

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



LÊ QUANG TOÀN

**NGHIÊN CỨU MỐI LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ  
25-HYDROXYVITAMIN D HUYẾT TƯƠNG VỚI KHÁNG  
INSULIN VÀ HIỆU QUẢ BỔ SUNG VITAMIN D ĐỐI VỚI  
KHÁNG INSULIN TRONG ĐÁI THÁO ĐƯỜNG THAI KỲ**

Chuyên ngành: Nội tiết

Mã số: 62720145

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**HÀ NỘI – 2016**

**CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH  
TẠI TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**

Người hướng dẫn khoa học:

**1. PGS.TS. Đỗ Trung Quân**

**2. TS. Nguyễn Văn Tiến**

**Phản biện 1: PGS.TS. Hoàng Trung Vinh**

**Phản biện 2: GS.TS. Nguyễn Hải Thủy**

**Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Khoa Diệu Vân**

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường  
vào hồi:           giờ, ngày       tháng       năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia

- Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội
- Thư viện thông tin Y học Trung ương

## DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. Lê Quang Toàn, Đỗ Trung Quân, Nguyễn Văn Tiến (2014). Nhận xét hiệu quả bổ sung vitamin D lên kháng insulin trong đái tháo đường thai kỳ. *Tạp chí Y học thực hành*, 8 (928), 53 – 55.
2. Lê Quang Toàn, Đỗ Trung Quân, Nguyễn Văn Tiến (2014). Mối liên an giữa vitamin D với kháng insulin ở phụ nữ mắc đái tháo đường thai kỳ. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 91 (6), 31 – 37.



### CÁC CHỮ VIẾT TẮT

1,25(OH) <sub>2</sub> D	1,25-dihydroxyvitamin D
25(OH)D	25-hydroxyvitamin D
ĐTĐ/ĐTĐTK	Đái tháo đường/Đái tháo đường thai kỳ
GHt	Glucose huyết tương
HbA1c	Hemoglobin glycosyl hóa A1c
HOMA	Mô hình cân bằng nội môi
HOMA2-IR-Cp	HOMA2-IR theo glucose và C-peptid Ht lúc đói
HOMA2-IR-In	HOMA2-IR theo glucose và insulin Ht lúc đói
Ht	Huyết tương
KI	Kháng insulin
MT	Mang thai
Nđ	Nồng độ
NPDNG	Nghiệm pháp dung nạp glucose

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiếu vitamin D rất phổ biến trên thế giới và phụ nữ mang thai là nhóm có nguy cơ cao bị thiếu vitamin D. Ở Việt Nam thiếu vitamin D ở phụ nữ cũng rất phổ biến với tỷ lệ từ 52,0 – 60,0%. Trong vài thập kỷ gần đây nhiều vai trò khác của vitamin D, ngoài các vai trò kinh điển, được phát hiện, trong đó có vai trò đối với kháng insulin (KI) trong đái tháo đường thai kỳ (ĐTĐTK).

Tỷ lệ ĐTĐTK đang gia tăng nhanh trong thời gian gần đây trên thế giới và Việt Nam, lên đến 20,3% theo tiêu chuẩn chẩn đoán mới tại một đô thị lớn. Bệnh gây nhiều hậu quả cho cả mẹ và thai nhi nếu không được chẩn đoán và điều trị kịp thời, hiệu quả. Hai yếu tố bệnh sinh cơ bản của ĐTĐTK là suy giảm chức năng tế bào beta của tiểu đảo tụy và KI, bao gồm KI sinh lý của thai nghén và KI mạn tính có từ trước mang thai. Hiện nay các thuốc uống hạ glucose máu với cơ chế giảm kháng insulin hay tăng bài tiết insulin chưa được chấp thuận cho sử dụng ở thai phụ mắc ĐTĐTK. Vì vậy nghiên cứu các yếu tố có hiệu quả làm giảm KI và có thể sử dụng ở phụ nữ mắc ĐTĐTK có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

Nồng độ 25-hydroxyvitamin D huyết tương – chỉ số đánh giá tình trạng vitamin D - có tương quan nghịch với KI và bổ sung vitamin D so với placebo hoặc bổ sung vitamin D liều cao so với liều

thấp có hiệu quả giảm KI, cải thiện glucose máu trong một số nghiên cứu. Tuy nhiên, các nghiên cứu này bao gồm cả phụ nữ mắc và không mắc ĐTĐTK, có thiếu và không thiếu vitamin D. Vì vậy nghiên cứu mối liên quan này chỉ riêng ở phụ nữ mắc ĐTĐTK và hiệu quả bổ sung vitamin D đối với kháng insulin chỉ riêng ở phụ nữ mắc ĐTĐTK mà có thiếu vitamin D là cần thiết. Mặt khác ở Việt Nam chưa có nghiên cứu đề cập đến các vấn đề này.

Vi vậy chúng tôi tiến hành đề tài “**Nghiên cứu mối liên quan giữa nồng độ 25-hydroxyvitamin D huyết tương với kháng insulin và hiệu quả bổ sung vitamin D đối với kháng insulin trong đái tháo đường thai kỳ**” với các mục tiêu sau:

1. *Xác định tỷ lệ thiếu vitamin D ở phụ nữ mắc đái tháo đường thai kỳ đến khám tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương và Bệnh viện Nội tiết Trung ương.*
2. *Khảo sát mối liên quan giữa nồng độ 25-hydroxyvitamin D huyết tương với kháng insulin ở phụ nữ mắc đái tháo đường thai kỳ.*
3. *Bước đầu nhận xét hiệu quả của bổ sung vitamin D đối với kháng insulin ở phụ nữ mắc đái tháo đường thai kỳ có thiếu vitamin D.*

### **Những điểm mới về mặt khoa học và giá trị thực tiễn của đề tài**

- Đề tài xác định được tỷ lệ thiếu vitamin D ở phụ nữ mắc ĐTĐTK, làm cơ sở cho xây dựng khuyến cáo về sàng lọc phát hiện thiếu vitamin D và bổ sung vitamin D cho nhóm đối tượng này.

