

Polikistik Over Sendromunda D Vitamini Seviyesinin Hormonal ve Biyokimyasal Parametrelerle İlişkisi

Correlations of Vitamin D Level with Hormonal and Biochemical Parameters in Polycystic Ovary Syndrome

¹Suna Kabil Kucur, ¹İlay Gözükara, ²Havva Yılmaz, ³Ayşenur Aksoy, ³Eda Ülkü Uludağ, ⁴Hülya Uzkeser, ⁵Yasemin Kaya, ⁶Esra Ademoğlu, ⁷Ayşe Çarlıoğlu, ⁷Şenay Arıkan

¹Dumlupınar Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D., Kütahya

²İstanbul Medeniyet Üniversitesi İç Hastalıkları Bölümü, İstanbul

³Erzurum Nenehatun Doğumevi, Kadın Hastalıkları ve Doğum, Erzurum

⁴Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, Erzurum

⁵Ordu Devlet Hastanesi, İç Hastalıkları, Ordu

⁶Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları, Ankara

⁷Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Endokrinoloji, Erzurum

Özet

Polikistik over sendromu (PKOS) hastalarında 25(OH)D düzeyi ve bunun hormonal ve biyokimyasal parametrelerle ilişkisini değerlendirmek. Çalışmaya Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesine Mayıs - Ekim ayları arasında başvurmuş 33 PKOS tanısı almış hasta ve 42 yaş ve vücut kitle indeksi (VKİ) uyumlu kontrol grubunu içeren toplam 75 olgu katılmıştır. Erken folliküler fazda 12 saat açlık sonrası total testosteron (TT), serbest testosteron (fT), 25 Hidroksi D vitamini (25(OH)D), Dihidroepiandrostenodion sülfat (DHEAS), LH, FSH, tiroid stimulan hormon (TSH), kortisol ve 17αOH-progesteron, açlık kan şekeri (AKŞ) ve insülin için kan örneği alındı. HOMA-IR (açlık kan şekeri x açlık insülini / 405) hesaplandı. PKOS hastalarında kontrol grubuna göre 17αOH progesteron ve 25(OH)D seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (p<0.01). Serum LH, LH/ FSH TT, FT, insulin, ACTH ve DHEAS seviyeleri PKOS grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.01). 25(OH)D düzeyi ile PKOS, LH/FSH, TT, fT, DHEAS ve FGS arasında negatif korelasyon izlenirken, 25(OH)D seviyesi ile yaş, VKİ ve insülin direnci arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Çalışmamızda PKOS grubunda kontrol grubuna göre vücut kitle indeksinden bağımsız olarak D vitamini düzeyinin istatistiksel olarak ciddi düşük olduğu gözlemlendi. 25(OH)D seviyesinin hiperandrojenik tablo ile korele olduğu gözlemlendi. Düşük serum 25(OH)D düzeyinin PKOS hastalarında semptomları arttıracığı düşünülebilir. PKOS' un yönetiminde D vitamini takviyesinin hormonal ve klinik parametrelere etkisini araştıran geniş girişimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Hiperandrojenizm, polikistik over sendromu, 25-hidroksi D vitamini, vitaminler.

Abstract

To investigate the level of 25(OH)D and association between 25(OH)D level and hormonal-biochemical parameters in Polycystic ovary syndrome (PCOS). Thirty three patients diagnosed with PCOS and 42 age- body mass index (BMI) matched control group admitted to Bolge Training and Research Hospital from May to October were included in the study. Serum total testosterone (TT), free testosterone (fT), 25(OH)D, dihydroepiandrostenodione sulphate, LH, FSH, thyroid stimulating hormone (TSH), cortisol, 17αOH-progesterone, fasting glucose, insulin levels were evaluated after 12 hour fasting. HOMA-IR (fasting glucose level x fasting insülin / 405) was calculated. Serum 17αOH progesterone and 25(OH)D levels were significantly lower in PCOS group (p<0.01). Serum LH, LH/ FSH TT, FT, insulin, ACTH, and DHEAS levels were significantly higher in PCOS group (p<0.01). There was statistically significant negative correlation of 25(OH)D levels with PCOS, LH/FSH, TT, fT, DHEAS ve FGS. There was no statistically significant correlation between 25(OH)D levels and age, body mass index and insulin resistance. The results of this study indicated that vitamin D deficiency is highly prevalent among women with PCOS independent of body mass index. We also demonstrated that vitamin D deficiency was correlated with hyperandrogenism in PCOS women. Low serum 25(OH)D levels might exacerbate PCOS symptoms. Large intervention trials are needed to evaluate the effect of vitamin D supplementation on hormonal and clinical parameters in PCOS women.

