

# Uloga vitamina D u postupcima pomognute oplodnje

---

**Klanac, Petra**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:455935>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-25**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Petra Klanac

**Uloga vitamina D u postupcima pomognute oplodnje**

Diplomski rad



Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za ginekologiju i opstetriciju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu; Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju Klinike za ženske bolesti KBC-a Zagreb, pod vodstvom prof.dr.sc. Marine Šprem Goldštajn i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

## Popis kratica

ART	postupci potpomognute oplodnje (eng - <b>A</b> ssisted <b>R</b> eproductive <b>T</b> echnology)
IVF	In vitro fertilizacija
ICSI	intracitoplazmatska injekcija spermija (eng. <b>I</b> ntra <b>C</b> ytoplasmic <b>S</b> perm <b>I</b> njection)
VDR	vitamin D receptor
LH	luteinizirajući hormon
FSH	folikulostimulirajući hormon
AMH	Anti-Müllerov hormon
AMHR-II	Anti-Müllerovog hormon receptor II
mRNK	glasnička ribonukleinska kiselina (eng. <b>M</b> essenger <b>R</b> ibo <b>N</b> ucleic acid)
IL-6	interleukin 6
IL-8	interleukin 8
IL-10	interleukin 10
TGF- $\beta$	transformirajući faktor rasta - beta (eng. <b>T</b> ransforming <b>G</b> rowth <b>F</b> actor - beta)
IFN- $\gamma$	interferon gama
$\beta$ HCG	beta humani korionski gonadotropin
25(OH)D	25-hidroksi vitamin D
ITM	indeks tjelesne mase
CSF 2	faktor koji stimulira kolonije 2 (eng. <b>C</b> olony <b>S</b> timulating <b>F</b> actor 2)
TNF	faktor nekroze tumora (eng. <b>T</b> umor <b>N</b> ecrosis <b>F</b> actor)
3- $\beta$ HSD	3 beta hidroksisteroid dehidrogenaza
hPL	humani placentarni laktogen
PCOS	sindrom policističnih jajnika (eng. <b>P</b> oly <b>C</b> ystic <b>O</b> vary <b>S</b> ndrome)
AMPK	AMP-om aktivirana protein kinaza

PCOM	morfoloĝija policistiĉkih jajnika (eng. <b>P</b> oly <b>C</b> ystic <b>O</b> vary <b>M</b> orphology)
DHEA	dihidroepiandrosteron
sENG	topivi endoglin (eng. soluble endoglin)
LDL	lipoprotein male gustoće (eng. <b>L</b> ow <b>D</b> ensity <b>L</b> ipoprotein)
VLDL	lipoprotein vrlo male gustoće (eng. <b>V</b> ery <b>L</b> ow <b>D</b> ensity <b>L</b> ipoprotein)
HDL	lipoprotein velike gustoće (eng. <b>H</b> igh <b>D</b> ensity <b>L</b> ipoprotein)
VEGF-A	vaskularni endotelni faktor rasta A

## Sadržaj

Sažetak

Summary

1. Uvod .....	1
2. Vitamin D u ženskom reproduktivnom sustavu .....	2
2.1. Uloga vitamina D .....	2
2.1.1. Studije na životinjama .....	2
2.1.2. In vitro studije na ljudskim stanicama .....	3
2.1.3. Utjecaj razine vitamina D na ishode ART-a .....	4
2.2. Vitamin D i sindrom policističnih jajnika .....	6
2.2.1. Vitamin D u etiologiji sindroma policističnih jajnika .....	7
2.2.2. Učinak suplementacije vitamina D na simptome sindroma policističnih jajnika .....	8
2.2.3. Vitamin D u ART postupcima u žena sa sindromom policističnih jajnika .....	8
2.3. Vitamin D i AMH .....	9
2.4. Vitamin D i endometrioza .....	11
3. Uloga vitamina D u muškom reproduktivnom sustavu .....	12
3.1. Utjecaj vitamina D u muškaraca na ishode ART-a .....	13
4. Zaključak .....	14
5. Zahvale .....	14
6. Popis literature .....	15
7. Životopis .....	26

## Sažetak

### **Uloga vitamina D u postupcima pomognute oplodnje**

Petra Klanac

Vitamin D je steroidni hormon topiv u mastima čija glavna uloga je održavanje ravnoteže kalcija i fosfata u organizmu. No, u novije vrijeme su receptori i enzimi metabolizma vitamina D otkriveni i u drugim tkivima tako i reproduktivnom sustavu muškarca i žene. Pronađeni su u granulosa stanicama, endometriju i promotorskim regijama nekih gena. In vivo istraživanja na životinjama i in vitro istraživanja na ljudskim stanicama su pokazala da vitamin D ima ulogu u regulaciji folikulogeneze, lučenja spolnih hormona, lučenja AMH i placentacije, kao i imunomodulatornu ulogu u endometriju. Ta saznanja i podatci da čak do 40% žena reproduktivne dobi ima manjak vitamina D, a taj postotak se kod žena sa sindromom policističnih jajnika penje do 80%, su naveli znanstvenike da ispituju benefite vitamina D u praksi, tj. kliničkim istraživanjima, kao jeftine i široko dostupne terapije. Cilj kliničkih istraživanja je bio ispitati može li vitamin D poboljšati ishode postupaka potpomognute oplodnje u žena koje prolaze te postupke, odvojeno žena sa sindromom policističnih jajnika ili onih s endometriozom ili svih žena koje prolaze postupak potpomognute oplodnje bez obzira na uzrok. Dosadašnja istraživanja nisu uspjela utvrditi benefite vitamina D na ishode postupaka potpomognute oplodnje ni za jednu od navedenih grupa, s napomenom da su dosadašnje znanje i istraživanja nedostadni za konačan zaključak. Receptori su pronađeni i u spermijima, Leydigovim i Sertolijevim stanicama, a dokazi iz in vivo istraživanja na životinjama i in vitro istraživanja na ljudskim stanicama pokazuju da vitamin D poboljšava pokretnost, volumen i broj spermija, kao i to da može regulirati lučenje testosterona. No, rezultati kliničkih istraživanja su kontradiktorni, a konačni zaključak o ulozi vitamina D u muškoj plodnosti i ishodima postupaka pomognute oplodnje nije moguće donijeti bez daljnjih istraživanja.

Ključne riječi: vitamin D, postupci pomognute oplodnje, AMH, endometrijoza, sindrom policističnih jajnika

## Summary

### **The role of Vitamin D in assisted reproduction technology**

Petra Klanac

Vitamin D is a fat-soluble steroid hormone whose main role is calcium and phosphates homeostasis. However, lately Vitamin D receptors and Vitamin D metabolizing enzymes have been found in other tissues including male and female reproductive tissue. They have been located in granulosa cells, endometrium and promoter regions of genes involved in reproduction. In vivo studies on animals and In vitro studies on human cells have shown that Vitamin D has a role in folliculogenesis regulation, sex hormone and AMH secretion regulation, placentation, as well as immunomodulatory role in endometrium. Those information, as well as some studies showing up to 40% of reproductive age women are Vitamin D insufficient, that figure going up to 80% in women with polycystic ovary syndrome, have made scientists research possible benefits of Vitamin D in clinical practice, as an affordable and widely accessible therapy. The aim of those clinical trials was to establish whether Vitamin D can improve assisted reproduction technologies outcomes. Some of those clinical trials included all women going through assisted reproduction technology procedures, some only women with polycystic ovary syndrome and some only women with endometriosis. So far, researchers couldn't find any benefits of Vitamin D on assisted reproduction technology procedure outcomes in any of the researched groups of women. However, all the researchers remarked that current clinical trials are not sufficient to make a final conclusion regarding the role of Vitamin D in assisted reproduction technology in women. On the other side, Vitamin D receptors and metabolism enzymes have also been located in spermatozoa, Leydig and Sertoli cells. In vivo studies on animals and In vitro studies on human cells have shown that Vitamin D can increase sperm mobility, volume and count, as well as regulate testosterone secretion. But, the results of clinical trials are contradictory and a final conclusion on the role of Vitamin D in male fertility and assisted reproduction technology outcomes cannot be made without further research.

