مفیدی بر روی پروفایل‌های متابولیک داشته است. بر اساس اطلاعات موجود، این مطالعه اولین مطالعه‌ای است که اثرات مکمل یاری ترکیب ویتامین D با کلسیم را بر پروفایل‌های متابولیک در بیماران مبتلا به PCOS بررسی می‌کند.

زنان مبتلا به PCOS مستعد عوارض مختلفی از قبیل مقاومت به انسولین و اختلالات لپیدی می‌باشند (19). مطالعه ما نشان داد که مصرف مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم تأثیر مطلوبی بر روی متابولیسم انسولین در زنان مبتلا به PCOS گذاشته است. اگرچه اطلاعات محدودی در مورد اثر مکمل یاری ترکیب ویتامین D با کلسیم بر روی

نمایند. مکمل یاری با ویتامین D (دوز روزانه ۳۵۳۳ واحد و افزایش آن به ۸۵۳۳ واحد بعد از ورود ۵ شرکت کننده به مطالعه) و ۵۳۰ میلی گرم روزانه کلسیم برای ۳ ماه برای نتوانست بر عملکرد انسولین در زنان مبتلا به PCOS با کمبود ویتامین D تأثیر بگذارد (۲۴). در میان زنان چاق و دارای اضافه وزن، مکمل یاری ۱۰۰۰ واحد روزانه ویتامین D برای ۱۲ هفته نتوانست بر روی مقاومت به انسولین تأثیر بگذارد (۲۵). هم چنین دریافت ۷۰۰۰ واحد روزانه مکمل ویتامین D برای ۲۶ هفته توسط بزرگسالان چاق مبتلا به کمبود ویتامین D نتیجه مشابهی را نشان داد (۲۶). مشخصات پایه‌ای شرکت کنندگان مطالعه و هم چنین مقدار دوز ویتامین D و کلسیم به همراه طول دوره زمانی مداخله ممکن است یافته‌های متفاوتی را منتج گردد. اثرات مفید مکمل یاری ترکیب ویتامین D با کلسیم بر روی بهبود ترشح انسولین ممکن است ناشی از اثرات آن بر روی متابولیسم کلسیم و فسفر و هم چنین تنظیم افزایشی ژن‌های گیرنده انسولین باشد (۲۷). وجود گیرنده ویتامین D در عضلات اسکلتی (۲۸) با این حقیقت همراه است که نوع فعال ویتامین D، رونویسی ژن‌های گیرنده انسولین را افزایش می‌دهد (۲۷) و ممکن است اثرات ویتامین D و کلسیم بر روی مقاومت به انسولین را بیش تر توضیح دهد.

مطالعه حاضر نشان داد که مصرف مکمل کلسیم و ویتامین D به مدت ۸ هفته در زنان مبتلا به PCOS سبب افزایش معنی‌دار توتال آنتی‌اکسیدانت، گلوکاتایون تام پلاسمایی و کاهش معنی‌دار مالون دی آلدئید پلاسمایی می‌شود، هر چند بر میزان کاتالاز پلازما تأثیری ندارد. در راستای مطالعه ما، در مطالعه‌ای که توسط ایکسی و همکاران انجام شد، افزایش میزان گلوکاتایون در بخش قشری مغز موش صحرائی، در اثر استفاده از مکمل ویتامین D3 همراه با دو کوزاهگراتوئیک اسید (DHA) دیده شد (۲۹). به علاوه در یک مطالعه دیگر، استفاده از مکمل‌های کلسیم و ویتامین D سبب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو DNA در مخاط کولون در افراد نرمال گردید (۳۰). هم چنین در دو مطالعه دیگر، مکمل یاری با

ویتامین D توانست تولید ترکیبات پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش دهد (۳۱، ۳۲). مکانیسم اصلی که از طریق آن مکمل‌های کلسیم و ویتامین D بر بیومارکرهای استرس اکسیداتیو تأثیر می‌گذارند مشخص نیست. کلسیم همراه با ویتامین D3 نسبت به هر یک از این ترکیبات به تنهایی، با وجود اثرات کم بر استرس اکسیداتیو، می‌تواند تأثیرات قوی بر آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله میزان توتال آنتی‌اکسیدانت داشته باشد (۳۳). در سایر مطالعات نیز نشان داده شده است که اثرات کلسیم و ویتامین D3 در افرادی که دارای مقادیر آنتی‌اکسیدان بیش تری هستند، نسبت به افراد تحت تأثیر ترکیبات اکسیدان بیش تر است.