- Kết quả của đề tài khẳng định nồng độ 25(OH)D huyết tương có liên quan nghịch với kháng insulin ở phụ nữ mắc ĐTĐTK và xác định được hiệu quả vượt trội của bổ sung vitamin D liều cao hơn so với liều thấp hơn về làm giảm sự gia tăng của kháng insulin từ giữa thai kỳ đến cuối thai kỳ. Đây là cơ sở để đưa ra khuyến cáo bổ sung vitamin D cho phụ nữ mắc ĐTĐTK và có thiếu vitamin D, cũng như cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về hiệu quả của bổ sung vitamin D trong dự phòng và điều trị hỗ trợ ĐTĐTK.

### **Cấu trúc của luận án**

Luận án này gồm 117 trang (không kể tài liệu tham khảo và phụ lục), với 4 chương, 27 bảng, 12 biểu đồ, 6 hình và 143 tài liệu tham khảo. Đặt vấn đề 3 trang, tổng quan tài liệu 36 trang, đối

tượng và phương pháp nghiên cứu 16 trang, kết quả nghiên cứu 26 trang, bản luận 34 trang, kết luận 2 trang và kiến nghị 1 trang.

## **Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

### **1.1. Tổng quan về vitamin D**

#### **1.1.1. Bản chất hóa học và chuyển hóa của vitamin D**

Vitamin D gồm 2 loại là Cholecalciferol (Vitamin D3) và Ergocalciferol (Vitamin D2). Khi đi vào máu vitamin D được hydroxyl hóa lần đầu ở gan để tạo ra 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) và lần thứ 2 ở thận để chuyển thành 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)<sub>2</sub>D) – chất chuyển hóa có tác dụng sinh học, nên được coi là một hormon.

#### **1.1.2. Đánh giá tình trạng vitamin D**

Nđ 25(OH)D Ht được chọn là chỉ số đánh giá tình trạng vitamin D vì liên quan trực tiếp với thu nhập vitamin D, có thời gian bán hủy dài nhất và không chịu tác động của các yếu tố điều hòa so với vitamin D và 1,25(OH)<sub>2</sub>D.

Hiện nay chưa có sự đồng thuận rộng rãi về tiêu chuẩn đánh giá tình trạng thiếu vitamin D (bảng 1.2). Tiêu chuẩn của Hội Nội tiết Mỹ năm 2011 được đa số các tác giả trên thế giới ủng hộ và dựa trên các bằng chứng từ các nghiên cứu về mối liên quan giữa Nđ 25(OH)D Ht với hormon cận giáp trạng, hấp thụ calci ở ruột và các hậu quả của thiếu vitamin D ở xương.

**Bảng 1.1. Các tiêu chuẩn phân loại tình trạng vitamin D**

Tác giả	Tình trạng vitamin D theo Nđ 25(OH)D huyết tương (nmol/L)			
	Thiếu nặng	Thiếu nhẹ	Đủ	Ngộ độc
Hollis 2005	< 80		80 - 225	> 225
Holick 2007	<50	50 - <75	75 - 225	> 225
Viện Y học Mỹ 2010	< 30	30 - <50	≥ 50	
Hội Nội tiết Mỹ 2011	< 50	50 - <75	75 - 250	> 250

#### **1.1.3. Thiếu vitamin D**

Thiếu vitamin D là tình trạng rất phổ biến, đặc biệt là phụ nữ mang thai trên thế giới. Ở Việt Nam thiếu vitamin D ở phụ nữ cũng rất phổ biến với tỷ lệ từ 52,0 – 60,0%.

#### **1.1.4. Khuyến cáo về bổ sung vitamin D và điều trị thiếu vitamin D**

Hiện nay cũng chưa có sự đồng thuận về khuyến cáo bổ sung

vitamin D và điều trị thiếu vitamin D. Viện Y học Mỹ khuyến cáo nhu cầu vitamin D hàng ngày cho người lớn là 600 IU/ngày (2010). Hội Nội tiết Mỹ (2011) khuyến cáo nhu cầu vitamin D đối với phụ nữ mang thai là 600 IU/ngày, cho thai phụ có nguy cơ bị thiếu vitamin D là 600–1000 IU/ngày ở tuổi 14–18 và 1500–2000 IU/ngày ở tuổi 19-50.

\* ***Giới hạn dung nạp trên về vitamin D*** cho người lớn (kể cả phụ nữ mang thai) theo Viện Y học Mỹ là 4.000 IU/ngày (2010) và theo Hội Nội tiết Mỹ năm là 10.000 IU/ngày (2011).

## **1.2. Đái tháo đường thai kỳ và kháng insulin**

### **1.2.1. Định nghĩa và tiêu chuẩn chẩn đoán ĐTĐTK**

ĐTĐTK là tình trạng rối loạn dung nạp glucose ở bất kỳ mức độ nào, khởi phát hoặc được phát hiện lần đầu tiên trong lúc mang thai theo định nghĩa của WHO năm 1999. Đến 2010, Hội Quốc tế các nhóm nghiên cứu ĐTĐ trong thai nghén (IADPSG) phân biệt 2 thể ĐTĐ phát hiện lần đầu ở phụ nữ mang thai: 1) ĐTĐTK và 2) “ĐTĐ rõ” - được chẩn đoán khi có glucose máu đạt ngưỡng chẩn đoán ở người không mang thai, tiêu chuẩn được Hội ĐTĐ Mỹ áp dụng từ 2011 và WHO khuyến cáo từ 2013:

**Bảng 1.2. Phân loại và tiêu chuẩn chẩn đoán tăng glucose máu phát hiện lần đầu ở phụ nữ mang thai (ADA 2011, WHO 2013)**

<b>Tiêu chí</b>	<b>ĐTĐ thai kỳ<sup>a</sup></b>	<b>ĐTĐ rõ/ĐTĐ mang thai<sup>a</sup></b>
GHt lúc đói <sup>b</sup>	5,6 – 6,9	≥ 7,0
GHt 1 giờ <sup>b</sup>	≥ 10,0	-
GHt 2 giờ <sup>b</sup>	8,5 – 11,0	≥ 11,1
GHt bất kỳ <sup>c</sup>	-	≥ 11,1

*Chú thích:* Đơn vị glucose máu là mmol/L, <sup>a</sup>: Chẩn đoán khi có ≥ 1 tiêu chuẩn; <sup>b</sup>: Kết quả NPDNG; <sup>c</sup>: + triệu chứng lâm sàng.

