

# بررسی تأثیر کلسیم - ویتامین D در موفقیت القاء تخمک گذاری در زنان نابارور با تشخیص سندرم تخمدان پلی کیستیک

دکتر ربابه محمد بیگی<sup>۱</sup>، دکتر عبدالرحیم افخم زاده<sup>۲</sup>، نزهت السادات دانشپور<sup>۳\*</sup>

۱. استادیار گروه زنان و مامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، کردستان، ایران.
۲. متخصص پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، کردستان، ایران.
۳. رزیدنت زنان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، کردستان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱/۱۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۵/۱۶

## خلاصه

**مقدمه:** سندرم تخمدان پلی کیستیک یکی از شایع ترین مشکلات هورمونی زنان در سنین باروری است که از طریق عدم تخمک گذاری باعث ایجاد نازایی می شود. تجویز کلسیم همراه با کلومیفن ممکن است تأثیر بیشتری در القاء تخمک گذاری و رشد فولیکول ها داشته باشد، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر کلسیم - ویتامین D در موفقیت القاء تخمک گذاری در زنان نابارور با تشخیص سندرم تخمدان پلی کیستیک انجام شد.

**روش کار:** این مطالعه به صورت کارآزمایی بالینی شاهددار تصادفی در سال های ۱۳۸۹-۱۳۹۰ بر روی ۴۴ زن نابارور مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک انجام شد. بیماران با روش بلوک بندی تصادفی در دو گروه مداخله (۲۲ نفر) و شاهد (۲۲ نفر) قرار گرفتند. برای افراد گروه مداخله روزانه ۵۰ میلی گرم قرص کلومیفن همراه با ۴۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰۰ میلی گرم کلسیم و برای گروه شاهد روزانه ۵۰ میلی گرم قرص کلومیفن همراه با پلاسبو تجویز شد. برای این بیماران سونوگرافی تا سه سیکل، و هر بار در روز ۱۳ سیکل قاعدگی جهت بررسی سائیز فولیکول غالب انجام شد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۱/۵) و آزمون های کای دو، فیشر، من ویتنی و تحلیل واریانس برای مقادیر تکراری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

**یافته ها:** بین روند تغییرات اندازه فولیکول در دو گروه تفاوت معنی دار آماری مشاهده نشد ( $p=0/1$ ) ولی میانه و میانگین اندازه فولیکول ها در ماه اول، دوم و سوم در گروه مداخله بیشتر از گروه شاهد بود ( $p<0/05$ ). همچنین به طور کلی، تفاوت آماری معنی داری بین ماه اول و دوم از نظر اندازه فولیکول ها مشاهده نشد ( $p=0/82$ ) ولی اندازه فولیکول ها در ماه سوم به طور معنی داری با ماه دوم متفاوت بود ( $p=0/01$ ).

**نتیجه گیری:** اضافه کردن روزانه ۴۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰۰ میلی گرم کلسیم به درمان معمول با کلومیفن باعث افزایش اندازه فولیکول ها می شود که این تأثیر پس از سیکل دوم قاعدگی پس از درمان بیشتر است.

**کلمات کلیدی:** سندرم تخمدان پلی کیستیک، کلسیم، کلومیفن، ناباروری، ویتامین D

\* نویسنده مسئول مکاتبات: نزهت السادات دانشپور؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، کردستان، ایران. تلفن: ۰۹۱۱۱۵۴۰۸۰۰  
پست الکترونیک: nezhat79@gmail.com

## مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)<sup>۲</sup> شایع ترین اختلال غدد زنان در سنین باروری است که شیوع آن در زنان مبتلا به نازایی حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد می باشد (۱). این بیماری که شایع ترین علت عدم تخمک گذاری زنان در سن باروری است با علائم متعددی از قبیل هیرسوتیسم، مقاومت به انسولین، اختلالات هورمونی و اختلالات قاعدگی همراه می باشد (۲-۴). این بیماری به شکل های گوناگونی بیماران را تحت تأثیر قرار می دهد و علاوه بر ناباروری می تواند برای برخی بیماری ها از قبیل بیماری های قلبی عروقی به عنوان عامل خطری باشد (۳). علت ایجاد این سندرم به درستی مشخص نشده است ولی با برخی تغییرات هورمون ها و افزایش مقاومت به انسولین ارتباط دارد و احتمالاً پایه ژنتیکی نیز دارد (۵-۷).

