

تواتر التعدد الشكلي *BsmI* في جين *VDR* لدى جمهرة من سوريات أصحاء ومريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات

Frequency of *BsmI* polymorphism in the *VDR* gene in a Population of healthy and Patients Syrian women with polycystic ovary syndrome

آيه لؤي اسماعيل¹، مروان جميل الحلبي²، شادن عزت حداد³

Aya Loay Ismail¹, Marwan Jamil Alhalabi², and Shaden Ezzat Haddad³

¹العلوم الطبية الحيوية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، دمشق، سورية

²قسم التشريح والنسج والجنين، كلية الطب البشري، جامعة دمشق، دمشق، سورية

³قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، دمشق، سورية

¹ Biomedical Sciences, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria

² Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Damascus University, Damascus, Syria

³ Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria

المخلص Abstract:

خلفية البحث وهدفه: إن متلازمة المبيض متعدد الكيسات مرض مزمن معقد ومتعدد العوامل، وتترافق مع مجموعة من الأعراض، منها: العقم وحب الشباب وانقطاع الحيض والشعرانية ووجود الكيسات على المبيض. توسعت الدراسات حول العوامل المسببة للمتلازمة كونها متعددة وبسبب تأثيرها الكبير على نوعية حياة المريضة وقدرتها على الإنجاب، ويُعتقد أن الأهمية للإصابة بالمتلازمة ترتبط جزئياً بالاستعداد الجيني، وقد تم تحديد عدد واسع من الجينات المرتبطة بالهرمونات الجنسية واستقلابها، إضافة إلى مستقبل فيتامين D نظراً لتوسطه أفعال فيتامين D الحيوية الهامة في الجهاز التناسلي الأنثوي.

مواد البحث وطرائقه: هدفت دراستنا للتقصي عن تواتر التعدد الشكلي *BsmI* في جين مستقبل الفيتامين D لدى عينة من مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات بالمقارنة مع مجموعة شاهدة، حيث شملت العينة 50 مريضة، و 53 سيدة سليمة كشاهد، واعتمدت طريقة تحديد التعدد الشكلي لأطوال شدة التقييد RFLP حيث تم عزل DNA من الدم المحيطي بطريقة يدوية معتمدة على اليوريا، وإجراء تفاعل البوليمراز التسلسلي PCR لتضخيم الشدة المطلوبة وهضم الناتج بإنزيم القطع *BsmI*.

النتائج: توزعت الأنماط الجينية كالتالي: 35 (70%) من مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات من النمط الجيني Bb مقابل 26 (49%) أنثى سليمة، 10 (20%) مريضات من النمط BB مقابل 18 (34%) أنثى سليمة، 5 (10%) مريضات من النمط الجيني bb مقابل 10 (17%) أنثى سليمة.

المخلص: أظهرت دراستنا عدم وجود فارق يُعتمد به إحصائياً بين مجموعتي الدراسة من حيث توزيع الأنماط الجينية والأليلات في الموقع *BsmI* من جين *VDR* لدى جمهرة من سوريات أصحاء ومريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات، وقد اتفقت في ذلك مع بعض الدراسات واختلفت مع أخرى هذا ما يُعزى لاختلاف حجم العينة والإثنيات المدروسة.

Background & Objective: Polycystic Ovary Syndrome is a complex, multifactorial chronic disease, associated with a range of symptoms, including infertility, acne, amenorrhea, hirsutism, and ovarian cysts. Studies have expanded on the causative factors of the syndrome because they

have a significant impact on the patient's quality of life and ability to reproduce. It is believed that the predisposition to the syndrome is partly linked to genetic predisposition. A large number of genes related to sex hormones and their metabolism have been identified, in addition to the vitamin D receptor, due to its mediation of the important vital actions of vitamin D in the female reproductive system.

Materials and Methods: Our study aimed to investigate the frequency of *BsmI* polymorphism in the vitamin D receptor gene in a sample of polycystic ovary syndrome patients compared with a control group. The sample included 50 patients and 53 healthy women as controls. We used the Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) method, where DNA was isolated from peripheral blood by a manual method based on urea, and the polymerase chain reaction (PCR) was performed to amplify the desired fragment and digest the product with the restriction enzyme *BsmI*.