### **1.2.2. Kháng insulin trong ĐTĐTK**

KI là tình trạng khi nồng độ (Nd) bình thường của insulin tạo ra các đáp ứng sinh học thấp hơn bình thường về kích thích các quá trình thu nhận glucose vào tế bào, tổng hợp glycogen, tổng lipid và ức chế các quá trình ly giải glycogen, tân tạo glucose, ly giải lipid.

KI ở phụ nữ mắc ĐTĐTK bao gồm KI sinh lý của thai nghén và KI mạn tính có từ trước mang thai, cao hơn so với thai phụ không mắc ĐTĐTK, bắt đầu tăng từ nửa sau của thai kỳ và tăng



dẫn cho đến trước khi đẻ. KI trong thai nghén và ĐTĐTK liên quan đến sự tăng tổng hợp, bài tiết các hormon nhau thai và các cytokin viêm, tăng khối lượng mỡ cơ thể của mẹ và các yếu tố khác.

### **1.2.3. Đánh giá KI bằng mô hình cân bằng nội môi (HOMA)**

Đánh giá KI bằng HOMA (Homeostasis Model Assessment) được xây dựng dựa trên mối tương tác giữa nồng độ glucose và insulin huyết tương (Ht) ở trạng thái ổn định lúc đói, từ các phương trình không tuyến tính rút ra từ thực nghiệm.

- HOMA1 do Mathews đề xuất năm 1985, sử dụng phương trình toán học đơn giản để tính chỉ số KI.

- Mô hình HOMA cập nhật, còn gọi là HOMA vi tính hóa hay HOMA2 (Đại học Oxford, Anh) so với HOMA1 có các ưu điểm chính sau: Đánh giá KI chính xác hơn bằng chương trình vi tính, có thể sử dụng xét nghiệm insulin toàn phần hoặc insulin đặc hiệu, C-peptid có thể thay thế cho insulin.

Ưu điểm chính của HOMA: thực hiện đơn giản nhưng kết quả tương quan chặt chẽ với phương pháp tham chiếu là kỹ thuật kẹp insulin (hệ số tương quan r từ 0,73 - 0,87).

### **1.2.4. Nghiên cứu về vitamin D và KI trong ĐTĐTK**

Nđ 25(OH)D có tương quan nghịch với kháng insulin ở phụ nữ mang thai mắc và không mắc ĐTĐTK cả khi được hiệu chỉnh bởi các yếu tố khác liên quan với kháng insulin (Maghbooli 2008, Lacroix 2014). Bổ sung vitamin D so với placebo (2 NC của Asemi 2013) hoặc bổ sung liều cao vitamin D so với liều thấp (Soheilykhah 2013) làm giảm tuyệt đối hoặc giảm sự gia tăng kháng insulin ở phụ nữ mang thai mắc và không mắc ĐTĐTK.

### **1.2.5. Cơ chế tác động của vitamin D lên KI**

Vitamin D làm giảm KI thông qua các cơ chế: 1) Tăng biểu lộ thụ thể insulin; 2) Kích thích tổng hợp PPAR $\delta$  - yếu tố sao mã các gen tổng hợp các protein tham gia chuyển hóa lipid; 3) Điều hòa cân bằng nội môi calci và ổn định calci nội bào; 4) Ức chế tổng hợp các cytokin viêm gây KI và 5) Ức chế hệ renin-angiotensin.

## **Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Đối tượng NC là các thai phụ ở tuần thai 24 – 28 tại BV Phụ sản TW và BV Nội tiết TW, gồm 2 nhóm :

- Nhóm mắc ĐTĐTK
  - Nhóm chứng [không mắc ĐTĐTK –(KĐTĐTK)]
- ĐTĐ TK được xác định theo tiêu chuẩn Hội ĐTĐ Mỹ 2011:

**Bảng 2.1. Tiêu chuẩn chẩn đoán ĐTĐTK bằng NPDNG uống 75g theo Hội ĐTĐ Mỹ 2011**

Thời điểm	Nđ glucose Ht tĩnh mạch (mmol/L)
Lúc đói	5,1 - 6,9
1 giờ	≥10,0
2 giờ	8,5 - 11,0

**- Tiêu chuẩn chọn nhóm ĐTĐTK bổ sung vitamin D**

Thai phụ được chẩn đoán ĐTĐTK như trên và có thiếu vitamin D theo tiêu chuẩn của Hội Nội tiết Mỹ 2011 (bảng 2.2).

**Bảng 2.2. Tình trạng vitamin D theo Hội Nội tiết Mỹ 2011**

Tình trạng vitamin D	Nđ 25(OH)D huyết tương (nmol/L)
Thiếu nặng (deficiency)	< 50
Thiếu nhẹ (insufficiency)	50 – <75
Đủ (sufficiency)	75 - 250

**- Tiêu chuẩn loại trừ đối với nhóm ĐTĐTK**

1) ĐTĐ trước khi có thai hoặc ĐTĐ mang thai; 2) Đã/đang mắc các bệnh ảnh hưởng đến chuyển hoá glucose; 3) Đang dùng các thuốc ảnh hưởng đến chuyển hoá glucose; 4) Đang dùng các thuốc có chứa vitamin D; 5) Đang mắc các bệnh cấp tính; 6) Đang bị nhiễm độc thai nghén và 6) Không đồng ý tham gia nghiên cứu

**- Tiêu chuẩn loại trừ đối với các nhóm bổ sung vitamin D**

- Đang dùng các thuốc chứa vitamin D
- Có tăng calci máu: Calci toàn phần Ht > 2,5 mmol/L

**- Tiêu chuẩn loại trừ đối với nhóm chứng**

1) Tiền sử gia đình ĐTĐ; 2) Tiền sử ĐTĐTK ở lần mang thai trước; 3) Tiền sử THA, rối loạn lipid máu; 4) BMI trước mang thai ≥ 23kg/m<sup>2</sup>; 5) Tiền sử sản khoa xấu.

**2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu**

Nghiên cứu được tiến hành tại BV Phụ Sản TW và BV Nội tiết TW từ tháng 4/2012 đến tháng 4/2014.