Key words: Hyperandrogenism, polycystic ovary syndrome, 25-hydroxyvitamin D, vitamins.

GİRİŞ

PKOS üreme çağındaki kadınlarda %18 prevalansla en sık görülen endokrin bozukluktur (1). PKOS adet düzensizliği, infertilite, hirsütizm, akne ve obesitenin izlendiği bir klinik tablo ile karakterizedir (2). Başta insülin direnci olmak üzere birçok metabolik bozukluk dikkati çekmektedir. Erken başlangıçlı tip 2 diyabet ve dolayısıyla hipertansiyon, dislipidemi ve koroner arter hastalığı riski artmıştır (3). İnsülin direnci PKOS' un patogenezinin ve beraberindeki birçok kardiyometabolik etkilerinden

sorumlu tutulmaktadır (4). 25(OH)D vitamini kemik doku, paratiroid bezler ve overler gibi bazı dokulardaki vitamin D reseptörleri (VDR) aracılığıyla gen transkripsiyonunu regüle eder (5). VDR overlerde aromataz gen ekspresyonunu doğrudan regüle ederek östrojen üretiminde önemli bir rol sahiptir (6). 25(OH)D vücutta birçok metabolik olayda rol aldığından, D vitamini eksikliği vücudun birçok sistemini etkilemektedir. Kanser, otoimmün hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve depresyon sıklığının D vitamini eksikliğinde arttığı gözlemlenmiştir (7). D vitamini eksikliği ile

kalsiyum yetmezliğinin PKOS' ta görülen adet düzensizliğiyle yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (8). Bu etkileri nedeniyle D vitamini eksikliğinin PKOS semptomlarını arttıracağı düşünülebilir.

PKOS hastalarında 25(OH)D seviyesinin araştırıldığı çalışmaların çoğunda serum 25(OH)D seviyesi kontrol grubuna göre düşük (8-14), bir kısmında yüksek (15) ve bazısında ise benzer (11, 16) bulunmuştur. Çalışmamızda PKOS tanısı almış hastalarda 25(OH)D seviyesinin biyokimyasal ve hormonal parametrelerle ilişkisini araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesine Mayıs - Ekim ayları arasında başvurmuş 33 PKOS tanısı almış hasta ve 42 yaş ve VKI uyumlu kontrol grubunu içeren toplam 75 olgu katılmıştır. PKOS tanısı Rotterdam kriterlerine göre konulmuştur (17). Buna göre oligo-anovulasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm ve ultrasonografide polikistik overlerin bulunması kriterlerinden ikisine sahip olgular PKOS olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubundaki hastaların dahil edilme kriterleri; normal pelvik ultrasonografi bulguları, düzenli menstrüel siklusun olması ve hirsutizm, akne bulgularının olmamasıydı. Klinik hiperandrojenizm Ferriman-Gallwey skoru (FGS) ile değerlendirildi. FGS ≥ 8 hirsutizm olarak değerlendirildi. Androjen salgılayan tümörler, konjenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu ve hiperprolaktinemi gibi PKOS ile benzer klinik tabloyla seyreden hastalar çalışmaya katılmamıştır. Endokrin parametreleri etkileyecek ilaç kullanımı olan gönüllüler araştırmaya dahil edilmemiştir. Her gönüllü çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onam alınmıştır. Çalışma için Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesinden etik komite onayı alınmıştır. Her katılımcının andropometrik verileri kaydedilmiştir. Katılımcıların vücut kitle indeksi (kg/m²) ölçüldü. Kan örnekleri erken folliküler fazda, 12 saat açlık sonrası alındı. 25(OH)D seviyeleri, bazal hormon seviyeleri (total testosteron, serbest testosteron, DHEAS, TSH, kortisol ve 17 α OH-progesteron), açlık kan şekeri (AKŞ), insülin ve C-peptid seviyeleri bakıldı. HOMA-IR (açlık kan şekeri x açlık insülini / 405) hesaplandı. Serum 25(OH)D seviyeleri yüksek performans likit kromatografi bağımlı kromsistem