Results: The genotypes were distributed as follows: 35 (70%) of PCOS patients were of the Bb genotype vs 26 (49%) healthy females, 10 (20%) patients were of the BB genotype vs 18 (34%) healthy females, 5 (10%) patients were of the bb genotype vs 10 (17%) healthy females.

Conclusion: Our study showed no statistically significant difference between the two study groups in the distribution of genotypes and alleles at the *BsmI* sites of the *VDR* gene in a population of healthy and patients Syrian women with polycystic ovary syndrome, and it agreed with some studies and differed with others. This is attributed to the difference in sample size and the ethnicities studied.

الكلمات المفتاح :Key words

مستقبل فيتامين D ، متلازمة المبيض متعدد الكيسات، التعدد الشكلي وحيد النكليوتيد، تفاعل البوليميراز التسلسلي

Vitamin D Receptor (VDR), Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), Polymerase Chain Reaction (PCR), Restriction fragment length polymorphism (RFLP), *BsmI*.

المقدمة Introduction

تعدّ متلازمة المبيض متعدد الكيسات الإضطراب الغديّ الصماويّ Endocrine Disorder الأكثر شيوعاً عند النساء في سن الإنجاب، يصيب النساء من عمر 18 حتى 44 عاماً، وبمعدل انتشار يصل إلى 10-15% اعتماداً على معايير التشخيص المتبعة والمجموعة السكانية المدروسة في المناطق الجغرافية المختلفة^(1,2)، وفي دراسة أجريت مؤخراً في سوريا تبين أن معدل انتشار المتلازمة يبلغ 27.4%⁽³⁾.

تتصف المتلازمة بأنها مرض معقدّ Complex ومتعدد العوامل Multifactorial، تتداخل فيها العوامل المسببة الصماوية والجينية والبيئية^(4,5)، وإن انتشار المتلازمة بشكل واضح لدى الأقارب من الدرجة الأولى بنسبة تقارب 55-60% في العائلات الصغيرة يدعم فرضية الوراثة الجسدية السائدة لهذه المتلازمة Autosomal Dominant Inheritance⁽⁵⁾.

يتم تشخيص المتلازمة وفقاً لمعايير روتردام المعدلة بوجود معلمين من أصل ثلاثة: قلة أو انعدام الإباضة Oligo-anovulation، فرط الأندروجين Hyperandrogenism، مبيض متعدد الكيسات Polycystic Ovaries (وجود 20 جريب أو أكثر بقطر 2-9 ملم أو أكثر في كل مبيض و/أو وجود مبيض بحجم يتجاوز 10 مل)⁽⁶⁾.

توسّعت الدراسات المتعلقة بالعوامل المسببة المحتملة للإصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات لتشمل مجموعة واسعة من الجينات المرتبطة بالمرض، وقد لوحظ اختلاف الأساس الجيني للمتلازمة بين العائلات وداخلها لكنّه يرتبط بمسارٍ مشتركٍ، ومنها: الجينات المرتبطة باضطراب الأندروجين في المبيضين والكظر (CYP11a، CYP21، CYP17) وجين مستقبل الأندروجين Androgen Receptor (AR) والجينات المشاركة في عمل وتنظيم الغدد التناسلية (FSHR، LH).

المبيض أو الكظر أو فرط تنسج كظري خلقي، والحوامل، واللواتي يتناولن الأدوية المؤثرة على توازن الكالسيوم مثل الكورتيكوستيروئيدات، وكذلك متممات فيتامين D والأدوية التي تتداخل مع مستويات الهرمونات مثل مانعات الحمل الفموية أو مضادات الأندروجين.

المجموعة الشاهدة: سيدات ذوات دورات شهرية منتظمة، مشعر كتلة الجسم ضمن المجال الطبيعي، مع مستويات طبيعية من الأندروجين وليس لديهم أي تاريخ عائلي للشعرانية، ومتطابقة مع المجموعة المرضية من حيث الفئة العمرية (18-44 سنة). حصلت هذه الدراسة على موافقة لجنة أخلاقيات البحث العلمي في جامعة دمشق بتاريخ 2023/10/24، وبرقم 5675.