**2.3. Thiết kế nghiên cứu:** Thiết kế NC mô tả để giải quyết các mục tiêu 1 và 2, thiết kế NC can thiệp có đối chứng so sánh 2 liều vitamin D về hiệu quả đối với KI để giải quyết mục tiêu 3

**2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu:** Là cỡ mẫu lớn nhất trong các cỡ mẫu cho 3 mục tiêu của đề tài: cỡ mẫu xác định tỷ lệ thiếu vitamin D, cỡ mẫu khảo sát tương quan tuyến tính giữa Nđ 25(OH)D Ht với HOMA2-IR, cỡ mẫu so sánh HOMA2-IR giữa 2 nhóm sau bổ sung vitamin D. Cỡ mẫu chung là 95 thai phụ mắc ĐTĐTK. Cỡ mẫu thực tế của nhóm ĐTĐTK là 104, nhóm chứng là 55.

### 2.5. Tiến hành nghiên cứu

**2.5.1. Chọn mẫu:** Chọn mẫu tích lũy và phân bổ ngẫu nhiên khối.

#### 2.5.2. Can thiệp bổ sung vitamin D

Các thai phụ mắc ĐTĐTK, có thiếu vitamin D và đồng ý tham gia nghiên cứu được phân bổ ngẫu nhiên vào 2 nhóm dùng vitamin D3: Nhóm dùng liều 500IU/ngày (khuyến cáo của Viện Y Học Mỹ) và nhóm dùng liều 1500 IU/ngày (khuyến cáo của Hội Nội tiết Mỹ).

Chế phẩm vitamin D3: Aquadetrim của hãng Medana Pharma (Ba Lan): dung dịch vitamin D3 hàm lượng 15.000 UI/ml, 500 IU/giọt (có bộ phận nhỏ giọt gắn liền), lọ 10 ml.

Thai phụ không dùng các thuốc khác có chứa vitamin D trong thời gian can thiệp.

Các lần khám đánh giá sau lần khám (LK) 1: Lần khám 2 vào tuần thai 31 – 33 và lần khám 3 vào tuần thai 36 – 38.

#### 2.5.3. Các số liệu thu thập tại các lần khám

**Bảng 2.3. Các số liệu thu thập tại các lần khám (đánh dấu x)**

Thông số	LK 1		LK 2	LK 3
	KĐTĐTK	ĐTĐTK	ĐTĐTK	
Tuổi	x	x		
Tiền sử ĐTĐ, thai sản	x	x		
Tuần thai	x	x	x	x
Cân nặng trước MT	x	x		
Cân nặng tại LK	x	x	x	x
Chiều cao	x	x		
GHt lúc đói	x	x	x	x
HbA1c		x	x	x
Insulin Ht lúc đói	x	x		x

C-peptid Ht lúc đói		x		x
Triglycerid Ht lúc đói		x		
HDL-C Ht lúc đói		x		
Calci ion và toàn phần Ht		x	x	x
25(OH)D Ht	x	x		x

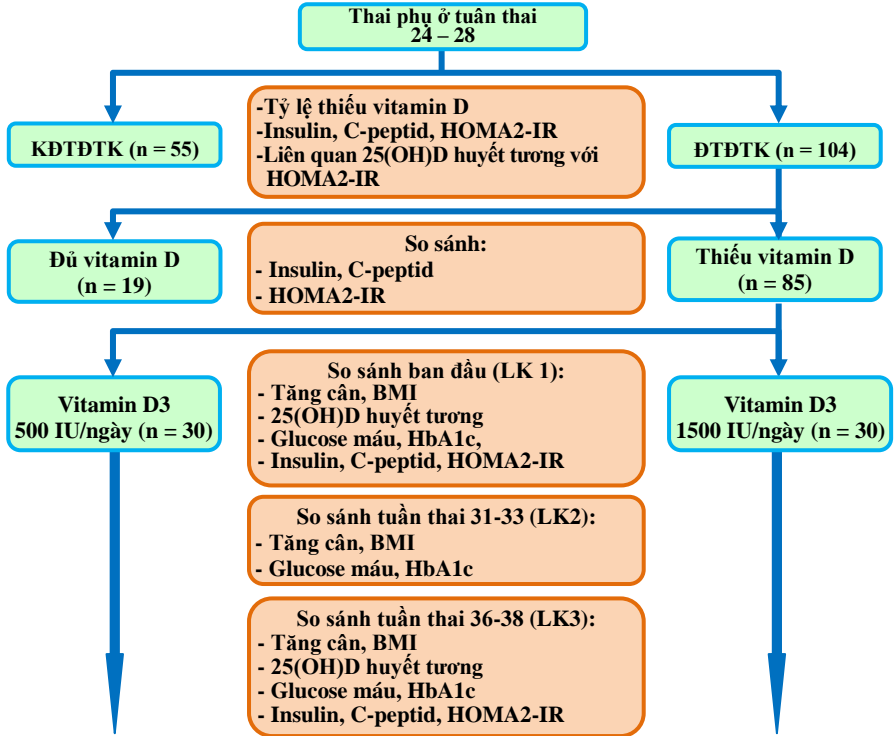
#### **2.5.4. Điều trị ĐTĐTK**

Tất cả các thai phụ được chẩn đoán ĐTĐTK được theo dõi điều trị tại BV Nội tiết TW bằng hướng dẫn như nhau về chế độ luyện tập, ăn uống. Sau 2 tuần áp dụng chế độ ăn và luyện tập, nếu glucose máu không đạt mục tiêu điều trị, insulin được kết hợp.

### **2.6. Phương pháp thu thập số liệu**

#### **2.6.1. Hỏi bệnh/phỏng vấn, đo các chỉ số nhân trắc**

- Thu thập thông tin dân số học, tiền sử bản thân, gia đình và sản khoa, cân nặng trước khi mang thai, tuần thai.
- Đo cân nặng, chiều cao



Hình 2.1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

### 2.6.2. Xét nghiệm hóa sinh

- NPDNG uống 75g 3 thời điểm
- Định lượng insulin, C-peptid Ht bằng phương pháp miễn dịch hoá phát quang (kit của Roche, máy Hitachi E170, tại BV Nội tiết TW).
- Định lượng 25(OH)D Ht bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang (kit Architech 25(OH)D của Abbott, trên máy Architech j2000 tại Viện Dinh dưỡng).