درمان این سندرم بستگی به هدف از درمان دارد. مثلاً بیمارانی که نیاز به باروری دارند، درمان آنان باید در جهت القاء تخمک گذاری انجام شود و بیمارانی که از هیرسوتیسم شاکی هستند، درمان آنان در این جهت انجام خواهد شد (۳). عواملی مانند مقاومت به انسولین، هورمون های آندروژن، LH و FSH به طور مستقیم و غیر مستقیم در ایجاد ناباروری در این بیماران نقش عمده ای دارند. علاوه بر این، عوامل تغذیه ای نیز ممکن است در ایجاد ناباروری نقش مؤثری داشته باشند (۱، ۸). امروزه اقدامات دارویی برای درمان عدم تخمک گذاری کاربرد گسترده ای دارد و شامل داروهای متنوعی نظیر مت فورمین<sup>۳</sup>، کلومیفن<sup>۴</sup> و لتروزول<sup>۵</sup> می باشد که هر کدام مکانیسم اثر مختلفی دارند (۳، ۹، ۱۰). کلومیفن که یک تعدیل کننده گیرنده استروژن است می تواند باعث القاء تخمک گذاری شود. تیس- جاکوب و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که اختلال در هموستاز کلسیم احتمالاً یکی از عوامل مؤثر در اختلال رشد فولیکول ها می باشد (۱۱). کوتسا و همکاران (۲۰۰۹) نیز پیشنهاد کردند که تجویز کلسیم باید یکی از درمان های سندرم

تخمدان پلی کیستیک باشد (۱۲) ولی مطالعات بالینی بسیار اندکی در خصوص تأثیر کلسیم بر نازایی صورت گرفته است.

با توجه به نتایج مطالعات قبلی، تجویز کلسیم همراه با کلومیفن ممکن است تأثیر بیشتری در القاء تخمک گذاری و رشد فولیکول ها داشته باشد که در این صورت از تحمیل هزینه های اضافی به بیماران جلوگیری خواهد شد، ولی مطالعات بسیار اندکی در این زمینه انجام شده است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان تأثیر کلسیم - ویتامین D در موفقیت القاء تخمک گذاری در زنان نابارور با تشخیص سندرم تخمدان پلی کیستیک انجام شد.

## روش کار

این مطالعه کارآزمایی بالینی شاهددار تصادفی دو سوکور در سال های ۱۳۸۹-۱۳۹۰ بر روی ۴۴ زن نابارور مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک انجام شد. پس از تأیید این مطالعه توسط شورای اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه و پس از اخذ رضایت آگاهانه، بیماران با روش تصادفی بلوک بندی شده در دو گروه مداخله (۲۲ نفر) و شاهد (۲۲ نفر) قرار گرفتند. معیارهای ورود به مطالعه شامل نازایی اولیه یا ثانویه با علت سندرم تخمدان پلی کیستیک بر اساس معیارهای روتردام بود. این معیارها شامل الیگومنوره یا آمنوره، یافته های کلینیکی یا آزمایشگاهی منطبق بر افزایش اندروژن و تخمدان های پلی کیستیک در سونوگرافی بود. معیارهای خروج از مطالعه نیز شامل بیماری های غدد ثابت شده مانند کوشینگ هیپوتیروئیدی، هیپرتیروئیدی، دیابت و افزایش پرولاکتین خون بود.