تم جمع العينات الدموية للأصحاء والمرضى في الفترة الواقعة بين شهر أيلول من عام 2023 حتى شهر أيار من عام 2024 إذ بُزل 3 مل دم من كل مشارك على أنبوب يحوي مانع تخثر EDTA، ومن ثم استخلص DNA بطريقة يدوية ناجحة معتمدة على اليوريا نظراً لخواصها الممسخة للبروتين والمثبطة لإنزيم DNase، وكانت العينات ذات تركيز ونقاوة جيدين.

تم إجراء تفاعل Polymerase Chain Reaction (PCR) باستخدام المشاريع ذات التسلسل (16,17):

For 5'-CAACCAAGACTACAAGTACCGCGTCAGTGA-3'
Rev 5'-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3'

والتي تعطي شذفة بطول 2000bp تحوي موقع القطع لإنزيم BsmI باستخدام البرنامج الحراري التالي:

الجدول (1): البرنامج الحراري لتفاعل الـ PCR

Step	Temperature (°C)	Time	Cycle number
Initial denaturation	94.5	3min	1
Denaturation	94.5	1min	35
Annealing	61	1min	
Elongation	72	1min	
Final elongation	72	7min	1

أظهرت النواتج بالترجيل على هلامه آغاروز 1.5%.

والجينات المسؤولة عن إنتاج وعمل الأنسولين وجين مستقبل فيتامين D (5,7,8).

يتم تنظيم ما يقارب 3% من الجينوم بشكل مباشر أو غير مباشر بواسطة فيتامين D ومستقبله، مما يشير إلى الأدوار الهامة والواسعة لهما في الصحة والمرض⁽⁹⁾، وقد عُثر على مستقبل فيتامين D في كل من المبيض والرحم وقناة فالوب والمهبل والمشيمة لدى البشر والحيوانات، هذا ما يؤكد على الدور المباشر لفيتامين D في هذه الأعضاء حيث تشير الدراسات إلى أن فيتامين D يلعب دوراً هاماً في تنظيم العمليات المبيضية التي تحدّد خصوبة الأنثى، كما يملك فيتامين D تأثيراً تحفيزياً على إنتاج الإستراديول والإسترون والتعبير عن الأروماتاز CYP19A1 الذي يحوّل الأندروجين إلى إستروجين، وتزايدت مؤخراً الدراسات التي تشير إلى وجود علاقة بين انخفاض مستوى فيتامين D مع نقص الخصوبة والاضطرابات الاستقلابية والصماوية ومتلازمة المبيض متعدد الكيسات^(10,11,12).

يمارس فيتامين D وظائفه الحيوية في الجسم من خلال ارتباطه بألفة عالية مع مستقبله النووي VDR. تؤثر التعدادات الشكلية في جين VDR بوظيفته وترتبط مع العديد من الأمراض ولاسيما المتعلقة بنقص فيتامين D. يتوضع التعدد الشكلي BsmI G>A (rs1544410) في الإنترون الثامن قرب المنطقة 3' غير المترجمة untranslanted region (3'UTR) ويؤثر هذا التعدد الشكلي في ثباتية واستقرار mRNA المنتسخ⁽¹³⁾، كما يمكن أن يؤثر هذا التعدد الشكلي في مستوى التعبير الجيني عن VDR مما يؤثر على الوظائف الحيوية الهامة لفيتامين D من خلال مستقبله^(14,15).