### 2.7. Các tiêu chuẩn chẩn đoán và đánh giá

- ĐTĐTK được chẩn đoán theo tiêu chuẩn của Hội Đái tháo đường Mỹ 2011 bằng NPDNG uống 75g.
- Đánh giá tình trạng vitamin D theo Hội Nội tiết Mỹ năm 2011.
- Đánh giá chỉ số khối cơ thể (BMI) của thai phụ trước mang thai theo tiêu chuẩn của Hiệp hội ĐTD quốc tế giành cho người châu Á:  
Tăng: BMI  $\geq 23,0$  kg/m<sup>2</sup>; Không tăng: BMI < 23,0 kg/m<sup>2</sup>

- Đánh giá insulin và C-peptid Ht lúc đói: lấy ngưỡng bình thường là  $\geq 1$ SD của nhóm chứng (KĐTĐTK).

- Đánh giá kháng insulin bằng HOMA2 calculator phiên bản 2.2.3.năm 2013 của Đại học Oxford, Vương quốc Anh:

Chỉ số HOMA2 KI bằng Nđ glucose với insulin HT lúc đói (HOMA2-IR-In) và C-peptid Ht lúc đói (HOMA2-IR-Cp).

- Xác định KI: Lấy điểm cắt tứ phân vị trên của HOMA-IR của nhóm chứng theo WHO 1999.

## 2.8. Xử lý và phân tích số liệu

Sử dụng các phần mềm thống kê SPSS 13.0.

- Mục tiêu 1: Tính tỷ lệ thiếu vitamin D bằng phần trăm.

- Mục tiêu 2: Khảo sát tương quan tuyến tính giữa Nđ 25(OH)D Ht với các chỉ số HOMA2-IR; liên quan giữa thiếu vitamin D với các chỉ số HOMA2-IR (so sánh giá trị HOMA2-IR).

- Mục tiêu 3: So sánh giữa 2 nhóm bổ sung vitamin D về các chỉ số HOMA-IR sau bổ sung vitamin D.

## Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Các đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

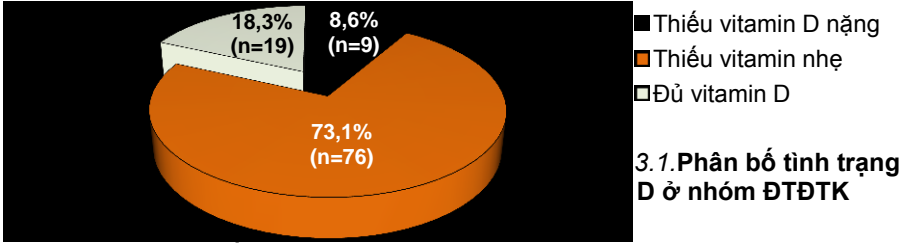
Tổng số 104 phụ nữ mắc ĐTĐTK và 55 thai phụ không mắc ĐTĐTK xác định ở tuần thai 24 – 28 được đưa vào nghiên cứu.

**Bảng 3.1. Phân bố đối tượng theo nhóm tuổi và tuổi trung bình**

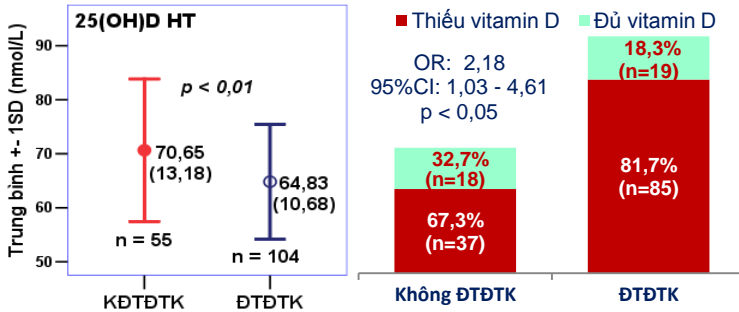
Nhóm tuổi	KĐTĐTK (n = 55)		ĐTĐTK (n = 104)		P
	n	Tỷ lệ %	n	Tỷ lệ %	
< 25	9	16,4	5	4,8	< 0,05
25 – 29	21	38,2	39	37,5	> 0,05
30 - 34	20	36,3	36	34,6	> 0,05
$\geq 35$	5	9,1	24	23,1	< 0,05
SD	28,9 $\pm$ 4,3		30,8 $\pm$ 4,4		0,01

- **Tuần thai:** Giữa 2 nhóm ĐTĐTK và KĐTĐTK không có khác biệt về phân bố theo tuần thai và về tuần thai trung bình (giá trị tương ứng của 2 nhóm là  $26,6 \pm 1,3$  và  $26,9 \pm 1,3$  tuần,  $p > 0,05$ ).

### 3.2. Tình trạng vitamin D và một số yếu tố liên quan



Tỷ lệ thiếu vitamin D ở nhóm ĐTĐTK là 81,7%



**Biểu đồ 3.2. Tình trạng vitamin D ở nhóm KĐTĐTK và ĐTĐTK**

Chú thích: Giá trị trình bày là  $\blacksquare$  SD)

Nhóm ĐTĐTK có Nđ 25(OH)D Ht thấp hơn và tỷ lệ thiếu vitamin D cao hơn có YNTK, nguy cơ mắc ĐTĐTK do thiếu vitamin D tăng 2,18 lần (95%CI 1,03 – 4,61) (biểu đồ 3.2)

**Bảng 3.2. Tương quan tuyến tính giữa nồng độ 25(OH)D huyết tương và một số yếu tố ở nhóm ĐTĐTK**

Yếu tố	Hệ số r	Giá trị p
Tuổi mẹ	0,130	0,189
Tuần thai	0,019	0,486
BMI trước MT	0,006	0,951
Tăng cân từ khi MT – LK 1	-0,201	<b>0,041</b>
Tăng BMI từ khi MT – LK 1	-0,230	<b>0,019</b>
BMI LK 1	-0,122	0,219

**Bảng 3.3. Tương quan giữa Nđ 25(OH)D với glucose Ht trong NPĐNG uống**

GHt (mmol/L)	KĐTĐTK (n = 55)	ĐTĐTK (n = 104)	Chung (n = 159)
--------------	-----------------	-----------------	-----------------

	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>
0 giờ	-0,158	0,248	-0,074	0,456	-0,186	<b>0,019</b>
1 giờ	-0,206	0,132	-0,033	0,740	-0,232	<b>0,003</b>
2 giờ	-0,093	0,500	0,106	0,282	-0,117	0,143

Khi gộp chung hai nhóm, nồng độ 25(OH)D Ht có tương quan nghịch có YNTK với nồng độ GHt lúc đói và 1 giờ (bảng 3.3).