Key words: Vitamin D, assisted reproduction technology, AMH, endometriosis, polycystic ovary syndrome



## 1. Uvod

Vitamin D je steroidni hormon topiv u mastima zadužen za kontrolu ravnoteže kalcija i fosfata u organizmu. Preko kalcija i fosfata sudjeluje u kontroli mineralizacije kostiju i izlučivanju paratireoidnog hormona. Ta uloga vitamina D je znanstveno utemeljena i objašnjena još prije, no u novije vrijeme receptori vitamina D i enzimi odgovorni za njegovu aktivaciju pronađeni su i mnogim drugim tkivima unutar organizma pa tako i unutar reproduktivnog sustava. Unutar ženskog reproduktivnog sustava receptori vitamina D su pronađeni u maternici, posteljici, jajnicima i hipofizi (1). Unutar muškog reproduktivnog sustava receptori vitamina D su pronađeni u testisima i spermijima (2). CYP24A1, enzim koji deaktivira aktivnu formu vitamina D, je pronađen u ljudskoj spermatozoi (3). Ova otkrića su postavila pitanja o ulozi vitamina D i njegovog nedostatka u plodnosti, neplodnosti, kao i bolestima koje su najčešći uzroci neplodnosti. Neplodnost se definira kao nemogućnost začeća nakon godine dana nezaštićenih spolnih odnosa. Dostupni podatci govore da se oko 15% parova suočava s neplodnošću gdje je uzrok neplodnosti podjednako raspoređen između muškaraca i žena (4). Neplodnost je zbog svojih psihičkih, medicinskih i financijskih posljedica veliki javnozdravstveni problem. Postupci pomognute oplodnje (ART) su se razvili u modernoj medicini kako bi pomogli neplodnim parovima pri začeću. Oni se razlikuju po invazivnosti i ovise o stanju koje je dovelo do neplodnosti, počevši od postupaka indukcije ovulacije kod žena i inseminacije pa do in vitro fertilizacije (IVF) i najkompliciranijeg i najinvazivnijeg postupka - intracitoplazmatske injekcije spermija (ICSI).

Cilj ovog rada je istražiti ulogu vitamina D u reproduktivnom sustavu muškarca i žene, istražiti utjecaj razine vitamina D na plodnost i ishode postupaka pomognute oplodnje kao i njegovu ulogu u nekim od glavnih uzroka neplodnosti.

## 2. Vitamin D u ženskom reproduktivnom sustavu

### 2.1. Uloga vitamina D

Vitamin D je steroidni vitamin topiv u mastima. Oko 80% vitamina D čovjek sintetizira u koži djelovanjem UV zraka na 7- dehidrokolesterol, a tek oko 20% se dobiva prehranom. Kolekalciferol (vitamin D<sub>3</sub>) stvoren u koži predstavlja inaktivnu formu vitamina D koja mora proći kroz proces hidroksilacije kako bi postala aktivna. Kolekalciferol se prvo hidroksilira u jetri gdje nastaje 25-hidroksikolekalciferol, a nakon toga i u bubrezima te na kraju nastaje 1,25-dihidroksikolekalciferol (kalcitriol). 1,25- dihidroksikolekalciferol je aktivna forma vitamina D koja povećava apsorpciju kalcija i fosfata iz crijeva. S druge strane, uloga vitamina D u reproduktivnom sustavu se još istražuje. Vitamin D receptor (VDR), na koji se veže 1,25-dihidroksikolekalciferol, član je obitelji nuklearnih receptora transkripcijskih faktora koji formira heterodimer s retinoidnim X receptorom. Taj heterodimer se onda veže na elemente DNA koji odgovaraju na hormon i tako kontroliraju ekspresiju specifičnih gena. Vitamin D može djelovati na ekspresiju gena i preko microRNA (5). VDR se može naći u mnogim stanicama reproduktivnog tkiva, tako ga nalazimo i u granulosa stanicama, epitelnim stanicama endotela, cumulusu oophorusu i jajnicima.

#### 2.1.1. Studije na životinjama

Yoshizawa i sur. su radili pokus na miševima prilikom kojeg su napravili VDR knockout miševе. Ti miševi su imali poremećenu mineralizaciju kostiju, zaostajali su u rastu, ali su također imali i hipoplaziju maternice i poremećenu folikulogenezu (6). U jajnicima VDR knockout miševa je bila smanjena aktivnost aromataze (enzima bitnog za sintezu estrogena) i ekspresija gena odgovornog za njegovu sintezu - CYP19 gena. Pronađene su i povišene vrijednosti LH i FSH kao i hipokalcemija. Nakon suplementacije kalcija u VDR knockout miševa, povećana je aktivnost aromataze na oko 60% aktivnosti divljeg tipa miša, ali su razine LH i FSH ostale i dalje visoke. Iz ovog istraživanja se zaključuje da vitamin D, osim na folikulogenezu, utječe djelomično i na sintezu estrogena posredno preko kalcija, ali i direktno mijenjajući ekspresiju CYP19 gena (7). U sličnom istraživanju, u kojem su ispitivani 1- $\alpha$  hidroksilaza knockout miševi, zamijećeno je da su miševi neplodni sa sniženim vrijednostima progesterona i estrogena, povišenim gonadotropinima, poremećenom folikulogenezom i hipoplazijom maternice (8, 9). No, nakon suplementacije

kalcijem, došlo je do poboljšanja plodnosti (9) što upućuje na mehanizam djelovanja posredovan kalcijem.

### 2.1.2. In vitro studije na ljudskim stanicama

Prilikom inkubacije ovarijskih stanica s vitaminom D (1,25- dihidroksi vitamin D) došlo je do porasta izlučivanja progesterona, estrogena i estrona (10). Nadalje, u sličnoj in vitro studiji je utvrđeno da vitamin D može utjecati i na marker ovarijske rezerve AMH (Anti-Müllerov hormon) tako što dovodi do smanjena ekspresije mRNK za AMHR-II (Anti-Müllerov hormon receptor II) i FSH receptor(11) te tako utječe na sazrijevanje folikula koje AMH blokira. Vitamin D utječe na AMH preko VDR-a koji se nalazi u promotoru gena za AMH (12). Učinak vitamina D može se očitovati i na endometriju preko VDR-a i 1- $\alpha$  hidroksilaze koji se nalaze u endometriju. U endometriju ima imunomodulatornu ulogu utječući na produkciju citokina, Rajaei i sur. su uspoređivali proizvodnju IL-6 (interleukin 6), IL-8 (interleukin 8), IL-10 (interleukin 10) i TGF- $\beta$  (transformirajući faktor rasta beta) iz cijelih stanica endometrija i stromalnih stanica endometrija nakon inkubacije s kalcitriolom u zdravih žena i žena koje su imale višestruke neuspješne implantacije tj. žena koje su imale 3 ili više neuspješna postupka pomognute oplodnje nakon embriotransfera. Rezultati su pokazali da dolazi do smanjenja ukupnog lučenja citokina u obje skupine, ali su cijele endometralne stanice u obje skupine i endometralne stromalne stanice žena s višestrukim neuspješnim implantacijama povećale proizvodnju IL-8 i TGF- $\beta$  što bi moglo imati benefite za žene s višestrukim neuspješnim implantacijama (13). U drugoj studiji gdje su bile uključene endometrijske stanice žena s višestrukim neobjašnjenim spontanim pobačajima, primjena kalcitriola je dovela do down regulacije povišene količine IFN- $\gamma$  i povećanja izlučivanja TGF- $\beta$  (14). Objе studije su pokazale da obje vrste stanica mogu producirati aktivnu formu vitamina D pomoću 1- $\alpha$  hidroksilaze (13,14). IL-6, čije lučenje je kalcitriol smanjio, promovira implantaciju preko regulacije proliferacije i diferencijacije stanica trofoblasta, regulacije ekspresije integrina i lučenja  $\beta$  HCG-a (15,16). Na temelju ovakvih rezultata istraživači nisu mogli donijeti konačan zaključak o učinku vitamina D na endometriju (13). Druge studije su također potvrdile moguću ulogu vitamina D u imunomodulaciji koja može doprinijeti implantaciji atenuacijom funkcije decidualnih T stanica, to jest potičući Th 2 imunološki odgovor (17). Decidualne NK stanice, koje su najčešći tip leukocita u endometriju u prvim fazama trudnoće, su nakon inkubacije s kalcitriolom smanjile izlučivanje citokina CSF2, IL 1, IL6 i TNF (18). Ovaj učinak je značajan jer TNF i CSF prema nekim autorima mogu imati ulogu u ranim spontanim

pobačajima (19). Vitamin D ima ulogu i u komunikaciji između blastociste i endometrijskih dendritičkih stanica na način da endometrijske dendritičke stanice i makrofagi izlučuju 1- $\alpha$  hidroksilazu (enzim za aktivaciju vitamina D) na poticaj interleukina 1 $\beta$  kojeg izlučuje blastocista. Kalcitriol nastao djelovanjem 1- $\alpha$  hidroksilaze se zatim veže na VDR na endometriju te regulira gene za kalbindin, osteopontin i HOX10A gen koji imaju bitnu ulogu u implantaciji i decidualizaciji (20, 21, 18, 22). Kalcitriol također potiče izlučivanje hCG-a iz stanica sinciciotrofoblasta (23), kao i lučenje progesterona i estradiola poticanjem ekspresije 3- $\beta$  HSD i P450 aromataze (24). Također postoje dokazi da kalcitriol ima ulogu u poticanju lučenja humanog placentarnog laktogena (hPL) (25).