المواد والطرائق Materials and Methods

تم تصميم الدراسة بنمط حالة شاهد Case-Control شملت 50 مريضة مشخصة بـ PCOS و 53 سيدة سليمة كشاهد، وكانت معايير التضمن Inclusion Criteria للمجموعة المرضية: مريضات مشخصات بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات، أما معايير الاستبعاد Exclusion Criteria: المريضات اللواتي لديهن أسباب أخرى لفرط أندروجين الدم مثل فرط برولاكتين الدم والأورام المفرزة للأندروجين ومتلازمة كوشينغ، أو اللواتي لديهن أمراض أخرى كالسكري أو سرطان

النتائج Results

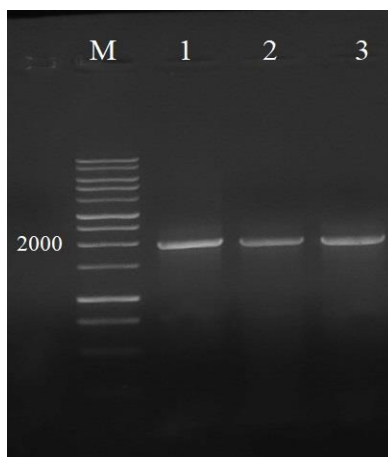
ينتج عن تفاعل PCR شذفة من DNA بطول 2000bp (الشكل 1).

عند الهضم بإنزيم القطع تظهر الأنماط الجينية بعد الرحلان بالشكل التالي: حالة تماثل الزيغوت Homozygotic بغياب موقع القطع تظهر عصا واحدة بطول 2000bp (النمط الجيني BB)، حالة تماثل الزيغوت Homozygotic بوجود موقع القطع تظهر عصابتين بطول 650bp و 1350bp (النمط الجيني bb)، حالة تغاير الزيغوت Heterozygotic تظهر ثلاث عصابات (2000, 1350, 650) (النمط الجيني Bb) (الشكل 2).

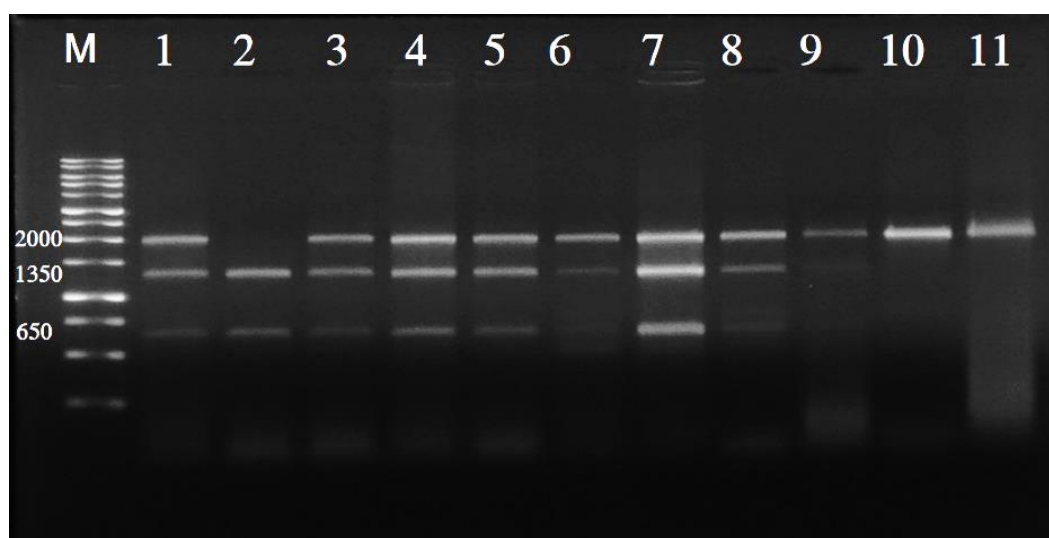
الهضم بإنزيم القطع: استُخدم الإنزيم من شركة NewEngland Biolabs ويعمل هذا الإنزيم بدرجة حرارة 65° ويفقد فعاليته بالحضن في 80° لمدة 20 دقيقة، وأظهرت نواتج القطع بالترجيل على هلامه آغاروز 1%.

تم إجراء التحليل الإحصائي للأنماط الجينية باستخدام برنامج GraphPad Prism (version 8.0.1).