### 3.3. Kháng insulin và một số yếu tố liên quan

**Bảng 3.4. Chỉ số HOMA2-IR-In ở nhóm ĐĐTĐTK và KĐTĐTK**

Chỉ số	KĐTĐTK (n = 55)	ĐĐTĐTK (n = 104)	<b>p</b>
SD	1,16 ± 0,44	1,44 ± 0,63	<b>0,001</b>
HOMA2-IR-In	Độ lệch trung bình		24,1%
	Giới hạn trên		1,42
	Tăng (n, %)	13 (23,6%)	45 (43,3%) <b>&lt;0,05</b>

Nhóm ĐĐTĐTK có HOMA2-IR-In trung bình cao hơn 24,1% và tỷ lệ tăng HOMA2-IR-In cao hơn so với nhóm KĐTĐTK (bảng 3.4).

**Bảng 3.5. Các chỉ số HOMA2-IR theo tình trạng BMI trước mang thai ở nhóm ĐĐTĐTK**

BMI trước MT	n	HOMA2-IR-In	HOMA2-IR-Cp
< 23 (kg/m <sup>2</sup> )	86	1,39 ± 0,61	1,45 ± 0,59
≥ 23 (kg/m <sup>2</sup> )	18	1,72 ± 0,67	1,82 ± 0,59
Giá trị p		<b>&lt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,05</b>

Nhóm có tăng BMI trước MT (≥ 23kg/m<sup>2</sup>) có các chỉ số HOMA2-IR cao hơn có YNTK so với nhóm không tăng BMI trước MT (< 23 kg/m<sup>2</sup>) (bảng 3.5).

Các chỉ số HOMA2-IR có tương quan thuận có YNTK với BMI trước MT, tăng cân và tăng BMI từ khi MT đến LK 1, BMI LK 1 và Nđ triglycerid Ht lúc đói (bảng 3.6).

**Bảng 3.6. Tương quan tuyến tính giữa các chỉ số HOMA2-IR với một số yếu tố ở nhóm ĐĐTĐTK (n = 104)**

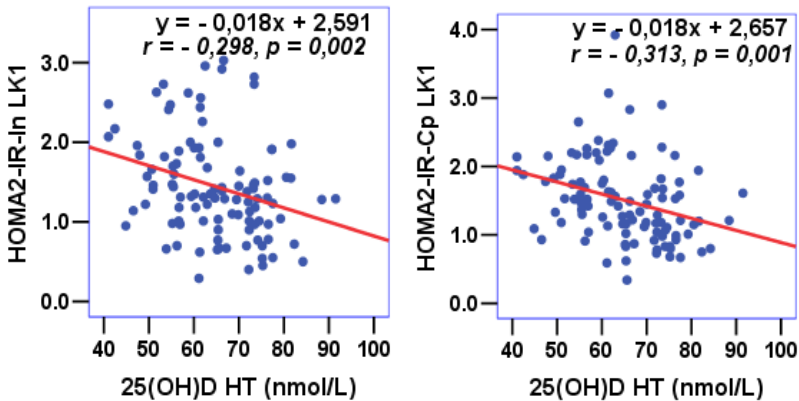
Yếu tố	HOMA2-IR-In		HOMA2-IR-Cp	
	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>



Tuổi mẹ	-0,009	0,913	-0,121	0,220
Tuần thai	0,054	0,203	0,195	<b>0,047</b>
BMI trước MT	0,250	<b>0,001</b>	0,286	<b>0,003</b>
Tăng cân từ khi MT-LK 1	0,354	< <b>0,001</b>	0,274	<b>0,005</b>
BMI LK 1	0,387	< <b>0,001</b>	0,371	< <b>0,001</b>
Tăng BMI từ khi MT-LK 1	0,356	< <b>0,001</b>	0,277	<b>0,004</b>
Triglycerid Ht lúc đói	0,323	<b>0,001</b>	0,197	<b>0,045</b>
HDL-C Ht lúc đói	-0,006	0,952	0,137	0,166

### 3.4. Mối liên quan giữa nồng độ 25(OH)D Ht và kháng insulin

#### 3.4.1. Tương quan tuyến tính giữa Nđ 25(OH)D Ht với KI



**Biểu đồ 3.3. Tương quan giữa Nđ 25(OH)D huyết tương các chỉ số HOMA2-IR**

Nồng độ 25(OH)D Ht có tương quan nghịch có YNTK với các chỉ số HOMA2-IR.

**Bảng 3.7. Tương quan giữa 25(OH)D Ht với các chỉ số HOMA2-IR trong mô hình hồi quy tuyến tính đa biến ở nhóm ĐTĐTK**

Yếu tố	HOMA2-IR-In		HOMA2-IR-Cp	
	Hệ số	<i>p</i>	Hệ số	<i>p</i>
Chung của mô hình	0,464	< <b>0,001</b>	0,496	< <b>0,001</b>

Hằng số	0,218	0,877	-1,809	0,170
Tuần thai	0,040	0,591	0,190	<b>0,039</b>
BMI trước MT	0,158	0,102	0,278	<b>0,003</b>
Tăng BMI từ khi MT-LK1	0,158	0,129	0,121	0,215
25(OH)D Ht	-0,225	<b>0,018</b>	-0,283	<b>0,002</b>
Triglycerid Ht lúc đói	0,199	<b>0,041</b>	0,038	0,688

Nđ 25(OH)D Ht vẫn có tương quan nghịch có YNTK với các chỉ số HOMA-IR trong mô hình hồi quy tuyến tính đa biến.

### 3.4.2. Liên quan giữa tình trạng vitamin D và kháng insulin

**Bảng 3.8. Các chỉ số HOMA2-IR theo tình trạng vitamin D ở nhóm ĐTĐTK**

Chỉ số	Thiếu vitamin D (n = 85)	Đủ vitamin D (n = 19)	p
HOMA2-IR-In	1,51 ± 0,64	1,15 ± 0,50	< <b>0,05</b>
HOMA2-IR-Cp	1,58 ± 0,61	1,20 ± 0,45	< <b>0,05</b>

Nhóm thiếu vitamin D có các chỉ số HOMA2-IR cao hơn có YNTK so với nhóm đủ vitamin D (bảng 3.8).