### **2.1.3. Utjecaj razine vitamina D na ishode ART-a**

S obzirom na saznanja iz istraživanja na životinjama i in vitro istraživanja na ljudskim ovarijskim i endometrijskim stanicama kao i rezultata nekih istraživanja kako čak do 42% žena reproduktivne dobi ima insuficijentnu količinu (<30ng/mL) vitamina D (26), početkom 2010-ih su se počela provoditi prva klinička istraživanja na ljudima. Klinička istraživanja su se fokusirala na žene koje su išle na postupke potpomognute oplodnje. Garbedian i sur. su proveli istraživanje na 173 žene koje su prošle postupak ART-a. Kao primarni ishod istraživanja su postavili kliničke trudnoće (intrauterina gestacijska vreća vidljiva na ultrazvuku 4 do 5 tjedana nakon transfera embrija) po postupku IVF-a. Žene koje su imale dostatnu količinu 25(OH)D ( $\geq 75\text{nmol/L} = 30\text{ ng/mL}$ ) su imale postotak kliničkih trudnoća po postupku IVF-a od 52,5%, naspram žena koje su imale insuficijentne razine 25(OH)D ( $\leq 75\text{nmol/L} = 30\text{ nmol/mL}$ ) koje su imale 34,7% kliničkih trudnoća po IVF postupku (27). Slično tim rezultatima, Paffoni i sur. i Polyzos i sur. su u svojim istraživanjima pronašli statistički značajnu višu stopu kliničkih trudnoća u žena s višim razinama 25(OH)D, te su žene s 25(OH)D  $> 30\text{ ng/ml}$  imale najveću stopu kliničkih trudnoća prije i nakon uračunavanja čimbenika zabune (ITM, etnicitet, čimbenici kvalitete embrija, tip IVF postupka). Paffoni i sur. su kod pacijentica s 25(OH)D  $\geq 20\text{ ng/ml}$  zabilježili i veću stopu implantacije (broj živih embrija podijeljen s brojem transferiranih embrija), a također su pokazali da su rezultati isti kroz sva godišnja doba i da sezonalnost serumske razine 25(OH)D ne utječe na njih (28, 29). Rudick i sur. (2012.) su dobili slične rezultate kod kliničkih trudnoća, kao i kod stope živorođenih, čak i nakon uračunavanja čimbenika zabune. Međutim, rezultati nisu vrijedili za žene azijskog podrijetla koje su imale veću šansu za kliničku trudnoću i živorođenost djeteta pri nižim koncentracijama 25(OH)D (30). Ovisnost rezultata o etnicitetu su pronašli i Chu i sur. u čijem istraživanju su žene s

25(OH)D > 30 ng/ml imale najveće stope biokemijskih trudnoća (pozitivan test na trudnoću 2 tjedna nakon postupka), kliničkih trudnoća (detekcija otkucaja srca na UZV-u) i živorođenosti, no iako su prilikom uračunavanja čimbenika zabune rezultati ostali isti, izgubila se statistička značajnost. Prilikom analize, čimbenik koji je doveo do toga da rezultati budu statistički neznačajni je bio etnicitet, tj. bio je premali uzorka ne-bijelih žena koje su imale dovoljne serumske koncentracije 25(OH)D (>30 ng/ml) (31).

S druge strane, Firouzabadi i sur. i van de Vijver i sur. nisu pronašli povezanost između koncentracije 25(OH)D i ishoda trudnoće. Stope kliničkih trudnoća i živorođenosti nisu pokazale povezanost s koncentracijama 25(OH)D u obje studije, dok je kod Firouzabadi i sur. nepostojanost korelacije s vitaminom D utvrđena i za kemijske trudnoće, stope implantacije i stope oplodnje. Valja napomenuti da rezultati nisu dosegli statističku značajnost ni u jednoj od ove dvije studije i da je kod Firouzabadi i sur. samo 7% posto žena imalo dostatnu serumsku koncentraciju 25(OH)D (32, 33). Slične su rezultate dobili Franasiak i sur. koji su kao primarni ishod postavili prisutnost trudnoće u osmom tjednu gestacije. Oni su također ustanovili da nema povezanosti između serumske koncentracije 25(OH)D i prisutnosti trudnoće nakon 8 tjedana gestacije, ali su njihovi rezultati bili statistički značajni (34).

Anifanidis i sur. su mjerili koncentracije 25(OH)D u serumu i folikularnoj tekućini, kao i stopu kliničkih trudnoća u odnosu na njih. Njihovi rezultati su našli korelaciju između serumskih i folikularnih koncentracija 25(OH)D, ali su u suprotnosti sa svim dosadašnjim rezultatima našli negativnu korelaciju između serumskih i folikularnih koncentracija 25(OH)D i stope kliničkih trudnoća, kao i negativnu korelaciju između folikularne koncentracije 25(OH)D i kvalitete embrija (35).

Rudick i sur. (2014.) i Fabris i sur. su radili istraživanje utjecaja vitamina D na ishode ART-a u žena koje su prošle postupak ART-a s donorskim oocitama, kako bi se isključio mogući utjecaj vitamina D na folikul i oocitu i promatrao samo mogući utjecaj vitamina D na endometriju i implantaciju. Rudick i sur. (2014.) su pronašli razliku u stopi kliničkih trudnoća i stopi živorođenih između pacijentica koje su imale manjak 25(OH)D (<20 ng/ml), insuficijenciju 25(OH)D (između 20 i 30 ng/ml) i dostatnu koncentraciju 25(OH)D (> 30 ng/ml). Korelacija između 25(OH)D i stope kliničkih trudnoća je bila pozitivna i linearna. Prilikom analize po rasi, rezultat nije vrijedio za žene azijskog i afričkog podrijetla jer je vrlo mali broj tih žena postigao trudnoću, ali je u žena afričkog podrijetla zamijećeno da je medijan koncentracije 25(OH) bio veći kod onih koje su postigle trudnoću (21). S druge

strane Fabris i sur. nisu pronašli nikakvu razliku u stopama implantacije, stopama kliničkih trudnoća i stopama trudnoće u tijeku između žena s manjkom, insuficijencijom i dostatnom količinom 25(OH)D. Uz napomenu da rezultati nisu dostigli statističku značajnost (36).

Slične kontradiktorne rezultate su dale i meta-analize ovih i još nekih sličnih istraživanja rađenih na temu učinka vitamina D na ishode ART postupaka. Tako Chu i sur. navode da su šanse za kliničku trudnoću, kemijsku trudnoću i živorođenost veće u žena koje imaju dostatnu koncentraciju 25(OH)D u odnosu na one koje imaju insuficijenciju ili manjak. Uz napomenu da zbog nedostatka podataka nisu mogli provesti meta-analizu regresijskih analiza, tako da u ovaj rezultat nisu uračunati mogući učinci čimbenika zabune (37). Zhao i sur. u svojoj meta-analizi navode da je samo kod živorođenosti uočen statistički značajan utjecaj koncentracije 25(OH)D (38), dok Cozzolino i sur. nisu našli nikakvu povezanost između koncentracije 25(OH)D i ishoda ART-a (39).

Studije uključene u meta-analize su bile heterogene prema svojim karakteristikama. Razlikovale su se po vremenu mjerenja 25(OH)D, uključnim i isključnim kriterijima (jedna studija nije imala nikakve isključne kriterije). Npr. jedna studija je obuhvatila isključivo žene koje su išle na prijenos jedne blastociste 5. dan, dok su neke druge studije obuhvaćale sve postupke ART-a. Heterogenost studija otežava donošenje zaključaka istraživačima i postoji konsenzus da su potrebna daljnja istraživanja diljem svijeta u različitim populacijama kako bi se donio zaključak na ovu temu.

## **2.2. Vitamin D i sindrom policističnih jajnika**

Sindrom policističnih jajnika (PCOS) je endokrini poremećaj žena čije su tri glavne karakteristike prema Rotterdamskim dijagnostičkim kriterijima iz 2003.: 1. oligo/anovulacija, 2. klinički i/ili biokemijski znakovi hiperandrogenizma i 3. povećani jajnici kod kojih je vidljivo najmanje 12 folikula na ultrazvuku. Najčešći je endokrini metabolički poremećaj u žena reproduktivne dobi s prevalencijom od 5% do 20% (40, 41). Osim navedenih simptoma, žene s PCOS-om često imaju inzulinsku rezistenciju (prema jednom istraživanju čak 50-70% njih (42)), a s time i povećani rizik za razvoj dijabetesa mellitusa tip 2. S obzirom na visoku prevalenciju ovog poremećaja u žena reproduktivne dobi i činjenicu da je jedna od glavnih karakteristika anovulacija, te žene su često kandidati za neki od postupaka pomognute oplodnje. Po nekim studijama, čak 80% žena s PCOS-om ima manjak vitamina D (43,44,45) što je značajno više od opće populacije, a u populaciji PCOS žena manjak vitamina D je češći kod pretilih žena. Neka istraživanja su navela da je

manjak vitamina D povezan s ITM-om koji je u prosjeku veći u žena s PCOS-om nego u ostalih žena (46), no jedna australska studija je pokazala da je koncentracija vitamina D manja u pretilih žena s PCOS-om nego u pretilih žena bez PCOS-a (47).