tanısal kit ile ölçüldü. Bazal serum hormon düzeyleri immunoassay ile değerlendirildi. Serum glukozu spektrofotometrik olarak ölçüldü. Kan insülin değeri immünotürbidimetrik metot ile ölçüldü.

İstatistiksel analiz

Çalışmamızda istatistiksel analizler için "SPSS 17.0 for Windows" (SPSS Inc., Chicago, Illinois) programı kullanıldı. P değerinin 0.05' den küçük olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu "tek örneklem Kolmogorov-Smirnov testi" ile incelendi. Gruplar arasındaki değişkenlerin karşılaştırılması için student-t testi ve Mann-Whitney-U testleri değerlerin dağılım durumuna göre uygun şekilde kullanıldı. Her iki grup arasında kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. Normal dağılımlı iki sayısal değişken arasındaki korelasyon, Pearson'ın iki değişkenli korelasyon testi ile incelendi, bunun dışındaki durumlarda ise Spearman'ın korelasyon testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamıza katılan 75 olgunun antropometrik, biyokimyasal ve hormonal özellikleri Tablo 1' de özetlenmiştir (Tablo 1). PKOS ve kontrol grubu BMI ve yaş yönünden benzerdi. Gruplar FSH, kortisol, AKŞ, HOMA- IR ve C peptid değerleri yönünden benzerdi (p> 0.05). PKOS hastalarında kontrol grubuna göre 17 α OH progesteron ve 25(OH)D seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (p< 0.01). Serum LH, LH/ FSH TT, FT, insülin, ACTH ve DHEAS seviyeleri PKOS grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p< 0.01). 25(OH)D düzeyi ile PKOS, LH/FSH, TT, FT, DHEAS ve FGS arasında negatif korelasyon izlenirken 25(OH)D seviyesi ile yaş, VKI ve insülin direnci arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı (Tablo 2).

TARTIŞMA

25(OH)D' nin vücutta kalsiyum ve fosfor dengesinin sağlanması ve kemik mineralizasyonu gibi birçok metabolik olayda önemli fonksiyonları olduğu bilinmektedir (7). Son yıllarda D vitamini eksikliğinde kanser,

Table 1. PKOS ve kontrol grubunun antropometrik ve biyokimyasal özellikleri

	PKOS (n:33)	Kontrol (n:42)	p değeri
Yaş (y)	24.3 \pm 5.54	24.23 \pm 4.17	0.933
VKI (kg/m ²)	24.37 \pm 6.90	26.66 \pm 2.32	0.074
AKŞ (mg/dl)	89.15 \pm 16.16	85.78 \pm 7.38	0.234
Açlık insülin (mU/L)	14.09 \pm 28.97	2.60 \pm 2.77	0.058
C Peptid	2.43 \pm 2.74	2.38 \pm 2.61	0.975
HOMA- IR	3.66 \pm 9.58	0.87 \pm 0.61	0.150
25-OH-vitamin D (ng/mL)	7.56 \pm 4.32	55.64 \pm 25.61	<0.001*
Total testosteron (ng/dL)	69.34 \pm 39.12	49.42 \pm 11.43	0.004*
Serbest testosteron (ng/dL)	2.31 \pm 1.39	1.59 \pm 0.45	0.003*
LH (IU/L)	6.24 \pm 4.33	3.80 \pm 2.27	0.003*
FSH (IU/L)	4.98 \pm 2.51	5.29 \pm 0.71	0.456
LH/ FSH	2,02 \pm 2.9	0.73 \pm 0.5	0.007*
DHEAS (μ g/dL)	256.70 \pm 110.72	151.77 \pm 35.51	<0.001*
17-OH progesteron (ng/dl)	0.71 \pm 0.40	2.98 \pm 0.41	<0.001*
ACTH (pg/ml)	22.78 \pm 13.13	15.54 \pm 5.48	0.004*
Kortisol (μ g/dL)	15.76 \pm 7.31	18.63 \pm 6.79	0.099
Progesteron (pg/ml)	1,6516 \pm 2,81707	3,0775 \pm ,55124	0.02*
FGS	10.26 \pm 2.21	4.1 \pm 1.8	<0.001*