**Bảng 3.9. Mô hình phân tích phương sai hiệp biến với các chỉ số HOMA2-IR ở nhóm ĐTĐTK**

Yếu tố	HOMA2-IR-In		HOMA2-IR-Cp	
	p	PES	p	PES
Mô hình chung	< <b>0,001</b>	0,211	< <b>0,001</b>	0,206
Hệ số chặn	0,755	0,001	0,383	0,008
Tình trạng vitamin D	<b>0,028</b>	0,048	<b>0,009</b>	0,067
Tăng BMI trước MT	0,082	0,030	<b>0,020</b>	0,054
Tuần thai LK 1	0,729	0,001	0,071	0,033
Tăng BMI từ khi MT-LK1	0,067	0,034	0,102	0,027
Triglycerid Ht lúc đói	<b>0,016</b>	0,057	0,344	0,009

*Chú thích:* PES (Partial Eta Squared): Hệ số ảnh hưởng riêng phần

Trong các mô hình phương sai hiệp biến (đa biến) tình trạng vitamin D vẫn có liên quan có YNTK với HOMA2-IR-In ( $p = 0,028$ ) và HOMA-IR-Cp ( $p = 0,009$ ) (bảng 3.9).

### 3.5. Hiệu quả bổ sung vitamin D đối với kháng insulin

60 thai phụ mắc ĐTĐTK ở tuần thai 24 – 28, có thiếu vitamin D được phân bổ ngẫu nhiên vào 2 nhóm bổ sung vitamin D3 (n = 30 mỗi nhóm): nhóm dùng liều 500IU/ngày và nhóm dùng liều

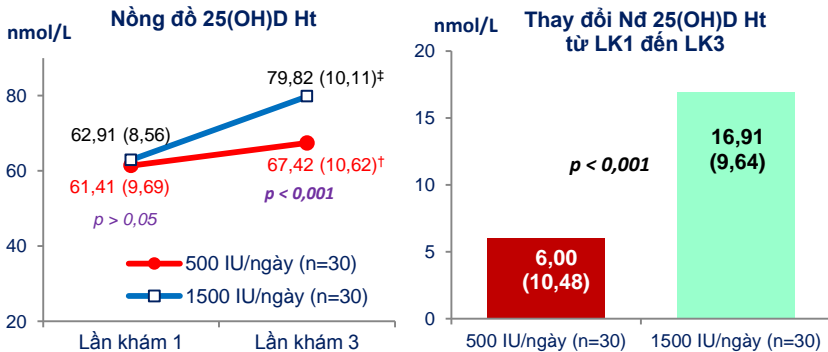
1500IU/ngày.

### 3.5.1. Các đặc điểm của đối tượng nghiên cứu trước và sau bổ sung vitamin D

- Trước bổ sung vitamin D, không có sự khác biệt có YNTK giữa 2 nhóm bổ sung vitamin D về tuổi mẹ, tuần thai, BMI trước MT, tăng cân và tăng BMI từ khi MT đến LK1, BMI ở LK1, tiền sử sản khoa và tiền sử gia đình ĐTĐ, các chỉ số sinh hóa máu và các chỉ số HOMA2-IR.

- Không có sự khác biệt giữa 2 nhóm về tuần thai tại các lần khám 1, 2, 3, về thời gian bổ sung vitamin D ( $9,7 \pm 1,5$  tuần ở nhóm 500 IU/ngày và  $9,9 \pm 1,7$  tuần ở nhóm 1500 IU/ngày,  $p > 0,05$ ), về tăng cân và tăng BMI từ khi MT đến các lần khám 1, 2, 3 và về BMI tại các lần khám 1, 2 và 3.

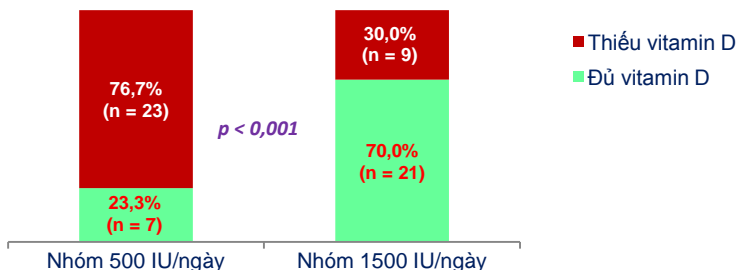
### 3.5.2. Thay đổi về vitamin D sau bổ sung vitamin D



### Biểu đồ 3.4. Nđ 25(OH)D Ht trước và sau bổ sung vitamin D

Chú thích: Giá trị trình bày (SD); p: so sánh giữa 2 nhóm tại mỗi LK; so sánh trong mỗi nhóm giữa LK 1 với LK 3: <sup>†</sup>  $p < 0,01$ , <sup>‡</sup>  $p < 0,001$ .

Sau bổ sung vitamin D nhóm 1500 UI/ngày có nồng độ 25(OH)D Ht cao hơn ( $79,82 \pm 10,11$  so với  $67,41 \pm 10,62$  nmol/L,  $p < 0,001$ ) và mức tăng cao hơn có YNTK ( $16,91 \pm 9,64$  so với  $6,00 \pm 10,48$  nmol/L,  $p < 0,001$  (biểu đồ 3.4).



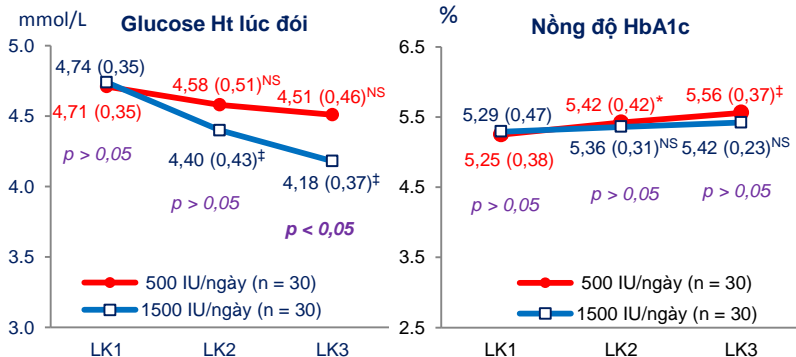
### Biểu đồ 3.5. Tình trạng vitamin D sau bổ sung vitamin D

Sau bổ sung vitamin D, tỷ lệ đủ vitamin D ở nhóm 1500 IU/ngày cao hơn có YNTK so với nhóm 500 IU/ngày (biểu đồ 3.5).