### **2.2.1. Vitamin D u etiologiji sindroma policističnih jajnika**

Vitamin D preko disregulacije kalcija potencijalno sudjeluje u folikularnom arestu (48). Kalcijски receptori su pronađeni u preovulacijskim granulosa stanicama što je navelo znanstvenike na zaključak da vitamin D preko kalcija ima ulogu u folikulogenezi, prvenstveno u selekciji folikula (49). Bakhshalizadeh i sur. su na granulosa stanicama mišjeg modela PCOS-a dokazali da vitamin D preko AMP-om aktivirane protein kinaze (AMPK) smanjuje gensku ekspresiju steroidogenih enzima (P450<sub>scc</sub>, Cyp11a1, StAR, Cyp19a1, 3B-HSD) i tako smanjuje izlučivanje progesterona i 17β-estradiola (50). Ovaj rezultat govori u prilog tome da bi i kod ljudi vitamin D mogao regulirati steroidogenezu, a time i regularnost ciklusa te ovulaciju. Nadalje, Celik i sur. su pokazali da vitamin D sprječava formaciju PCOM-a (polycystic ovary morphology) izazvanog DHEA-om (dihidroepiandrosteron) u štakora (51).

Zamijećeno je da pacijentice s PCOS-om imaju povišene parametre oksidativnog stresa i posljedično upalu niskog intenziteta, a uočena je i korelacija niske koncentracije vitamina D i oksidativnog stresa (52). Kako dosadašnja istraživanja u kojima se istraživala jedna tvar kao uzrok PCOS-a nisu pokazala uvjerljive rezultate, Kyei i sur. su napravili model PCOS miša kojeg su tretirali s vitaminom D, koji ima i blaga antioksidativna svojstva (53), i MitQ<sub>10</sub>-om (modificirani oblik Ubikinona CoQ<sub>10</sub>). Rezultati su pokazali da je vitamin D imao veći učinak na smanjenje prekomjernog lučenja steroida i morfologiju jajnika, a MitQ<sub>10</sub> na smanjenje oksidativnog stresa, no skupa su imali sinergistički učinak te su svi parametri bili bolji nego u pojedinačnoj suplementaciji. Jajnici su pri tretiranju vitaminom D + MitQ<sub>10</sub> imali normalnu morfologiju: nisu imali ciste, nađene su jajne stanice u raznim fazama razvoja kao i corpora lutea (54).

S obzirom na to da učinci TGF-β1 u tkivima, kao što su angiogeneza, aktivacija fibroblasta i fibroza tkiva, nalikuju promjenama koje se pronalaze na policističnim jajnicima (55), kao i da je u žena s PCOS-om zamijećena povećana bioraspoloživost TGF-β1 i smanjenje sENG (topivi endoglin - cirkulirajući receptor koji veže TGF-β) (56,57), Irani i sur. su napravili istraživanje u kojem su ispitivali potencijalan učinak vitamina D na razine TGF-β i sENG. U istraživanju su davali ženama s PCOS-om vitamin D kroz 8 tjedana i te žene su imale

povećanu koncentraciju sENG, smanjenu bioraspoloživost TGF- $\beta$ 1, smanjene intervale između menstruacija, smanjenje triglicerida i smanjenje simptoma hiperandrogenizma (55).

### **2.2.2. Učinak suplementacije vitamina D na simptome sindroma policističnih jajnika**

Fang i sur. su 2015. napravili meta-analizu suplementacije vitamina D i iz njihovih rezultata se zaključuje da vitamin D ne utječe na inzulinsku rezistenciju i lipidne parametre. Vitamin D utječe na to da se u jajnicima pacijentica nalazi veći broj dominantnih folikula, ali ne utječe na regularnost menstrualnih ciklusa, dok kod suplementacije vitamina D zajedno s metforminom dolazi do regulacije menstrualnog ciklusa (58). Jin i sur. su 2020. godine radili meta-analizu učinka suplementacije vitamina D na lipidne parametre. Njihovi rezultati su pokazali da suplementacija vitamina D dovodi do smanjenja triglicerida, LDL-a, VLDL-a i ukupnog kolesterola, no učinak je ovisio o načinu i dozi suplementacije, tj. dnevna suplementacija dozama  $\leq 4000$  IU/dan je bila djelotvorna, dok velike doze nisu bile efikasne (59). Isti učinak niske doze vitamina D su zamijetili Łagowska i sur. prilikom svoje meta-analize gdje su proučavali učinak suplementacije vitamina D na inzulinsku rezistenciju i metabolizam glukoze (60).

### **2.2.3. Vitamin D u ART postupcima u žena sa sindromom policističnih jajnika**

Studije koje proučavaju učinak vitamina D na uspješnost ART postupaka u žena s PCOS-om nisu brojne kao studije koje procjenjuju učinak vitamina D na simptome PCOS-a, a za sada nema niti jedne meta-analize napravljene na tu temu. Većina istraživanja pokazuje povoljne učinke vitamina D na ishode ART-a, ali su ta istraživanja veoma raznolika i često se vitamin D ispituje u kombinaciji s drugim terapijama i postupcima koji se koriste u liječenju žena s PCOS-om. Butts i sur. su ispitali učinak serumske koncentracije 25(OH)D na učinke indukcije ovulacije u žena s PCOS-om i žena nepoznatog uzroka neplodnosti. PCOS žene s 25(OH)D  $\geq 20$  ng/ml su imale veću stopu ovulacija, trudnoća i živorođenosti prije i nakon regresijske analize u odnosu na PCOS žene s 25(OH)D  $\leq 20$  ng/ml, dok nikakva povezanost ishoda indukcije ovulacije sa serumskom koncentracijom 25(OH)D nije uočena kod žena s nepoznatim uzrokom neplodnosti (61). Kadoura i sur. su uspoređivali učinkovitost terapije metforminom s terapijom metformin+kalcij+vitamin D te su utvrdili da terapija metformin+kalcij+vitamin D poboljšava regularnost menstrualnog ciklusa, ali nema utjecaja na koncentracije FSH, LH i omjer LH/FSH (62). No, u studiju su bile uključene samo 34 žene. Rasheedy i sur. su uspoređivali indukciju ovulacije pomoću kombinacije klomifen citrata i kalcija s indukcijom klomifen citratom, kalcijem i vitaminom



D u pretilih, anovulatornih PCOS žena. Žene na terapiji klomifen citrat + kalcij + vitamin D imale su veće stope ovulacije, biokemijskih trudnoća i nižu koncentraciju testosterona nakon regresijske analize. Također, veličina dominantnog folikula je bila veća u žena na terapiji klomifen citrat + kalcij + vitamin D ( $18,07 \pm 1,37$  mm), nego u žena na terapiji klomifen citrat + kalcij ( $16,79 \pm 3,00$  mm), dok se stope kliničkih trudnoća nisu razlikovale (63). Zhao i sur. su zaključili da su PCOS žene koje su imale  $25(\text{OH})\text{D} \geq 20$  ng/ml, i na početku istraživanja i nakon suplementacije, imale veće stope kliničkih trudnoća i implantacija kao i veći broj visoko kvalitetnih embrija pri IVF i ICSI postupcima u odnosu na PCOS žene koje su imale  $25(\text{OH})\text{D} \leq 20$  ng/ml (64). Fatemi i sur. su uspoređivali suplementaciju vitaminom D i E s placebom u žena s PCOS-om koje su prolazile postupak ICSI. Žene na suplementaciji su imale veću stopu kliničkih trudnoća i implantacija, dok se parametri oksidativnog stresa nisu razlikovali (65).

Definitivne zaključke o ulozi vitamina D u sindromu policističnih jajnika i plodnosti žena s policističnim jajnicima ne možemo donijeti. Postoji puno indikacija iz istraživanja provedenih na životinjskim modelima, ali za sada nema dovoljno kliničkih istraživanja provedenih na ljudima. Budući da je većina istraživanja provedena u Iranu, potrebna su daljnja istraživanja na drugim etničkim skupinama. Neke studije imaju vrlo male uzorke, a i za sada nijedno istraživanje nije provedeno koristeći male dnevne doze vitamina D ( $\leq 4000$  IU/dan) koje su se prema posljednjim meta-analizama pokazale efikasnijim. Smatra se da je etiologija sindroma policističnih jajnika multifaktorijalna, gdje je vitamin D samo jedan od faktora pa su i istraživanja sve više usmjerena prema tome.