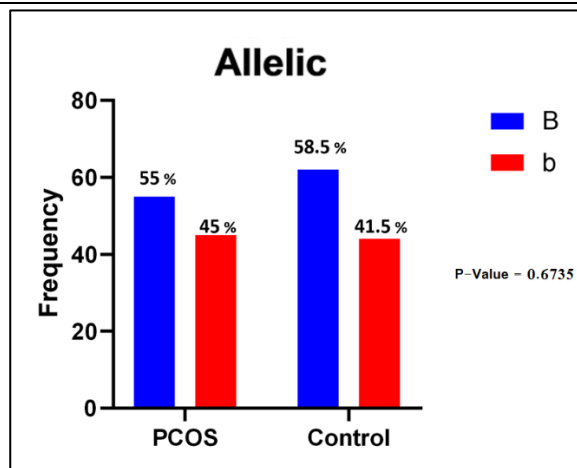
تم مقارنة توزع الأنماط الجينية والألائل بين مجموعتي الدراسة باستخدام اختبار Chi-square لمعرفة فيما إذا كانت الفروقات الملحوظة يُعتد بها إحصائياً ($P\text{-value} < 0.05$)، أو أن هذه الفروقات ناتجة عن المصادفة ($P\text{-value} > 0.05$).



الشكل (1): ناتج تفاعل PCR على هلامه الآغاروز للشذفة 2000bp في جين *VDR*. يمثل البئر M سلم قياس DNA وتمثل الآبار (1,2,3) ناتج تفاعل PCR على هلامه آغاروز 1.5%.



الشكل (2): ناتج الهضم بإنزيم *BsmI* للشذفة 2000bp في جين *VDR*. يمثل البئر M سلم قياس DNA وتمثل الآبار 1,3,4,5,6,7,8,9 النمط الجيني Bb والآبار 10,11 النمط BB في حين يمثل البئر 2 النمط bb.



الشكل (4): مقارنة توزيع الألائل للتعدد الشكلي *BsmI* في جين *VDR* بين مجموعة المريضات ومجموعة الشواهد

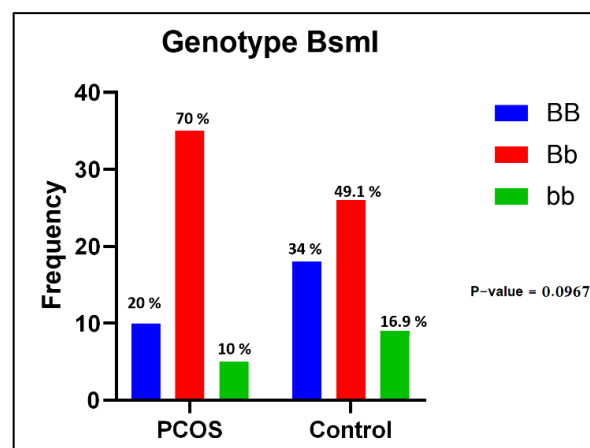
المناقشة Discussion

متلازمة المبيض متعدد الكيسات متلازمة معقدة متعددة العوامل المسببة والتي تؤثر على نوعية حياة المريضة، ولها عدد من المضاعفات النفسية والهرمونية، ولم تحدد الدراسات العوامل المسببة بدقة بل تنوعت بين عوامل هرمونية وبيئية وجينية، ومن جهة أخرى تناولت العديد من الدراسات في سورية التعديلات الشكلية وحيدة النكليوتيد وعلاقتها مع العديد من الأمراض ومع مستويات فيتامين D لدى الأصحاء.

لوحظ وجود اختلاف في توزيع الأنماط الجينية ولاسيما Bb حيث كان أعلى عند المجموعة المرضية ولكن لم يكن هذا الفارق معتد به إحصائياً حيث كانت قيمة $p > 0.05$. وقد توافقت نتائجنا مع دراسة كل من Bagheri وزملاؤه في تركيا و Song وزملاؤه في كوريا و Ramezani وزملاؤه و Mahmoudi وزملاؤه في إيران^(18,19,20,21)، واختلفنا مع Shi وزملاؤه في الصين⁽²²⁾ الذين وجدوا ارتباطاً بين التعدد الشكلي *BsmI* والأهبة للإصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات، وكذلك Xavier وزملاؤه في البرازيل الذين وجدوا أن النمط الجيني Bb مرتبط مع متلازمة المبيض متعدد الكيسات⁽²³⁾.