### نتیجه‌گیری

مصرف مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم به مدت ۸ هفته در بیماران مبتلا به PCOS، انسولین و مقاومت به انسولین را کاهش داد. مصرف مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم به مدت ۸ هفته در بیماران مبتلا به PCOS، توتال آنتی‌اکسیدانت را افزایش داد. مصرف مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم به مدت ۸ هفته در بیماران مبتلا به PCOS، گلوکاتایون پلاسمایی را افزایش داد. مصرف مکمل ترکیب ویتامین D با کلسیم به مدت ۸ هفته در بیماران مبتلا به PCOS، سطوح مالون دی آلدئید پلاسمایی را کاهش داد. مداخله در زمان طولانی‌تر، احتمالاً منجر به نتایج بهتری می‌شود. اندازه‌گیری هورمون‌های مرتبط با وضعیت بیماری PCOS پیشنهاد می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه تخصصی دکتر سمیه بخشایشی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه و کلیه همکاران بیمارستان طالقانی و کلینیک کوثر و بیماران محترم تشکر می‌نمایند.



## منابع

1. Sinawat S, Buppasiri P, Lumbiganon P, Pattanittum P. Long versus short course treatment with metformin and clomiphene citrate for ovulation induction in women with PCOS. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012; 10: CD006226.
2. Shannon M, Wang Y. Polycystic ovary syndrome: a common but often unrecognized condition. *J Midwifery Womens Health*. 2012; 57: 221-30.
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: 238-42.
4. Legro RS, Strauss JF. Molecular progress in infertility: polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2002; 78: 569-76.
5. Gonzalez F. Inflammation in Polycystic Ovary Syndrome: underpinning of insulin resistance and ovarian dysfunction. *Steroids*. 2012; 77: 300-5.
6. Wild RA. Dyslipidemia in PCOS. *Steroids*. 2012; 77: 295-9.
7. McGowan MP. Polycystic ovary syndrome: a common endocrine disorder and risk factor for vascular disease. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2011; 13: 289-301.
8. Fanta M. Is polycystic ovary syndrome, a state of relative estrogen excess, a real risk factor for estrogen-dependant malignancies? *Gynecol Endocrinol*. 2013; 29:145-7.
9. Hudecova M, Jan H, Christian B, Poromaa Inger S. Long-term reproductive and metabolic consequences of PCOS. *Curr Diabetes Rev*. 2012; 8: 444-51.
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: 400-3.
11. Gallo C, Renzi P, Loizzo S, Loizzo A, Piacente S, Festa M, et al. Potential therapeutic effects of vitamin e and C on placental oxidative stress induced by nicotine: an in vitro evidence. *Open Biochem J*. 2010; 4: 77-82.
12. Asemi Z, Samimi M, Tabassi Z, Sabihi SS, Esmailzadeh A. A randomized controlled clinical trial investigating the effect of DASH diet on insulin resistance, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes. *Nutrition*. 2013; 29: 619-24.
13. Mezza T, Muscogiuri G, Sorice GP, Prioletta A, Salomone E, Pontecorvi A, et al. Vitamin d deficiency: a new risk factor for type 2 diabetes? *Ann Nutr Metab*. 2012; 61: 337-48.
14. Dursun E, Gezen-Ak D, Yilmazer S. A new mechanism for amyloid-beta induction of iNOS: vitamin D-VDR pathway disruption. *J Alzheimers Dis*. 2013; 36: 459-74.
15. Brandi L. 1alpha(OH)D3 One-alpha-hydroxy-cholecalciferol--an active vitamin D analog. Clinical studies on prophylaxis and treatment of secondary hyperparathyroidism in uremic patients on chronic dialysis. *Dan Med Bull*. 2008;55:186-210.
16. Nobre JL, Lisboa PC, Lima Nda S, Franco JG, Nogueira Neto JF, de Moura EG, et al. Calcium supplementation prevents obesity, hyperleptinaemia and hyperglycaemia in adult rats programmed by early weaning. *Br J Nutr*. 2012; 107: 979-88.
17. Zemel MB. Regulation of adiposity and obesity risk by dietary calcium: mechanisms and implications. *J Am Coll Nutr*. 2002; 21: 146S-51S.
18. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004; 81: 19-25.
19. Mazloomi S, Sharifi F, Hajihosseini R, Kalantari S, Mazloomzadeh S. Association between Hypoadiponectinemia and Low Serum Concentrations of Calcium and Vitamin D in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *ISRN Endocrinol*. 2012; 2012: 949427.
20. von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient - a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutr*. 2010; 103: 549-55.
21. Talaei A, Mohamadi M, Adgi Z. The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2013; 5:8.