تخصیص تصادفی افراد توسط متخصص زنان و زایمان انجام شد و پیگیری بیماران به عهده رزیدنت زنان و زایمان بود. پس از تخصیص تصادفی، برای افراد گروه مداخله از اولین روز سیکل قاعدگی روزانه ۴۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰۰ میلی گرم کلسیم (۲ قرص کلسیم-D حاوی ۵۰۰ میلی گرم کلسیم و ۲۰۰ واحد ویتامین D3 ساخت شرکت دارویی سبحان در ایران) و از روز ۹-۵ سیکل قاعدگی روزانه ۵۰ میلی گرم قرص

<sup>2</sup> Polycystic ovary syndrome

<sup>3</sup> Metformin

<sup>4</sup> Clomiphene

<sup>5</sup> Letrozole

داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۱/۵) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه داده های کیفی بین دو گروه از تست کای دو و فیشر و برای مقایسه داده های کمی بین دو گروه از آزمون من ویتنی استفاده شد. سپس جهت مقایسه روند تغییر اندازه فولیکول در ماه های مختلف در دو گروه از تحلیل واریانس برای مقادیر تکراری استفاده شد. فرض کرویت (Sphericity) با استفاده از تست موجلی مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی نشان داد که این فرض برای اندازه فولیکول برقرار است. میزان  $p$  کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها

در این مطالعه ۴۴ نفر (۲۲ نفر در گروه مداخله و ۲۲ نفر در گروه شاهد) مورد بررسی قرار گرفتند. میانه سن در گروه مداخله ۲۶/۵ سال (دامنه ۲۰ تا ۴۳) و در گروه شاهد ۲۹ زنان (۲۳ تا ۲۶) بود که این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود ( $p=0/09$ ). ۳۸ نفر (۸۶/۴٪) از زنان مورد مطالعه خانه دار، ۲۲ نفر (۵۰٪) دارای سطح تحصیلات دیپلم و بالاتر، ۳۸ نفر (۸۴/۱٪) نازایی اولیه، ۲ نفر (۴/۵٪) سیگاری و ۵ نفر (۱۱/۴٪) سابقه سقط داشتند که دو گروه مداخله و شاهد از نظر متغیرهای ذکر شده تفاوت آماری معنی داری نداشتند (جدول ۱).

کلومیفن (یک قرص ۵۰ میلی گرمی ساخت شرکت دارویی سبحان در ایران) داده شد. برای افراد گروه شاهد از روز ۹-۵ سیکل قاعدگی روزانه ۵۰ میلی گرم قرص کلومیفن همراه با دارونما از همان شرکت تجویز شد. در روز ۱۳ سیکل قاعدگی سونوگرافی جهت بررسی سایز فولیکول غالب انجام شد. متخصص رادیولوژی همکار طرح از گروه بندی بیماران اطلاع نداشت (فقط از یک رادیولوژیست و یک دستگاه سونوگرافی استفاده شد). مطالعه از اولین روز سیکل قاعدگی شروع شده به مدت ۳ ماه ادامه یافت.

گردآوری داده ها با استفاده از چک لیست تهیه شده از بیماران شامل اطلاعات فردی، سن، شغل بیمار و همسر بیمار، مدت نازایی، عادات غذایی، نتایج معاینات بالینی و یافته های آزمایشگاهی و سونوگرافی انجام شد. بیماران به مدت ۳ ماه مورد بررسی قرار گرفتند و در صورت مثبت نشدن تست بارداری، دوز کلومیفن در ماه دوم درمان دو برابر (۱۰۰ میلی گرم) و در ماه سوم درمان به سه برابر (۱۵۰ میلی گرم) افزایش یافت. بازگشت سیکل های منظم قاعدگی (۳۵-۲۱ روز)، رشد فولیکول و میزان بارداری در مدت ۳ ماه در افراد دو گروه بررسی و اندازه گیری شد. در کلیه مراحل اجرای طرح موازین اخلاقی پژوهش و محرمانه بودن اطلاعات کسب شده از زنان مورد مطالعه رعایت شد.