يمكن أن تعزى تلك الفروقات إلى الاختلافات البيئية والعرقية بين المجتمعات المدروسة حيث أنه يمكن أن تتفاعل التعديلات الشكلية مع العوامل البيئية وتؤثر على قابلية الإصابة ولاسيما أن PCOS متلازمة متعددة العوامل، وبالتالي يمكن أن يكون لعدة جينات تأثير على الاستعداد للإصابة بالمتلازمة بحيث يكون لكل جين تأثيرات أصغر، كما أن عدد ونمط الجينات

حيث توزعت الأنماط الجينية كالتالي: 35 من مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات (70%) متغايري الزيجوت، 10 مريضات (20%) متماثلي الزيجوت بالنسبة للأليل B و 5 مريضات (10%) متماثلي الزيجوت بالنسبة للأليل b. في حين كانت 26 أنثى سليمة (49%) متغايري الزيجوت، 18 أنثى سليمة (34%) متماثلي الزيجوت بالنسبة للأليل B، و 10 أنثى سليمة (17%) متماثلي الزيجوت بالنسبة للأليل b، و عند تطبيق اختبار كاي مربع بين المجموعتين المدروستين لم يكن الفارق معتد به إحصائياً بين المجموعة المرضية والمجموعة الشاهدة حيث كانت قيمة P value تساوي 0.0967.



الشكل (3): مقارنة توزيع الأنماط الجينية للتعدد الشكلي *BsmI* في جين *VDR* بين مجموعة المريضات ومجموعة الشواهد

توزعت الألائل بين مجموعات الدراسة كالتالي: 55 (55%) أليلاً من النمط B و 62 (45%) أليلاً من النمط b عند مجموعة المريضات مقابل 62 (58%) أليلاً من النمط B و 44 (42%) أليلاً من النمط b لدى المجموعة الشاهدة. عند تطبيق اختبار كاي مربع بين المجموعتين المدروستين لم يكن الفارق معتد به إحصائياً بين المجموعة المرضية والمجموعة الشاهدة حيث كانت P value تساوي 0.6735.

Funding التمويل

تم تمويل هذا البحث من قِبل جامعة دمشق.

Authors' contributions مساهمات المؤلفين

آيه اسماعيل: الباحث الأساسي، القيام بالجزء العملي من البحث والكتابة النظرية للأطروحة والمقالة.
مروان الحلبي: المشرف المشارك، الإشراف الأساسي على جمع العينات والإشراف على الجانب السريري المتعلق بالمريضات.
شادن حداد: المشرف الأساسي في البحث، الإشراف على جميع تفاصيل البحث من تصميم خطة البحث والتوجيهات في الجانب العملي وتدقيق الكتابة النظرية.

References المراجع

- 1- Morgante, G., Darino, I., Spanò, A., Luisi, S., Luddi, A., Piomboni, P., Governini, L., & De Leo, V. (2022). PCOS Physiopathology and Vitamin D Deficiency: Biological Insights and Perspectives for Treatment. In *Journal of Clinical Medicine* (Vol. 11, Issue 15). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jcm11154509>
- 2- Kainth, R., Kaur, G., Amar, B. K., Baba, S., Singh, A., & Singh, J. (n.d.). *POLYCYSTIC OVARY SYNDROME (PCOS)-A REVIEW*. www.wjpls.org
- 3- Bohsas, H., Alibrahim, H., Swed, S., Abouainain, Y., Aljabali, A., Kazan, L., Jabban, Y. K. E., Mehmood, Q., Sawaf, B., Eissa, N., Alkasem, M., Edrees, Y., Cherrez-Ojeda, I., Fathey, S., Rashid, G., Hafez, W., AbdElrahim, E., Osman, H., Emran, T. Bin, ... Khandaker, M. U. (2024). Prevalence and knowledge of polycystic ovary syndrome (PCOS) and health-related practices among women of Syria: a cross-sectional study. *Journal of Psychosomatic Obstetrics and Gynecology*, 45(1). <https://doi.org/10.1080/0167482X.2024.2318194>
- 4- Che, Y., Yu, J., Li, Y. S., Zhu, Y. C., & Tao, T. (2023). Polycystic Ovary Syndrome: Challenges and Possible Solutions. *Journal of Clinical Medicine*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/jcm12041500>
- 5- Khan, M. J., Ullah, A., & Basit, S. (2019). Genetic basis of polycystic ovary syndrome