### 2.3. Vitamin D i AMH

AMH (Anti-Müllerov hormon) je dio obitelji transformirajućih faktora rasta beta. U ljudi, tj. žena on se počinje lučiti nakon 36. tjedna gestacije iz granulosa stanica ovarijskih folikula neovisno o gonadotropinima (66). U ciklusu sazrijevanja jajne stanice njegovo izlučivanje počinje kad je jajna stanica u primordijalnom stadiju i raste sve do stadija preantralnog ili malog antralnog folikula, kada počinje padati kako se razvoj odvija prema jednom dominantnom folikulu gdje glavnu ulogu preuzima FSH (67). U miševa AMH regulira razvoj ranih preantralnih i mali antralnih folikula, no u ljudi taj učinak nije dokazan. U svih vrsta on djeluje kao blokator osjetljivosti rastućih folikula na FSH (68). Iako su zamijećene fluktuacije AMH tijekom menstruacijskog ciklusa, one su minimalne i njegova koncentracija je više-manje stabilna za vrijeme menstruacijskog ciklusa. Taj podatak, kao i njegova povezanost s rezervom primordijalnih oocita i činjenica da se koncentracija AMH

stabilizira oko 25. godine i tada krene polako opadati sa starošću žene, razlozi su zašto se koristi kao indirektni marker ovarijske rezerve. Postoje stanja gdje AMH ne možemo koristiti kao marker ovarijske rezerve jer je abnormalno povišen, kao što je PCOS. Pronalazak receptora vitamin D u promotorskoj regiji gena za AMH u ljudi (12) pokrenuo je zanimanje za njegovu ulogu u lučenju AMH i posredno u folikulogenezi. Xu i sur. su inkubirali sekundarne preantralne folikule rhesus macaque majmuna s vitaminom D što je dovelo do povećanja lučenja AMH za 36% u odnosu na kontrolu (69). Što je u suprotnosti s rezultatima Wojtusika i sur. gdje je 25(OH)D doveo do smanjenja ekspresije AMH mRNA iz granulosa stanica kokoši s time da je došlo do povećane ekspresije FSH receptora i proliferacije stanica (70). Jedna studija, provedena na ženama koje su išle na indukciju ovulacije radi IVF postupka, pronašla je dvostruko veću ekspresiju AMH receptora II (AMHR-II) kod žena sa serumskim 25(OH)D < 30 ng/ml od onih sa serumskim 25(OH)D > 30 ng/ml. Nakon inkubacije luteiniziranih cumulus granulosa stanica, prikupljenih od tih istih žena, s vitaminom D došlo je do znatnog smanjenja ekspresije AMHR-II i smanjenja AMH inducirane fosforilacije SMAD 1/5/8 (11). Iz ovog se može zaključiti da vitamin D može blokirati inhibitorni učinak AMH na diferencijaciju granulosa stanica i folikularni rast djelujući i na receptor i na sustav sekundarnih glasnika. Kod ove se studije mora napomenuti da luteinizirane stanice možda nisu najbolji model za proučavanje zbivanja u jajniku tijekom cijelog ciklusa jer se osjetljivost stanica na neke tvari kao i broj i vrsta receptora mijenjaju tijekom sazrijevanja jajne stanice unutar jajnika.

Opservacijske studije koje su istraživale vezu vitamina D i AMH imaju kontradiktorne rezultate. Neke studije, kao Merhi i sur. (71), Jukic i sur. (72) i Wong i sur. (73), su pronašle pozitivnu korelaciju između serumske koncentracije 25(OH)D i koncentracije AMH. Ove studije su provedene na raznolikim populacijama. Wong i sur. su uspoređivali žene s PCOS-om i ovulatorne žene i povezanost je pronađena samo kod PCOS žena (73). Merhi i sur. su korelaciju pronašli samo u žena starijih od 40 godina (71). S druge strane, studija koje nisu pronašle korelaciju između serumske koncentracije 25(OH)D i AMH ima više. Među njima su studije koje su rađene na neplodnim ženama (74-77), studije rađene na zdravim plodnim ženama (36, 78), studije rađene na ženama s PCOS-om (79-80), a jedna studija je uspoređivala zdrave žene sa ženama koje su imale primarnu insuficijenciju jajnika u vidu korelacije 25(OH)D i AMH (81). Iznimka je studija koju su proveli Bednarska Czerwinska i sur. gdje su utvrdili negativnu korelaciju između ukupnog vitamina D i AMH koja nije bila statistički značajna. Međutim, dodatnom analizom je utvrđena negativna

linearna korelacija do koncentracije vitamina D od 31 ng/ml, a nakon te koncentracije korelacija je bila pozitivna, ali statistički neznačajna (82).

Suplementacijske studije su imale drugačije ishode, pet (83-87) od šest ih je pokazalo korelaciju između koncentracije vitamina D i AMH, a jedna (88) nije pokazala korelaciju između vitamina D i AMH. Tri su rađene na ženama s PCOS-om, a tri su uključivale sve žene. Meta-analiza tih studija zaključuje da postoji pozitivna korelacija između vitamina D i AMH kod ovulatornih žena, a negativna korelacija kod žena sa sindromom policističnih jajnika (89).

#### **2.4. Vitamin D i endometrioz**

Endometrioz je o estrogenu ovisna kronična upalna bolest koja zahvaća žene reproduktivne dobi. Prema nekim istraživanjima, prevalencija endometrioze je od 5 do 10%, a većinom zahvaća žene između 25 i 35 godina života (90). Karakterizira je pojava tkiva nalik endometriju, najčešće na zdjeličnom peritoneju, jajnicima, rektovaginalnom septumu, ali moguća je pojava takvog tkiva i na ošitu ili pleuri. Simptomatski se manifestira kao dismenoreja, dispaurineja, nepravilna krvarenja iz maternice, kronična zdjelična bol, a moguća je i neplodnost (91). Etiologija nije poznata, iako se smatra da je multifaktorijalna. Kronična upala se smatra važnom u patogenezi endometrioze jer su mnoge studije pokazale povišene razine proupalnih citokina, neutrofila, makrofaga, faktora nekroze tumora u peritonealnoj tekućini pacijentica s endometriozom. S obzirom da normalan eutopični endometrij eksprimira receptor vitamina D i 1- $\alpha$  hidroksilazu kao i imunomodulacijsku ulogu koju vitamin D ima u endometriju i drugim dijelovima tijela, postavilo se pitanje uloge vitamina D u endometrioz.

In vitro studija na ljudskim ektopičnim endometrijskim stanicama iz endometrioma jajnika je pokazala da kalцитriol može smanjiti upalni odgovor posredovan IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$  i tako smanjiti upalu (92). Druga slična studija je pokazala da vitamin D dovodi do smanjenja lučenja IL-6 i VEGF-A koji je jedan od glavnih faktora angiogeneze bitne u nastanku endometrioze (93). Van Etten i sur. su proučavali učinak vitamina D in vivo na štakorskom modelu endometrioze i zamijetili smanjenje volumena endometriotskog žarišta za 48,8%, dok je na histološkoj analizi presjeka unutar tog žarišta zamijećeno da je vitamin D povećao fibrozu i apoptozu strome (94).

Na ljudima su provedene samo opservacijske studije povezanosti koncentracije vitamina D i endometrioze. Meta-analiza opservacijskih studija je zaključila da žene s endometriozom

imaju niže koncentracije 25(OH)D od žena bez endometrioze i da postoji negativna korelacija 25(OH)D i težine kliničke slike endometrioze (95). S druge strane, druga meta-analiza zaključuje da se trenutno ne može donijeti zaključak o vezi 25(OH)D i endometrioze (96).

Za sada, na temelju dostupnih podataka, se ne može donijeti zaključak o vezi vitamina D i endometrioze, pa ni u pogledu utjecaja na plodnost žena s endometriozaom. Potrebne su daljnje i kvalitetnije studije na ljudima, prvenstveno randomizirane kliničke studije, kojih za sada ni nema, kako bi se donio konačan zaključak.

### **3. Uloga vitamina D u muškom reproduktivnom sustavu**

Receptor vitamina D pronađen je na više lokacija unutar spermija, kao što su glava spermija, postakrosomijalna regija, tijelo i vrat spermija. Pronađen je i u više razvojnih stadija spermija kao i u Leydigovim i Sertolijevim stanicama (97-98). Isto tako su u muškom reproduktivnom sustavu kao i u spermijima pronađeni metabolički enzimi vitamina D (1- $\alpha$  hidroksilaza, 25-hidroksilaza, 24-hidroksilaza) (97,99). Ti podatci navode na zaključak da vitamin D ima endokrinu, ali i lokalnu parakrinu ulogu u muškom reproduktivnom sustavu.

U in vitro istraživanjima pokazano je da vitamin D povećava pokretljivost spermija i to preko otpuštanja unutarstaničnog kalcija posredovanjem vitamin D receptora, kao i to da potiče akrosomalnu reakciju (100). U drugoj studiji je ispitivana moguća uloga vitamina D u lučenju testosterona i dokazana je povećana ekspresija mRNK enzima koji sudjeluju u sintezi testosterona (101).

U istraživanjima na životinjama dalje je ispitivana uloga vitamina D u reproduktivnom sustavu. Miševi s manjkom vitamina D su imali smanjen broj spermija i ženke inseminirane spermom takvog mužjaka su imale smanjenu stopu plodnosti (102). Ti učinci su se poništili suplementacijom vitamina D ili kalcija, upućujući na ulogu vitamina D posredovanu kalcijem (103). U drugom istraživanju, VDR knock out miševi su imali smanjen broj i pokretnost spermija te histološke abnormalnosti testisa, no ti učinci su se samo djelomično mogli poništiti suplementacijom kalcija (7).