جدول ۱- مقایسه مشخصات فردی بیماران گروه مداخله و شاهد در مطالعه بررسی تأثیر کلسیم - ویتامین D در موفقیت القاء تخمک گذاری در زنان نابارور با تشخیص سندرم تخمدان پلی کیستیک

متغیر	مداخله	شاهد	سطح معنی داری
شغل	تعداد = ۲۲ نفر	تعداد = ۲۲ نفر	
خانه دار	۲۰ (۹۰/۹٪)	۱۸ (۸۱/۸٪)	۰/۶۶
شاغل	۲ (۹/۱٪)	۴ (۱۸/۲٪)	
بیسواد و ابتدایی	۴ (۱۸/۲٪)	۸ (۳۶/۴٪)	
سواد	۵ (۲۲/۷٪)	۵ (۲۲/۷٪)	* ۰/۳۵
دیپلم و بالاتر	۱۳ (۵۹/۱٪)	۹ (۴۰/۹٪)	
نوع نازایی			
اولیه	۱۸ (۴۸/۶٪)	۱۹ (۵۱/۴٪)	۱
ثانویه	۴ (۵۷/۱٪)	۳ (۴۲/۹٪)	
مصرف سیگار	۲ (۹/۱٪)	۰ (۰٪)	۰/۴۸
سابقه سقط	۳ (۱۳/۶٪)	۲ (۹/۱٪)	۱

\* جهت تحلیل از تست کای دو و در بقیه موارد از تست فیشر استفاده شد.

در دو گروه از نظر آماری مشابه بود ( $p=0/75$ ) به گونه ای که در ۵ نفر ( $62/5\%$ ) از افراد گروه مداخله و ۴ نفر ( $57/1\%$ ) از افراد گروه شاهد در ماه اول باردار شدند. تفاوت آماری معنی داری بین روند تغییرات در دو گروه مشاهده نشد ( $p=0/1$ ) ولی میانه و میانگین اندازه فولیکول در ماه اول ( $p=0/03$ )، دوم ( $p=0/01$ ) و سوم ( $p=0/003$ ) در گروه مداخله بیشتر از گروه شاهد بود که این تفاوت نیز از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۲).

میانه طول مدت قاعدگی در گروه مداخله ۵ روز (دامنه ۲ تا ۱۰) و در گروه شاهد ۵ روز (دامنه ۱ تا ۸) بود ( $p=0/7$ ). میانه فاصله بین قاعدگی ها در گروه مداخله ۴۰ روز (دامنه ۲۹ تا ۹۰) و در گروه شاهد ۳۶/۵ روز (دامنه ۲۵ تا ۹۰) بود ( $p=0/5$ ). میانه طول مدت قاعدگی در گروه مداخله، ۵ روز (دامنه ۲ تا ۱۰) و در گروه شاهد ۵ روز (دامنه ۱ تا ۸) بود ( $p=0/7$ ). ۹ نفر ( $40/9\%$ ) از افراد گروه مداخله و ۷ نفر ( $31/8\%$ ) از گروه شاهد در طی سه ماه باردار شدند که پیامد بارداری

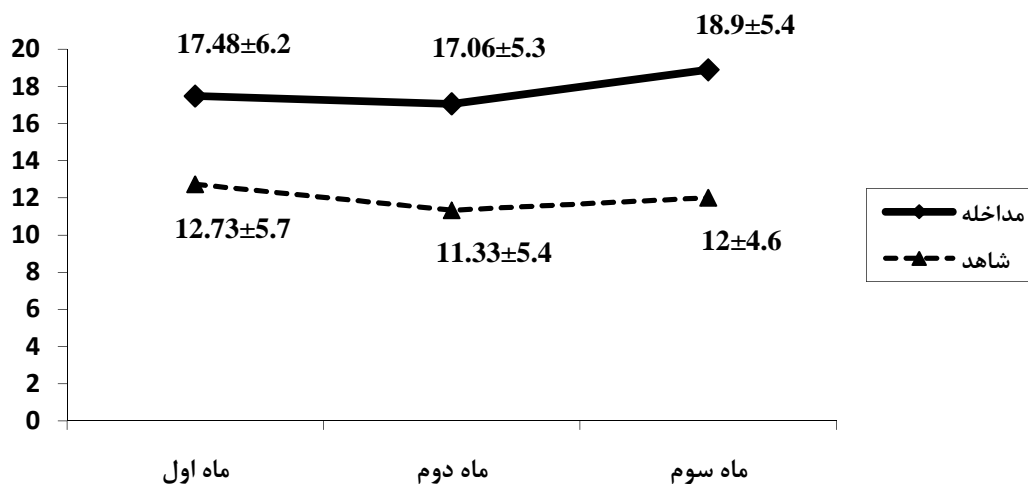
جدول ۲- مقایسه میانه و دامنه اندازه فولیکول در ماه های مختلف بعد از مداخله در دو گروه مداخله و شاهد