* P <0.05

Table 2. PKOS hastalarında D vitamini ile diğer parametreler arası pearson korelasyon

Değişkenler	r	p değeri
Yaş (y)	-0.43	0.7
VKI (kg/m ²)	0.1	0.43
İnsülin (mU/L)	-0.13	0.48
HOMA-IR	-0.1	0.59
AKŞ (mg/dl)	-0.05	0.65
Total Testosteron (ng/dL)	-0.256	0.03*
Serbest testostereone (ng/dL)	-0.29	0,01*
LH/FSH	-0.281	0.017*
DHEAS (µg/dL)	-0.416	0.000*
FGS	-0.67	0.000*
LH (IU/L)	-031	0.008*
FSH (IU/L)	0,13	0,26
ACTH (pg/ml)	-0.29	0.02*
Kortizol (µg/dL)	0.157	0.2
17-OH progesterone (pg/ml)	0.7	0.000*
Progesteron (pg/ml)	0.24	0.03*

r: korelasyon katsayısı

* p < 0.05

otoimmün hastalıklar, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve depresyon sıklığının arttığı bildirilmiştir (7, 18, 19). PKOS hastalarında serum 25(OH)D seviyesinin anlamlı derecede düşük olduğu literatürde yayınlanmıştır (8-14). Fakat Mahmaudi ve ark. 85 PKOS hastasını kapsayan çalışmasında PKOS' lu olgularda kontrol grubuna göre serum 25(OH)D düzeyinin yüksek olduğunu bildirmiştir.15 Yani literatürde PKOS' ta 25(OH)D vitamini seviyesi konusunda ihtilaf bulunmaktadır. Biz de çalışmamızda PKOS hastalarında 25(OH)D düzeyi ve bunun hormonal ve biyokimyasal parametrelerle ilişkisini inceledik.

Overler ve adrenal bezlerden artmış androjen sentezi PKOS' un fizyopatolojisinde önemlidir (20). Hiperandrojenizmin oluşmasında insülin direnci ve sistemik hiperinsülinizmin etkili olduğu bilinmektedir(21). PKOS' ta D vitamini seviyeleri ile insülin direnci, hirsutizm ve kıllanma gibi semptomların ilişkisi araştırılmıştır (9,22). Metabolik sendromun gelişmesinde D vitamini eksikliğinin rolü olduğunun ortaya çıkması ile PKOS hastalarında görülen metabolik sendromun D vitamini eksikliğine bağlı olabileceğini savunan çalışmalar yayınlanmıştır (9,10,23). Ayrıca D vitamini eksikliğinin insülin direnci, tip 2 diyabet ve dislipidemi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (9,24). Fakat yakında yapılan bir çalışmada D vitamini eksikliğinin insülin direnci ile değil obezite ile ilişkili olduğu yayınlanmıştır (25). Öte yandan bir çalışmada ciddi D vitamini yetmezliği olan PKOS hastalarında VKİ' den bağımsız olarak daha fazla insülin direnci olduğu izlenmiştir (11). D vitamini eksikliğinin gelecekteki hiperglisemi ve insülin direnci ile yakından ilişkili olduğunu savunan araştırmalar da mevcuttur (26). Birçok moleküler ve hücresele mekanizma tanımlanmış olmasına rağmen 25(OH)D ile insülin direnci arasındaki ilişki maalesef net olarak açıklanamamış değildir. Çalışmamızda PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak insülin artmışken, HOMA-IR benzerdi. Grupların VKİ yönünden benzer olduğu çalışmamızda 25(OH)D ile insülin direnci arasında bir ilişki tespit etmedik (r=-0.1 ; p=0.59).