Kliničke studije nisu pokazale uvjerljive odgovore na pitanje uloge vitamina D u muškom reproduktivnom sustavu. Meta-analiza kliničkih istraživanja je pronašla povezanost broja i pokretnosti spermija s koncentracijom vitamina D, dok povezanost nije pronađena za

volumen, koncentraciju, morfologiju i progresivnu pokretljivost spermija. Također je pronađeno da plodni muškarci imaju više koncentracije vitamina D od neplodnih, iako nije pronađena povezanost između plodnosti i vitamina D. Nakon podijele studija na one slabe, srednje i visok kvalitete pronađena te naknadne analize tih subgrupa, uočena je povezanost kod studija srednje i visoke kvalitete (104). No, većina uključenih istraživanja su opservacijska, a samo dva istraživanja su suplementacijska. Također, istraživanja su dosta heterogena što otežava donošenje zaključka o povezanosti.

### **3.1. Utjecaj vitamina D u muškaraca na ishode ART-a**

Jedna studija iz 2015. godine je ispitala učinak koncentracije vitamina D u muškaraca na ishode trudnoće prilikom indukcije ovulacije u partnerica ispitivanih muškaraca. Pronašli su da su partnerice muškaraca s koncentracijom  $25(\text{OH})\text{D} \geq 30$  ng/ml imale više stope trudnoća i porođaja od partnerica muškaraca koji su imali koncentraciju  $25(\text{OH})\text{D} \leq 30$  ng/ml (105). S druge strane, jedna irska studija nije pronašla povezanost koncentracije  $25(\text{OH})\text{D}$ , ni u muškaraca, ni u žena s nastupanjem i ishodima trudnoće u pacijentica koje su prolazile postupke pomognute oplodnje (77).

Daljnja istraživanja, posebno klinička randomizirana, su potrebna kako bi se donio zaključak o ulozi vitamina D u muškom reproduktivnom sustavu i plodnosti.

#### 4. ZAKLJUČAK

Unatoč velikom broju istraživanja na ovu temu, pogotovo u zadnjem desetljeću, još uvijek se ne može dati potpuni odgovor na pitanje uloge vitamina D u postupcima potpomognute oplodnje. Iako receptori vitamina D i enzimi njegova metabolizma postoje u ženskom i muškom reproduktivnom sustavu što upućuje na postojanje uloge vitamina D, svi istraživači se slažu da su potrebna daljnja istraživanja.

#### 5. ZAHVALE

Posebno zahvaljujem svojoj mentorici prof.dr.sc. Marini Šprem Goldštajn na ljubaznosti, pomoći i savjetima pri izradi diplomskog rada.

Zahvaljujem prijateljima i obitelji na podršci, savjetima i motivaciji za vrijeme studija.

## 6. POPIS LITERATURE

1. Johnson LE, Deluca HF. Vitamin D receptor null mutant mice fed high levels of calcium are fertile. *J Nutr.* 2001;131(6):1787–91.
2. Corbett ST, Hill O, Nangia AK. Vitamin D receptor found in human sperm. *Urology.* 2006;68(6):1345–9.
3. Blomberg Jensen M, Jørgensen A, Nielsen JE, Bjerrum PJ, Skalkam M, Petersen JH i sur. Expression of the vitamin D metabolizing enzyme CYP24A1 at the annulus of human spermatozoa may serve as a novel marker of semen quality. *Int J Androl.* 2012;35(4):499-510.
4. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015;13:37.
5. Long MD, Sucheston-Campbell LE, Campbell MJ. Vitamin D receptor and RXR in the post-genomic era. *J Cell Physiol.* 2015; 230(4):758-66.
6. Yoshizawa T, Handa Y, Uematsu Y, Takeda S, Sekine K, Yoshihara Y i sur. Mice lacking the vitamin D receptor exhibit impaired bone formation, uterine hypoplasia and growth retardation after weaning. *Nat Genet.* 1997;16(4):391-6.
7. 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.
8. Sun W, Xie H, Ji J, Zhou X, Goltzman D, Miao D. Defective female reproductive function in 1,25(OH)<sub>2</sub>D deficient mice results from indirect effect mediated by extracellular calcium and/or phosphorus. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;299(6):E928-935.
9. Panda DK, Miao D, Bolivar I, Li J, Huo R, Hendy GN i sur. Inactivation of the 25-hydroxyvitamin D 1alpha-hydroxylase and vitamin D receptor demonstrates independent and interdependent effects of calcium and vitamin D on skeletal and mineral homeostasis. *J Biol Chem.* 2004;279(16):16754-66.
10. Parikh G, Varadinova M, Suwandhi P, Araki T, Rosenwaks Z, Seto-Young D. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. *Horm Metab Res.* 2010;42(10):754-7.

11. Merhi Z, Doswell A, Krebs K, Cipolla M. Vitamin D alters genes involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(6):E1137-45.
12. Malloy PJ, Peng L, Wang J, Feldman D. Interaction of the vitamin D receptor with a vitamin D response element in the Mullerian-inhibiting substance (MIS) promoter: regulation of MIS expression by calcitriol in prostate cancer cells. *Endocrinology.* 2009;150(4):1580-7.
13. Rajaei S, Mirahmadian M, Jeddi-Tehrani M, Tavakoli M, Zonoobi M, Dabbagh A i sur. Effect of 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> on cytokine production by endometrial cells of women with repeated implantation failure. *Gynecol Endocrinol.* 2012;28(11):906-11.
14. Tavakoli M, Jeddi-Tehrani M, Salek-Moghaddam A, Rajaei S, Mohammadzadeh A, Sheikhhasani S i sur. Effects of 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> on cytokine production by endometrial cells of women with recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril.* 2011;96(3):751-7.
15. Bowen JM, Chamley L, Keelan JA, Mitchell MD. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition. *Placenta* 2002;23(4):257–73.
16. Das C, Kumar VS, Gupta S, Kumar S. Network of cytokines, integrins and hormones in human trophoblast cells. *J Reprod Immunol* 2002;53(1-2):257–68.
17. Evans KN, Bulmer JN, Kilby MD, Hewison M. Vitamin D and placental-decidual function. *J Soc Gynecol Investig.* 2004;11(5):263-71.
18. Evans KN, Nguyen L, Chan J, Innes BA, Bulmer JN, Kilby MD i sur. Effects of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on cytokine production by human decidual cells. *Biol Reprod.* 2006;75(6):816-22.
19. Laird SM, Tuckerman EM, Cork BA, Linjawi S, Blakemore AI, Li TC. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update* 2003;9(2):163–74.
20. Vigano P, Lattuada D, Mangioni S, Ermellino L, Vignali M, Caporizzo E i sur. Cycling and early pregnant endometrium as a site of regulated expression of the vitamin D system. *J Mol Endocrinol* 2006;36(3):415–24.
21. Rudick BJ, Ingles SA, Chung K, Stanczyk FZ, Paulson RJ, Bendikson KA. Influence of vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes in donor-recipient cycles. *Fertil Steril* 2014;101(2):447–52.



22. Daftary GS, Taylor HS. Endocrine regulation of HOX genes. *Endocr Rev.* 2006;27(4):331-55.
23. Barrera D, Avila E, Hernández G, Méndez I, González L, Halhali A i sur. Calcitriol affects hCG gene transcription in cultured human syncytiotrophoblasts. *Reprod Biol Endocrinol.* 2008;6:3.
24. Barrera D, Avila E, Hernández G, Halhali A, Biruete B, Larrea F i sur. Estradiol and progesterone synthesis in human placenta is stimulated by calcitriol. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007;103(3-5):529-32.
25. Tuan RS, Moore CJ, Brittingham JW, Kirwin JJ, Akins RE, Wong M. In vitro study of placental trophoblast calcium uptake using JEG-3 human choriocarcinoma cells. *J Cell Sci.* 1991;98(3):333-42.
26. Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC, Holick MF. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med.* 2002;112(8):659–62
27. Garbedian K, Boggild M, Moody J, Liu KE. Effect of vitamin D status on clinical pregnancy rates following in vitro fertilization. *CMAJ Open.* 2013;1(2):E77-82.
28. Paffoni A, Ferrari S, Viganò P, Pagliardini L, Papaleo E, Candiani M i sur. Vitamin D deficiency and infertility: insights from in vitro fertilization cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(11):E2372-6.
29. Polyzos NP, Anckaert E, Guzman L, Schiettecatte J, Van Landuyt L, Camus M i sur. Vitamin D deficiency and pregnancy rates in women undergoing single embryo, blastocyst stage, transfer (SET) for IVF/ICSI. *Hum Reprod.* 2014;29(9):2032-40.
30. Rudick B, Ingles S, Chung K, Stanczyk F, Paulson R, Bendikson K. Characterizing the influence of vitamin D levels on IVF outcomes. *Hum Reprod.* 2012;27(11):3321-7.
31. Chu J, Gallos I, Tobias A, Robinson L, Kirkman-Brown J, Dhillon-Smith R i sur. Vitamin D and assisted reproductive treatment outcome: a prospective cohort study. *Reprod Health* 2019;16(1):106.
32. Firouzabadi RD, Rahmani E, Rahsepar M, Firouzabadi MM. Value of follicular fluid vitamin D in predicting the pregnancy rate in an IVF program. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;289(1):201-6.
33. van de Vijver A, Drakopoulos P, Van Landuyt L, Vaiarelli A, Blockeel C, Santos-Ribeiro S i sur. Vitamin D deficiency and pregnancy rates following frozen-thawed embryo transfer: a prospective cohort study. *Hum Reprod.* 2016;31(8):1749-54.