22. Soheilykhah S, Mojibian M, Moghadam MJ, Shojaoddiny-Ardekani A. The effect of different doses of vitamin D supplementation on insulin resistance during pregnancy. *Gynecol Endocrinol*. 2013; 29: 396-9.
23. Harinarayan CV, Arvind S, Joshi S, Thennarasu K, Vedavyas V, Baindur A. Improvement in Pancreatic beta Cell Function with Vitamin D and Calcium Supplementation in Vitamin D Deficient Non-Diabetic Subjects. *Endocr Pract*. 2013;1-33.
24. Pal L, Berry A, Coraluzzi L, Kustan E, Danton C, Shaw J, et al. Therapeutic implications of vitamin D and calcium in overweight women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2012; 28: 965-8.
25. Salehpour A, Shidfar F, Hosseinpanah F, Vafa M, Razaghi M, Amiri F. Does vitamin D3 supplementation improve glucose homeostasis in overweight or obese women? A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Diabet Med*. 2013.
26. Wamberg L, Kampmann U, Stodkilde-Jorgensen H, Rejnmark L, Pedersen SB, Richelsen B. Effects of vitamin D supplementation on body fat accumulation, inflammation, and metabolic risk factors in obese adults with low vitamin D levels - Results from a randomized trial. *Eur J Intern Med*. 2013.
27. Maestro B, Molero S, Bajo S, Davila N, Calle C. Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Cell Biochem Funct*. 2002; 20: 227-32.
28. Stentz FB, Kitabchi AE. Transcriptome and proteome expressions involved in insulin resistance in muscle and activated T-lymphocytes of patients with type 2 diabetes. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2007; 5: 216-35.
29. Ekici F, Ozyurt B, Erdogan H. The combination of vitamin D3 and dehydroascorbic acid administration attenuates brain damage in focal ischemia. *Neurol Sci*. 2009; 30: 207-12.
30. Fedirko V, Bostick RM, Long Q, Flanders WD, McCullough ML, Sidelnikov E, et al. Effects of supplemental vitamin D and calcium on oxidative DNA damage marker in normal colorectal mucosa: a randomized clinical trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010; 19: 280-91.
31. Hamden K, Carreau S, Jamoussi K, Miladi S, Lajmi S, Aloulou D, et al. 1Alpha, 25 dihydroxyvitamin D3: therapeutic and preventive effects against oxidative stress, hepatic, pancreatic and renal injury in alloxan-induced diabetes in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2009; 55: 215-22.
32. Wiseman H. Vitamin D is a membrane antioxidant. Ability to inhibit iron-dependent lipid peroxidation in liposomes compared to cholesterol, ergosterol and tamoxifen and relevance to anticancer action. *FEBS Lett*. 1993; 326: 285-8.
33. Kallay E, Bareis P, Bajna E, Kriwanek S, Bonner E, Toyokuni S, et al. Vitamin D receptor activity and prevention of colonic hyperproliferation and oxidative stress. *Food Chem Toxicol*. 2002; 40: 1191-6.