Obezitenin 25(OH)D eksikliğinin sebebi mi sonucu mu olduğu net anlaşılamamış olmasına rağmen yağ dokuda 25(OH)D' in birikimi ve azalmış gün ışığına maruziyet gibi nedenlerle serum 25(OH)D seviyesinin obez kişilerde düşük olduğu sanılmaktadır.27 Yıldızhan ve

ark obez PKOS hastalarında 25(OH)D seviyesinin non-obez PKOS' lulara oranla anlamlı olarak düşük olduğunu yayınlamıştır. Çalışmamızda ise BMI' den bağımsız olarak PKOS grubunda 25(OH)D seviyesi anlamlı düşük olduğu gözlemlendi (p<0.001). 100 PKOS hastasının incelendiği bir çalışmada düşük 25(OH)D seviyeleri ile insülin direnci, obezite, artmış testosteron, DHEAS ve LH/FSH oranı arasında korelasyon saptanmıştır. Yıldızhan ve ark bu çalışmada D hipovitaminozunun obezite ve insülin direncinin bir sonucu olduğunu öne sürmüştür (22). Çalışmamızda ise D vit seviyesi ile VKİ ve insülin direnci arasında bir korelasyon bulunmadı (sırasıyla r=-0.1, p=0.43; r=-0.1, p=0.59). Hahn ve ark 25(OH)D seviyeleri ile serbest androjen indeksi ve SHBG arası ilişki saptamışken, TT, AS, DHEAS, estradiol ve LH/FSH oranı arasında ilişki olmadığını bildirmiştir. Fakat bu çalışmada gruplararası VKİ' leri farklıydı (9). Bizim çalışmamızda serum 25(OH)D düzeyi ile LH/FSH, TT, FT ve DHEAS arasında negatif korelasyon olduğu görüldü (sırasıyla r=-0.281, p=0.017; r=-0.256, p=0.03; r=-0.29, p=0,01; r=-0.416, p=0.000). Wehr ve ark. 206 PKOS hastasında yaptığı çalışmada düşük 25(OH)D seviyesinin metabolik sendrom ve insülin direnci ile yakından ilişkili olduğunu, hatta 25(OH)D seviyesinin insülin direncinin bağımsız prediktörü olduğunu yayınlamışlardır (10). Bu çalışmada hirsutizm olan PKOS hastalarının 25(OH)D seviyesi hirsutizm olmayan PKOS hastalarına göre anlamlı olarak düşük olduğunu tespit etmiştir. Grupların BMI yönünden homojen olmadığı bu çalışmada 25(OH)D seviyesi ile hirsutizm skoru arasında negatif, SHBG ile pozitif korelasyon izlerken, testosteron seviyesi ile korelasyon olmadığını savunmuşlardır (10). Biz de çalışmamızda 25(OH)D seviyeleri ile FGS arası negatif korelasyon tespit ettik (; r=-0.67, p=0.000). D vitamini takviyesinin PKOS' ta hiperandrojenizm ve menstrual düzene olumlu etkileri olduğu yakın zamanda yayınlanmıştır (28).