سطح معنی داری*	شاهد	مداخله	گروه مورد مطالعه
			زمان بررسی فولیکول
0/03	۱۲/۵ (۵ تا ۲۴)	۱۸ (۵ تا ۲۸)	ماه اول
0/01	۱۰ (۴ تا ۲۰)	۱۸ (۴ تا ۲۴)	ماه دوم
0/003	۱۲ (۴ تا ۲۰)	۱۹ (۸ تا ۲۶)	ماه سوم

\* سطح معنی داری جهت جلوگیری از افزایش خطای نوع اول در مقایسه های چندگانه اصلاح شده است. جهت مقایسه ها از تست من ویتنی استفاده شد.

همچنین به طور کلی، بین ماه اول و دوم از نظر اندازه فولیکول ها تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد ( $p=0/82$ ) ولی اندازه فولیکول ها در ماه سوم به طور معنی داری با ماه دوم متفاوت بود ( $p=0/01$ ) (نمودار ۱).

همچنین به طور کلی، بین ماه اول و دوم از نظر اندازه فولیکول ها تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد



نمودار ۱- مقایسه تغییرات میانگین اندازه فولیکول در ماه های مختلف در گروه مداخله و شاهد در بررسی تأثیر کلسیم ویتامین D در موفقیت القاء تخمک گذاری در زنان نابارور با تشخیص سندرم تخمدان پلی کیستیک

روند تغییرات در دو گروه مشابه بود ولی میانگین اندازه فولیکول در ماه اول، دوم و سوم در گروه مداخله بیشتر از گروه شاهد بود ( $p<0/05$ ). تفاوت معنی دار آماری بین ماه اول و دوم مشاهده نشد ( $p=0/82$ ). ولی اندازه فولیکول ها در ماه سوم به صورت معنی داری با ماه دوم متفاوت بود ( $p=0/01$ ).

روند تغییرات در دو گروه مشابه بود ولی میانگین اندازه فولیکول در ماه اول، دوم و سوم در گروه مداخله بیشتر از گروه شاهد بود ( $p<0/05$ ). تفاوت معنی دار آماری

## بحث

بر اساس نتایج این مطالعه، دو گروه مورد مطالعه از نظر خصوصیات اولیه نظیر شغل، سواد و نوع نازایی همسان بودند که این نشان می دهد تخصیص تصادفی به صورت مناسب صورت گرفته است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اضافه کردن روزانه ۴۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰۰ میلی گرم کلسیم به درمان معمول با کلومیفن می تواند باعث افزایش اندازه فولیکول ها شود. هر چند این تأثیر از همان ماه اول مشاهده می شود ولی در ماه دوم بیشتر می شود. با توجه به اینکه پیامد بارداری در دو گروه مشابه بود لذا می توان نتیجه گرفت که افزایش اندازه فولیکول ها به این مقدار، تأثیر بیشتری نسبت به مصرف کلومیفن به تنهایی در باردار شدن افراد ندارد زیرا کلومیفن به تنهایی نیز می تواند اندازه فولیکول ها را به حدی که برای باروری مورد نیاز است، برساند. البته ممکن است بزرگ بودن اندازه فولیکول ها باعث افزایش آمادگی آنها برای پذیرش اسپرم شود. به هر حال لازم است مطالعات دیگر با حجم نمونه بیشتر در این زمینه انجام شود. مطالعه تیس- جاکوب و همکاران (۱۹۹۹) که بر روی بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک انجام شد، کمبود ویتامین D در این بیماران مشاهده شد (۱۱). هر چند داروهای دیگری نیز بر بهبود اندازه فولیکول ها و دیگر شاخص های درمانی در سندرم تخمدان پلی کیستیک مؤثر هستند (۱، ۱۰، ۱۳-۱۸) ولی به نظر می رسد که استفاده از ویتامین D و کلسیم در این موارد بتواند کمک زیادی به این بیماران بکند و به عنوان داروی کمکی مفید باشد. زیرا کمبود ویتامین D در اکثر زنان ایرانی وجود دارد و تجویز کلسیم و ویتامین D روزانه در درمان زنان نابارور می تواند کمک کننده باشد (۱۹). لذا درمان با کلومیفن که یک القا کننده تخمک با کارایی بالا می باشد، همراه با تجویز کلسیم و ویتامین D می تواند تأثیر مناسبی مخصوصاً در افراد مقاوم به کلومیفن داشته باشد (۲۱).