34. Franasiak JM, Wang X, Molinaro TA, Green K, Sun W, Werner MD i sur. Free vitamin D does not vary through the follicular phase of the menstrual cycle. *Endocrine* 2016;53(1):322–6.
35. Anifandis GM, Dafopoulos K, Messini CI, Chalvatzas N, Liakos N, Pournaras S i sur. Prognostic value of follicular fluid 25-OH vitamin D and glucose levels in the IVF outcome. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010;8:91.
36. Fabris A, Pacheco A, Cruz M, Puente JM, Fatemi H, Garcia-Velasco JA. Impact of circulating levels of total and bioavailable serum vitamin D on pregnancy rate in egg donation recipients. *Fertil Steril* 2014;102(6):1608–12.
37. Chu J, Gallos I, Tobias A, Tan B, Eapen A, Coomarasamy A. Vitamin D and assisted reproductive treatment outcome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2018;33(1):65-80.
38. Zhao J, Huang X, Xu B, Yan Y, Zhang Q, Li Y. Whether vitamin D was associated with clinical outcome after IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):13.
39. Cozzolino M, Busnelli A, Pellegrini L, Riviello E, Vitagliano A. How vitamin D level influences in vitro fertilization outcomes: results of a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2020;114(5):1014-25.
40. Pan ML, Chen LR, Tsao HM, Chen KH. Relationship between Polycystic Ovarian Syndrome and Subsequent Gestational Diabetes Mellitus: A Nationwide Population-Based Study. *PLoS One* [Internet]. 2015 [pristupljeno: 08.06.2021.];10(10):e0140544. Dostupno na: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0140544>
41. Jamilian M, Maktabi M, Asemi Z. A Trial on The Effects of Magnesium-Zinc-Calcium-Vitamin D Co-Supplementation on Glycemic Control and Markers of Cardio-Metabolic Risk in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Arch Iran Med.* 2017;20(10):640-5.
42. Song DK, Hong YS, Sung YA, Lee H. Insulin resistance according to  $\beta$ -cell function in women with polycystic ovary syndrome and normal glucose tolerance. *PLoS One* [Internet]. 2017 [pristupljeno: 08.06.2021.];12(5):e0178120. Dostupno na: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0178120>
43. 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.

44. Selimoglu H, Duran C, Kiyici S, Ersoy C, Guclu M, Ozkaya G i sur. 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.
45. 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.
46. Yildizhan R, Kurdoglu M, Adali E, Kolusari A, Yildizhan B, Sahin HG i sur. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet.* 2009;280(4):559-63.
47. Joham AE, Teede HJ, Cassar S, Stepto NK, Strauss BJ, Harrison CL i sur. Vitamin D in polycystic ovary syndrome: Relationship to obesity and insulin resistance. *Mol Nutr Food Res.* 2016;60(1):110-8.
48. Alshaymaa AZE, Rasha Ali R, Md Zakaria G, Sahar Md Abdel M. A Closer Insight into The Role of Vitamin D in Polycystic Ovary Syndrome (Pcos). *Glob J Pharmaceu Sci [Internet].* 2018 [pristupljeno: 10.06.2021.];6(4):e555692. Dostupno na: <https://juniperpublishers.com/gjpps/GJPPS.MS.ID.555692.php>
49. Ott J, Wattar L, Kurz C, Seemann R, Huber JC, Mayerhofer K i sur. Parameters for calcium metabolism in women with polycystic ovary syndrome who undergo clomiphene citrate stimulation: a prospective cohort study. *Eur J Endocrinol.* 2012;166(5):897-902.
50. Bakhshalizadeh S, Amidi F, Shirazi R, Shabani Nashtaei M. Vitamin D3 regulates steroidogenesis in granulosa cells through AMP-activated protein kinase (AMPK) activation in a mouse model of polycystic ovary syndrome. *Cell Biochem Funct.* 2018;36(4):183-93.
51. Çelik LS, Kuyucu Y, Yenilmez ED, Tuli A, Dağlıoğlu K, Mete UÖ. Effects of vitamin D on ovary in DHEA-treated PCOS rat model: A light and electron microscopic study. *Ultrastruct Pathol.* 2018;42(1):55-64.
52. Raja-Khan N, Shah J, Stetter CM, Lott ME, Kunselman AR, Dodson WC i sur. 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.
53. Nasri K, Akrami S, Rahimi M, Taghizadeh M, Behfar M, Mazandaranian MR i sur. The effects of vitamin D and evening primrose oil co-supplementation on lipid

- profiles and biomarkers of oxidative stress in vitamin D-deficient women with polycystic ovary syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Endocr Res.* 2018;43(1):1-10.
54. Kyei G, Sobhani A, Nekonam S, Shabani M, Ebrahimi F, Qasemi M i sur. Assessing the effect of MitoQ<sub>10</sub> and Vitamin D3 on ovarian oxidative stress, steroidogenesis and histomorphology in DHEA induced PCOS mouse model. *Heliyon* [Internet]. 2020 [pristupljeno: 11.06.2021.];6(7):e04279. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7393412/>
  55. Irani M, Seifer DB, Grazi RV, Julka N, Bhatt D, Kalgi B i sur. Vitamin D Supplementation Decreases TGF- $\beta$ 1 Bioavailability in PCOS: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(11):4307-14.
  56. Raja-Khan N, Kunselman AR, Demers LM, Ewens KG, Spielman RS, Legro RS. A variant in the fibrillin-3 gene is associated with TGF-beta and inhibin B levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2010;94(7):2916-9.
  57. Tal R, Seifer DB, Shohat-Tal A, Grazi RV, Malter HE. Transforming growth factor- $\beta$ 1 and its receptor soluble endoglin are altered in polycystic ovary syndrome during controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril.* 2013;100(2):538-43.
  58. Fang F, Ni K, Cai Y, Shang J, Zhang X, Xiong C. Effect of vitamin D supplementation on polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complement Ther Clin Pract.* 2017;26:53-60.
  59. Jin B, Qian L, Fu X, Zhu J, Shu J. Influence of vitamin D supplementation on lipid levels in polycystic ovary syndrome patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Int Med Res* [Internet]. 2020 [pristupljeno: 12.06.2021.];48(8):300060520935313. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7418257/>
  60. Łagowska K, Bajerska J, Jamka M. The Role of Vitamin D Oral Supplementation in Insulin Resistance in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients.* 2018;10(11):1637.
  61. Butts SF, Seifer DB, Koelper N, Senapati S, Sammel MD, Hoofnagle AN i sur. Vitamin D Deficiency Is Associated With Poor Ovarian Stimulation Outcome in PCOS but Not Unexplained Infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(2):369-78.

62. Kadoura S, Alhalabi M, Nattouf AH. Effect of Calcium and Vitamin D Supplements as an Adjuvant Therapy to Metformin on Menstrual Cycle Abnormalities, Hormonal Profile, and IGF-1 System in Polycystic Ovary Syndrome Patients: A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Adv Pharmacol Sci* [Internet]. 2019 [pristupljeno: 13.06.2021.];2019:9680390. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6636596/>
63. Rasheedy R, Sammour H, Elkholy A, Salim Y. The efficacy of vitamin D combined with clomiphene citrate in ovulation induction in overweight women with polycystic ovary syndrome: a double blind, randomized clinical trial. *Endocrine*. 2020;69(2):393-401.
64. Zhao J, Liu S, Wang Y, Wang P, Qu D, Liu M i sur. Vitamin D improves in-vitro fertilization outcomes in infertile women with polycystic ovary syndrome and insulin resistance. *Minerva Med*. 2019;110(3):199-208..
65. Fatemi F, Mohammadzadeh A, Sadeghi MR, Akhondi MM, Mohammadmoradi S, Kamali K i sur. Role of vitamin E and D<sub>3</sub> supplementation in Intra-Cytoplasmic Sperm Injection outcomes of women with polycystic ovarian syndrome: A double blinded randomized placebo-controlled trial. *Clin Nutr ESPEN*. 2017;18:23-30.
66. Tal R., Seifer D.B. Ovarian reserve testing: A user's guide. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 2017;217(2):129–40
67. Seifer DB, Maclaughlin DT. Mullerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil Steril*. 2007;88(3):539-46.
68. Tal R, Seifer DB. The role of AMH in assisted reproduction: In *The Ovary*, 3. izd. Leung PCK, Adashi EY, eds. London: Elsevier; 2019. Str. 403–414.
69. Xu J, Hennebold JD, Seifer DB. Direct vitamin D<sub>3</sub> actions on rhesus macaque follicles in three-dimensional culture: assessment of follicle survival, growth, steroid, and antimüllerian hormone production. *Fertil Steril*. 2016;106(7):1815-20.
70. Wojtusik J, Johnson PA. Vitamin D regulates anti-Mullerian hormone expression in granulosa cells of the hen. *Biol Reprod*. 2012;86(3):91.
71. Merhi ZO, Seifer DB, Weedon J, Adeyemi O, Holman S, Anastos K i sur. Circulating vitamin D correlates with serum antimüllerian hormone levels in late-reproductive-aged women: Women's Interagency HIV Study. *Fertil Steril*. 2012;98(1):228-34.
72. Jukic AMZ, Baird DD, Wilcox AJ, Weinberg CR, Steiner AZ. 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D) and biomarkers of ovarian reserve. *Menopause*. 2018;25(7):811-6.