الوظيفية قد يختلف في المجموعات العرقية المختلفة، إضافة إلى اختلاف حجم العينة المدروسة حيث أن عدد أفراد العينة له دور مهم في الدراسات التي تبحث في علاقة الارتباط بين التعدادات الشكلية وأمراض معينة، وتكون النتائج أكثر موثوقية مع الحجم الكبير للعينة، وهذا يعد أحد محدوديات هذه الدراسة.

Conclusions الاستنتاجات

تعد دراستنا الأولى في سورية في تحري تواتر التعدد الشكلي *BsmI* لدى مريضات PCOS وأظهرت الدراسة عدم وجود فروق إحصائية في نسب انتشار الأنماط الجينية والألائل للتعدد الشكلي *BsmI* بين مجموعتي الدراسة، وعدم وجود علاقة بين التعدد الشكلي *BsmI* في جين *VDR* والأهبة للإصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات لدى النساء السوريات بالمقارنة مع مجموعة سليمة شاهدة.

List of abbreviations قائمة الاختصارات

الاختصار	المقابل
3'UTR	3' untranslated region
AR	Androgen Receptor
FSHR	Follicle-stimulating hormone receptor
LH	Luteinizing hormone
mRNA	messenger ribonucleic acid
PCOS	Polycystic ovary syndrome
PCR	Polymerase chain reaction
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
VDR	Vitamin D receptor

Ethics الموافقة الأخلاقية والموافقة على المشاركة

approval and consent to participate

حصلت هذه الدراسة على موافقة لجنة أخلاقيات البحث العلمي في جامعة دمشق بتاريخ 2023/10/24، وبرقم 5675.

Conflict of interests تضارب المصالح

يقر المؤلفون بعدم وجود مصالح متضاربة.