نتایج سایر مطالعات نیز به نفع استفاده از این مکمل ها می باشد (۱۲). مقاومت به انسولین و هیپرانسولینمی در افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک یکی از دلایل عدم تخمک گذاری است (۲۰، ۲۱) و نقش

کلسیم و ویتامین D در اصلاح اختلال ترشح انسولین و تکامل اووسیت در پستانداران ممکن است کمک فراوانی در بهبود این بیماران داشته باشد. مطالعه راکوواسکی و همکاران (۱۹۸۶) نشان داد که تخمک متوقف شده در مرحله میوز با افزایش آدنوزین مونوفسفات حلقوی<sup>۱</sup> یا کاهش داخل سلولی کلسیم همراه است و اضافه کردن کلسیم به محیط کشت باعث بهبود رشد می شود (۲۲). مطالعات دیگری نیز به نقش کلسیم در بلوغ تخمک حیوانات اشاره کرده اند (۱۱، ۲۳-۲۵). مطالعه رشیدی و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که درمان با کلسیم و ویتامین D تأثیر بیشتری بر افزایش اندازه فولیکول نسبت به درمان با متفورمین دارد (۱۹). در صورتی که فرد دچار چاقی نیز باشد، ممکن است تجویز ویتامین D آثار بهتری نیز داشته باشد زیرا در مطالعه یلدیجان و همکاران مشخص شد که میانگین سطح سرمی ۲۵ هیدروکسی ویتامین D در افراد چاق مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک، به مقدار ۵۶/۳ درصد کمتر از میانگین آن در افراد با وزن طبیعی مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک است (۲۶).

در این مطالعه در ۴۰/۹ درصد از افراد گروه دریافت کننده کلسیم و ویتامین D وقوع بارداری اتفاق افتاد که این مقدار در گروه شاهد ۳۱/۸ درصد بود. اگر چه پیامد بارداری در دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی داری آماری نداشت، اما توصیه می شود مطالعات دیگر با حجم نمونه بالاتر نیز انجام شود.

یکی از محدودیت های مطالعه حاضر، عدم سنجش اندازه فولیکول قبل از مداخله بود و متأسفانه اطلاعات سونوگرافی پایه بیماران ثبت نشده بود ولی با توجه به اینکه تخصیص تصادفی صورت گرفت، می توان گفت که این دو گروه از نظر اندازه اولیه فولیکول ها نیز مشابه بوده اند. لذا با توجه به نتایج مطالعه پیشنهاد می شود بررسی های بیشتری با حجم نمونه بالاتر و سنجش های اولیه بیشتر صورت گیرد. همچنین اثرات کلسیم و ویتامین D بر شاخص های هورمونی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

<sup>1</sup> cAMP

## نتیجه گیری

اضافه کردن روزانه ۴۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰۰ میلی گرم کلسیم به درمان معمول با کلومیفن می تواند باعث افزایش اندازه فولیکول ها شود که این تأثیر پس از سیکل دوم قاعدگی بعد از درمان بیشتر است.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مدیریت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان و همچنین از همکاران محترمی که در مراحل مختلف این مطالعه ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می شود.