73. Wong HYQ, Li HWR, Lam KSL, Tam S, Shek CC, Lee CYV i sur. Independent association of serum vitamin D with anti-Mullerian hormone levels in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2018;89(5):634-41.
74. Drakopoulos P, van de Vijver A, Schutyser V, Milatovic S, Anckaert E, Schiettecatte J i sur. The effect of serum vitamin D levels on ovarian reserve markers: a prospective cross-sectional study. *Hum Reprod*. 2017;32(1):208-14.
75. Lata I, Tiwari S, Gupta A, Yadav S, Yadav S. To Study the Vitamin D Levels in Infertile Females and Correlation of Vitamin D Deficiency with AMH Levels in Comparison to Fertile Females. *J Hum Reprod Sci*. 2017;10(2):86-90.
76. Shapiro AJ, Darmon SK, Barad DH, Gleicher N, Kushnir VA. Vitamin D levels are not associated with ovarian reserve in a group of infertile women with a high prevalence of diminished ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2018;110(4):761-6.
77. Neville G, Martyn F, Kilbane M, O'Riordan M, Wingfield M, McKenna M i sur. Vitamin D status and fertility outcomes during winter among couples undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Int J Gynaecol Obstet*. 2016;135(2):172-6.
78. Kim S, Kim JJ, Kim MJ, Han KH, Lee JR, Suh CS i sur. Relationship between serum anti-Mullerian hormone with vitamin D and metabolic syndrome risk factors in late reproductive-age women. *Gynecol Endocrinol*. 2018;34(4):327-31.
79. Bakeer E, Radwan R, El Mandoury A, El Rahman AA, Gad M, El Maksoud SA. Anti-Müllerian Hormone as a Diagnostic Marker in Egyptian Infertile Polycystic Ovary Syndrome Females: Correlations with Vitamin D, Total Testosterone, Dyslipidemia and Anthropometric Parameters. *J Med Biochem*. 2018;37(4):448-55.
80. Arslan E, Gorkem U, Togrul C. Is There a Relationship Between Vitamin D Deficiency Status and PCOS in Infertile Women? *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2019;79(7):723-30.
81. Xu Z, Wang Q, Zhu L, Ma L, Ye X, Li C i sur. Correlation of serum vitamin d levels with ovarian reserve markers in patients with primary ovarian insufficiency. *Int. J. Clin. Exp. Med*. 2019;12(4):4147-53.
82. Bednarska-Czerwińska A, Olszak-Wąsik K, Olejek A, Czerwiński M, Tukiendorf AA. Vitamin D and Anti-Müllerian Hormone Levels in Infertility Treatment: The Change-Point Problem. *Nutrients*. 2019;11(5):1053.

83. Dennis NA, Houghton LA, Jones GT, van Rij AM, Morgan K, McLennan IS. The level of serum anti-Müllerian hormone correlates with vitamin D status in men and women but not in boys. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(7):2450-5.
84. Dennis NA, Houghton LA, Pankhurst MW, Harper MJ, McLennan IS. Acute Supplementation with High Dose Vitamin D3 Increases Serum Anti-Müllerian Hormone in Young Women. *Nutrients.* 2017;9(7):719.
85. Naderi Z, Kashanian M, Chenari L, Sheikhsari N. Evaluating the effects of administration of 25-hydroxyvitamin D supplement on serum anti-mullerian hormone (AMH) levels in infertile women. *Gynecol Endocrinol.* 2018;34(5):409-12.
86. Irani M, Minkoff H, Seifer DB, Merhi Z. Vitamin D increases serum levels of the soluble receptor for advanced glycation end products in women with PCOS. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(5):E886-90.
87. Dastorani M, Aghadavod E, Mirhosseini N, Foroozanfard F, Zadeh Modarres S, Amiri Siavashani M i sur. The effects of vitamin D supplementation on metabolic profiles and gene expression of insulin and lipid metabolism in infertile polycystic ovary syndrome candidates for in vitro fertilization. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):94.
88. Cappy H, Giacobini P, Pigny P, Bruyneel A, Leroy-Billiard M, Dewailly D i sur. Low vitamin D3 and high anti-Müllerian hormone serum levels in the polycystic ovary syndrome (PCOS): Is there a link? *Ann Endocrinol (Paris).* 2016;77(5):593-9.
89. Moridi I, Chen A, Tal O, Tal R. The Association between Vitamin D and Anti-Müllerian Hormone: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2020;12(6):1567.
90. Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18(2):177-200.
91. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(5):261-75.
92. Miyashita M, Koga K, Izumi G, Sue F, Makabe T, Taguchi A i sur. Effects of 1,25-Dihydroxy Vitamin D3 on Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(6):2371-9.

93. Delbandi AA, Mahmoudi M, Shervin A, Zarnani AH. 1,25-Dihydroxy Vitamin D3 Modulates Endometriosis-Related Features of Human Endometriotic Stromal Cells. *Am J Reprod Immunol.* 2016;75(4):461-73.
94. Van Etten E, Decallonne B, Verlinden L, Verstuyf A, Bouillon R, Mathieu C. Analogs of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 as pluripotent immunomodulators. *J Cell Biochem.* 2003;88(2):223-6.
95. Qiu Y, Yuan S, Wang H. Vitamin D status in endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2020;302(1):141-52.
96. Kalaitzopoulos DR, Lempesis IG, Athanasaki F, Schizas D, Samartzis EP, Kolibianakis EM i sur. Association between vitamin D and endometriosis: a systematic review. *Hormones (Athens).* 2020;19(2):109-21.
97. Blomberg Jensen M, Nielsen JE, Jørgensen A, Rajpert-De Meyts E, Kristensen DM, Jørgensen N i sur.. Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract. *Hum Reprod.* 2010;25(5):1303-11
98. Corbett ST, Hill O, Nangia AK. Vitamin D receptor found in human sperm. *Urology.* 2006;68(6):1345-9.
99. de Angelis C, Galdiero M, Pivonello C, Garifalos F, Menafra D, Cariati F i sur. The role of vitamin D in male fertility: A focus on the testis. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017;18(3):285-305.
100. Blomberg Jensen M, Bjerrum PJ, Jessen TE, Nielsen JE, Joensen UN, Olesen IA i sur. Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2011;26(6):1307-17
101. Hofer D, Münzker J, Schwetz V, Ulbing M, Hutz K, Stiegler P i sur. Testicular synthesis and vitamin D action. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(10):3766-73
102. Kwiecinski GG, Petrie GI, DeLuca HF. Vitamin D is necessary for reproductive functions of the male rat. *J Nutr.* 1989;119(5):741-4.
103. Uhland AM, Kwiecinski GG, DeLuca HF. Normalization of serum calcium restores fertility in vitamin D-deficient male rats. *J Nutr,* 1992;122(6):1338-44
104. Arab A, Hadi A, Moosavian SP, Askari G, Nasirian M. The association between serum vitamin D, fertility and semen quality: A systematic review and meta-analysis. *Int J Surg.* 2019;71:101-9.
105. Tartagni M, Matteo M, Baldini D, Tartagni MV, Alrasheed H, De Salvia MA i sur. Males with low serum levels of vitamin D have lower pregnancy rates when



ovulation induction and timed intercourse are used as a treatment for infertile couples: results from a pilot study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015;13:127.

## 7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 11.12.1996. u Zadru. Nakon završene osnovne škole, upisala sam Gimnaziju Jurja Barakovića u Zadru gdje sam i maturirala 2015. godine. Iste godine upisujem Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Pasivna sam članica kirurške sekcije, 2019. godine sam volontirala na projektu "mRAK". Aktivno se služim engleskim i njemačkim, a psivno talijanskim jezikom.