Sonuç olarak, çalışmamızda PKOS grubunda kontrol grubuna göre vücut kitle indeksinden bağımsız olarak D vitamini düzeyinin istatistiksel olarak ciddi düşük olduğu gözlemlendi. 25(OH)D seviyesinin hiperandrojenik tablo ile korele olduğu gözlemlendi. Düşük serum 25(OH)D düzeyi PKOS hastalarında semptomları arttıracağı düşünülebilir. PKOS' un yönetiminde D vitamini takviyesinin hormonal ve klinik parametrelere etkisini araştıran geniş girişimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DI, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. Hum Reprod 2010;25(2):544-51.
2. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(6):2745-9.
3. Legro RS, Kunesman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. J Clin Endocrinol Metab 1999;84(1):165-9.
4. Hoffman LK, Ehrmann DA. Cardiometabolic features of polycystic ovary syndrome. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2008;4(4):215-22.
5. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. Physiol Rev 1998;78(4):1193-231.
6. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. Endocrinology 2000;141(4):1317-24.
7. Holick MF. Vitamin D deficiency. N Engl J Med 2007;357(3):266-81.
8. Thys-Jacobs S, Donovan D, Papadopoulos A, Sarrel P, Bilezikian JP. Vitamin D and calcium dysregulation in the polycystic ovarian syndrome. Steroids 1999;64(6):430-5.
9. Hahn S, Haselhorst U, Tan S, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with insulin resistance and obesity in

- women with polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006;114(10):577-83.
10. Wehr E, Pilz S, Schweighofer N, et al. Association of hypovitaminosis D with metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2009;161(4):575-82.
 11. Li HW, Brereton RE, Anderson RA, Wallace AM, Ho CK. Vitamin D deficiency is common and associated with metabolic risk factors in patients with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 2011;60(10):1475-81.
 12. Mazloomi S, Sharifi F, Hajhosseini 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.
 13. Wehr E, Trummer O, Giuliani A, Gruber HJ, 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.
 14. 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
 15. 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.
 16. Panidis D, Balaris C, Farmakiotis D, et al. Serum parathyroid hormone concentrations are increased in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Chem* 2005;51(9):1691-7.
 17. The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and longterm health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reproduction* 2004;19;41-47.
 18. Pilz S, Dobnig H, Winkhofer-Roob B, et al. Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D predict fatal cancer in patients referred to coronary angiography. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(5):1228-33
 19. Pilz S, März W, Wellnitz B, et al. Association of vitamin D deficiency with heart failure and sudden cardiac death in a large cross-sectional study of patients referred for coronary angiography. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(10):3927-35
 20. Wickenheisser JK, Nelson-DeGrave VL, McAllister JM. Human ovarian theca cells in culture. *Trends Endocrinol Metab* 2006;17(2):65-71.
 21. Dale PO, Tanbo T, Vaaler S, Abyholm T. Body weight, hyperinsulinemia, and gonadotropin levels in the polycystic ovarian syndrome: evidence of two distinct populations. *Fertil Steril* 1992;58(3):487-91.
 22. Yildizhan R, Kurdoglu M, Adali E, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 2009;280(4):559-63.
 23. Ngo DT, Chan WP, Rajendran S, et al. Determinants of insulin responsiveness in young women: Impact of polycystic ovarian syndrome, nitric oxide, and vitamin D. *Nitric Oxide*. 2011;25(3):326-30
 24. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004;79(5):820-5.
 25. Muscogiuri G, Policola C, Priolella A, et al. Low levels of 25(OH)D and insulin-resistance: 2 unrelated features or a cause-effect in PCOS? *Clin Nutr* 2012;31(4):476-80
 26. Forouhi NG, Luan J, Cooper A, Boucher BJ, Wareham NJ. Baseline serum 25-hydroxy vitamin d is predictive of future glycemc status and insulin resistance: the Medical Research Council Ely Prospective Study 1990-2000. *Diabetes* 2008 ;57(10):2619-25.
 27. Holecki M, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, et al. Osteoprotegerin--does it play a protective role in the pathogenesis of bone loss in obese perimenopausal women? *Endokrynol Pol* 2007;58(1):7-10.
 28. Firouzabadi Rd, Aflatoonian A, Modarresi S, Sekhavat L, MohammadTaheri S. Therapeutic effects of calcium & vitamin D supplementation in women with PCOS. *Complement Ther Clin Pract* 2012;18(2):85-8