- Ernährungsforschung. Journal International de Vitaminologie et de Nutrition*, 92(2), 126–133. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/A000691>
- 13- Voltan, G., Cannito, M., Ferrarese, M., Ceccato, F., & Camozzi, V. (2023). Vitamin D: An Overview of Gene Regulation, Ranging from Metabolism to Genomic Effects. *Genes* 2023, Vol. 14, Page 1691, 14(9), 1691. <https://doi.org/10.3390/GENES14091691>
 - 14- Mohammadifard, N., Sadeghian, L., Hassannejad, R., Khosravi, E., Gharipour, M., Karimi, S., Hosseini, S., Sepahifar, M., Bahrami, G., Haghighatdoost, F., & Sarrafzadegan, N. (2024). Comparing vitamin D receptor gene polymorphisms in rs11568820, rs7970314, rs4334089 between COVID-19 patients with mild and severe symptoms: a case control study. *Scientific Reports* 2024 14:1, 14(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-57424-0>
 - 15- Ruiz-Ballesteros, A. I., Meza-Meza, M. R., Vizmanos-Lamotte, B., Parra-Rojas, I., & de la Cruz-Mosso, U. (2020). Association of vitamin D metabolism gene polymorphisms with autoimmunity: Evidence in population genetic studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 1–24. <https://doi.org/10.3390/ijms21249626>
 - 16- HADDAD, S. (2014). Vitamin-D receptor (VDR) gene polymorphisms (Taq-I & Apa-I) in Syrian healthy population. *Meta Gene*, 2, 646–650. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.08.005>
 - 17- Douroudis, K., Tarassi, K., Ioannidis, G., Giannakopoulos, F., Moutsatsou, P., Thalassinou, N., & Papasteriades, C. (2003). Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women of Hellenic origin. *Maturitas*, 45(3), 191–197. [https://doi.org/10.1016/S0378-5122\(03\)00148-8](https://doi.org/10.1016/S0378-5122(03)00148-8)
 - (PCOS): Current perspectives. In *Application of Clinical Genetics* (Vol. 12, pp. 249–260). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/TACG.S200341>
 - 6- Teede, H. J., Tay, C. T., Laven, J. J. E., Dokras, A., Moran, L. J., Piltonen, T. T., Costello, M. F., Boivin, J., Redman, L. M., Boyle, J. A., Norman, R. J., Mousa, A., Joham, A. E., Arlt, W., Azziz, R., Balen, A., Bedson, L., Berry, L., Boivin, J., ... Tan, K. (2023). Recommendations From the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 108(10), 2447–2469. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgad463>
 - 7- Kosova, G., & Urbanek, M. (2013). Genetics of the polycystic ovary syndrome. In *Molecular and Cellular Endocrinology* (Vol. 373, Issues 1–2, pp. 29–38). <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.10.009>
 - 8- Song, D. K., Lee, H., Hong, Y. S., & Sung, Y. A. (2019). Vitamin D receptor and binding protein polymorphisms in women with polycystic ovary syndrome: A case control study. *BMC Endocrine Disorders*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12902-019-0477-x>
 - 9- Zhang, Y., Wu, S., & Sun, J. (2013). Vitamin D, vitamin D receptor and tissue barriers. *Tissue Barriers*, 1(1), e23118. <https://doi.org/10.4161/tisb.23118>
 - 10- Khalifa, A. A., Reham, H., Elazony, M., Musa, A.-K., & Elsayed, S. (n.d.). The Role Of Vitamin D In Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 13. <https://doi.org/10.47750/pnr.202>
 - 11- Grzesiak, M. (2020). Vitamin D3 action within the ovary-an updated review. *Physiological Research*, 69, 371–378. <https://doi.org/10.33549/PHYSIOLRES.934266>
 - 12- Menichini, D., Forte, G., Orrù, B., Gullo, G., Unfer, V., & Facchinetti, F. (2022). The role of vitamin D in metabolic and reproductive disturbances of polycystic ovary syndrome: A narrative mini-review. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Internationale Zeitschrift Fur Vitamin- Und*

- 18- Bagheri, M., Rad, I. A., Nima, ;, Jazani, H., Nanbakhsh, F., & Associate, ; (2012). 48), 4(8.696), 64(69.57) and 28(30.43) in cases and 29. In *Maedica A Journal of Clinical Medicine* (Vol. 7, Issue 4).
- 19- Mahmoudi, T. (2009). Genetic variation in the vitamin D receptor and polycystic ovary syndrome risk. *Fertility and Sterility*, 92(4), 1381–1383.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.05.002>
- 20- Ramezani, N., Ostadsharif, M., & Nayeri, H. (2020). Association of *BsmI* variant of vitamin d receptor gene with polycystic ovary syndrome: A case-control study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 18(10), 877–884.
<https://doi.org/10.18502/ijrm.v13i10.7772>
- 21- Song, D. K., Lee, H., Hong, Y. S., & Sung, Y. A. (2019). Vitamin D receptor and binding protein polymorphisms in women with polycystic ovary syndrome: A case control study. *BMC Endocrine Disorders*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12902-019-0477-x>
- 22- Shi, X. Y., Huang, A. P., Xie, D. W., & Yu, X. L. (2019). Association of vitamin D receptor gene variants with polycystic ovary syndrome: A meta-analysis. *BMC Medical Genetics*, 20(1).
<https://doi.org/10.1186/s12881-019-0763-5>
- 23- Xavier, L. B., Gontijo, N. A., Rodrigues, K. F., Cândido, A. L., dos Reis, F. M., de Sousa, M. C. R., Silveira, J. N., Oliveira Silva, I. de F., Ferreira, C. N., & Gomes, K. B. (2019). Polymorphisms in vitamin D receptor gene, but not vitamin D levels, are associated with polycystic ovary syndrome in Brazilian women. *Gynecological Endocrinology*, 35(2), 146–149.
<https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1512966>