## منابع

1. Badawy A, Elnashar A. Treatment options for polycystic ovary syndrome. *Int J Womens Health* 2011 Feb 8;3:25-35.
2. Cheang KI, Huszar JM, Best AM, Sharma S, Essah PA, Nestler JE. Long-term effect of metformin on metabolic parameters in the polycystic ovary syndrome. *Diab Vasc Dis Res* 2009 Apr;6(2):110-9.
3. Radosh L. Drug treatments for polycystic ovary syndrome. *Am Fam Physician* 2009 Apr 15;79(8):671-6.
4. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005 Mar 24;352(12):1223-36. Review.
5. Prapas N, Karkanaki A, Prapas I, Kalogiannidis I, Katsikis I, Panidis D. Genetics of polycystic ovary syndrome. *Hippokratia* 2009 Oct;13(4):216-23.
6. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M et al. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 Jan;85(1):139-46.
7. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol* 2011 Apr;7(4):219-31.
8. Giallauria F, Palomba S, Vigorito C, Tafuri MG, Colao A, Lombardi G et al. Androgens in polycystic ovary syndrome: the role of exercise and diet. *Semin Reprod Med* 2009 Jul;27(4):306-15.
9. Overbeek A, Lambalk N. Pharmacogenomics of ovulation induction: facilitating decisions on who, when and how to treat. *Pharmacogenomics* 2009 Sep;10(9):1377-9.
10. Balen AH, Rutherford AJ. Managing anovulatory infertility and polycystic ovary syndrome. *BMJ* 2007 Sep 29;335(7621):663-6.
11. Thys-Jacobs S, Donovan D, Papadopoulos A, Sarrel P, Bilezikian JP. Vitamin D and calcium dysregulation in the polycystic ovarian syndrome. *Steroids* 1999 Jun;64(6):430-5.
12. Kotsa K, Yavropoulou MP, Anastasiou O, Yovos JG. Role of vitamin D treatment in glucose metabolism in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2009 Sep;92(3):1053-8.
13. Palomba S, Orio F Jr, Falbo A, Manguso F, Russo T, Cascella T et al. Prospective parallel randomized, double-blind, double-dummy controlled clinical trial comparing clomiphene citrate and metformin as the first-line treatment for ovulation induction in nonobese anovulatory women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 Jul;90(7):4068-74.
14. Siebert TI, Kruger TF, Lombard C. Evaluating the equivalence of clomiphene citrate with and without metformin in ovulation induction in PCOS patients. *J Assist Reprod Genet* 2009 Apr;26(4):165-71.
15. Horng SG, Wang TH, Wang HS. Estradiol-to-testosterone ratio is associated with response to metformin treatment in women with clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome (PCOS). *Chang Gung Med J* 2008 Sep-Oct;31(5):477-83.
16. Nazari T, Bayat R, Samiei H. Effect of Metformin on single girl with polycystic ovarian syndrome. *J Reprod Infertil* 2005 Apr-Jun;6(2):177-86.
17. Seifi F, Mehdizadeh A, Alavi S. [Comparison of efficacy of letrozole and clomiphene citrate in the treatment of infertility induced by ovulation disorder in patients with polycystic ovarian syndrome] [Article in Persian. *J Islam Azad Uni Med Sci* 2010;20(2):108-12.
18. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, Carr BR, Diamond MP, Carson SA et al. Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2007 Feb 8;356(6):551-66.
19. Rashidi B, Haghollahi F, Tehranian N, Shariat M, Zayerii F, Bagheri M et al. Therapeutic effects of vitamin D and calcium in patients with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Infertil* 2006;7(3):225-33.
20. Fica S, Albu A, Constantin M, Dobri GA. Insulin resistance and fertility in polycystic ovary syndrome. *J Med Life* 2008 Oct-Dec;1(4):415-22.
21. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol* 2011 Apr;7(4):219-31.

22. Racowsky C. The releasing action of calcium upon cyclic AMP-dependent meiotic arrest in hamster oocytes. *J Exp Zool* 1986 Aug;239(2):263-75.
23. Homa ST, Carroll J, Swann K. The role of calcium in mammalian oocyte maturation and egg activation. *Hum Reprod* 1993 Aug;8(8):1274-81. Review.
24. Toth S, Huneau D, Banrezes B, Ozil JP. Egg activation is the result of calcium signal summation in the mouse. *Reproduction* 2006 Jan;131(1):27-34.
25. Halloran BP, DeLuca HF. Vitamin D deficiency and reproduction in rats. *Science* 1979 Apr 6;204(4388):73-4.
26. 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 Oct;280(4):559-63.