#### 3.5.3. Điều trị ĐTĐ thai kỳ

Tỷ lệ thai phụ phải điều trị kết hợp insulin (với chế độ ăn) là 6,7% (n = 2) ở nhóm 500 IU/ngày và 10,0% (n = 3) ở nhóm 1500 IU/ngày, khác biệt không có YNTK.

#### 3.5.4. Thay đổi về glucose máu và HbA1c sau bổ sung vitamin D



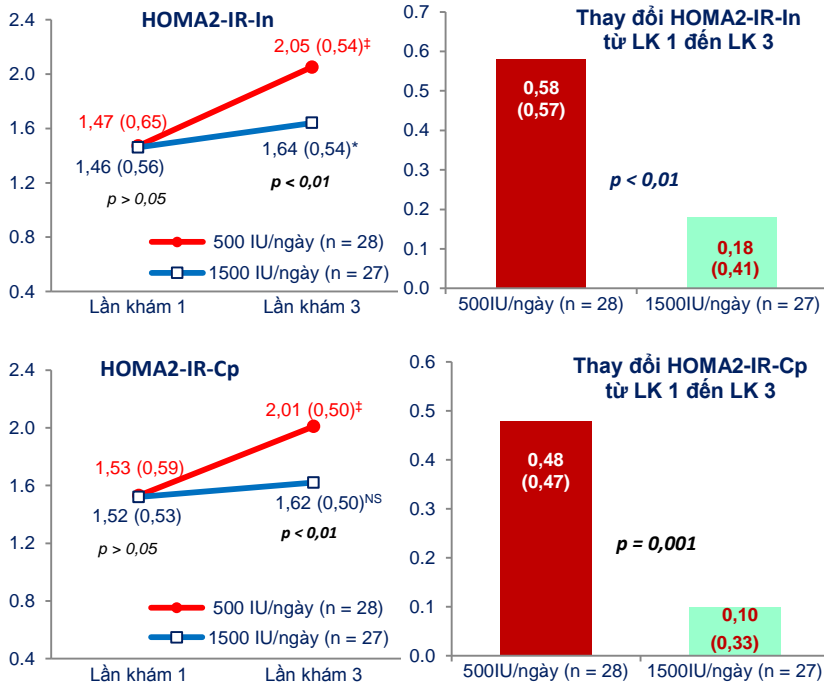
### Biểu đồ 3.6. Glucose Ht lúc đói và HbA1c trong thời gian theo dõi

Chú thích: Giá trị trình bày là  $\bar{x}$  (SD); p: so sánh giữa 2 nhóm tại cùng LK; so sánh trong cùng một nhóm giữa LK 1 với các LK 2 và 3: <sup>NS</sup>: không có YNTK, <sup>\*</sup>:  $p < 0,05$ ; <sup>†</sup>:  $p < 0,01$ ; <sup>‡</sup>:  $p < 0,001$

- GHt lúc đói ở LK 3 của nhóm 1500 IU/ngày thấp hơn nhóm 500IU/ngày. Ở nhóm 500 IU/ngày, GHt lúc đói vào LK 2 và 3 không thấp hơn có YNTK so với LK 1. Ở nhóm 1500 IU/ngày, GHt lúc đói ở LK 2 và 3 đều thấp hơn có YNTK so với LK 1.

- HbA1c của nhóm 500 IU/ngày vào LK 2 và 3 đều tăng có YNTK so với LK 1, còn ở nhóm 1500 IU/ngày, HbA1c vào LK 2 và 3 không tăng có YNTK so với LK 1.

### 3.5.5. Thay đổi về các chỉ số HOMA2-IR sau bổ sung vitamin D



### Biểu đồ 3.7. Các chỉ số HOMA2-IR từ LK 1 đến LK 3

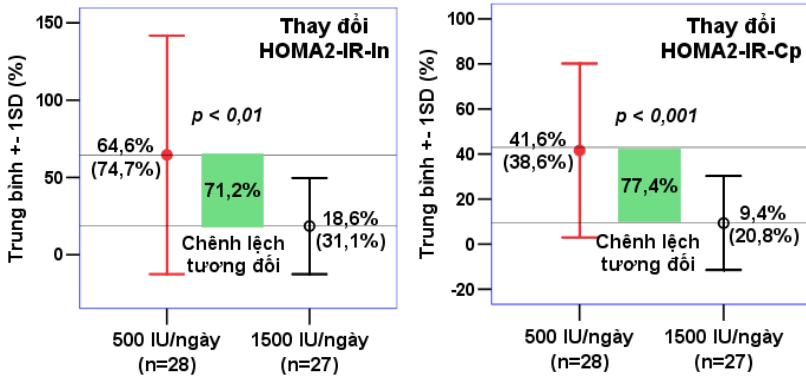
**Chú thích:** Số liệu sau loại trừ thai phụ điều trị insulin; giá trị trình bày là  $\blacksquare$ (SD); p: so sánh giữa 2 nhóm trong cùng LK; so sánh LK 1 với LK 3 trong mỗi nhóm: <sup>NS</sup>: không có YNTK, <sup>\*</sup>:  $p < 0,05$ , <sup>†</sup>:  $p < 0,01$ , <sup>‡</sup>:  $p < 0,001$ .

- Vào LK 3 nhóm 1500 IU/ngày có HOMA2-IR-In thấp hơn ( $1,64 \pm 0,54$  so với  $2,05 \pm 0,54$ ,  $p < 0,01$ ) và HOMA2-IR-Cp thấp hơn ( $1,62 \pm 0,50$  so với  $2,01 \pm 0,50$ ,  $p < 0,01$ ).

- Thay đổi các chỉ số HOMA2-IR từ LK 1 (tuần thai 24 – 28) đến LK 3 (tuần thai 36 – 38) sau bổ sung vitamin D: Ở nhóm 500 IU/ngày các chỉ số HOMA2-IR đều tăng có YNTK, ở nhóm 1500 IU/ngày

HOMA2-IR-In tăng có YNTK nhưng HOMA2-IR-Cp không tăng có YNTK.

- So sánh mức thay đổi các chỉ số HOMA2-IR từ LK 1 đến LK 3: nhóm 1500 IU/ngày mức tăng chỉ số HOMA2-IR-In thấp hơn ( $0,18 \pm 0,41$  so với  $0,58 \pm 0,57$ ,  $p < 0,01$ ) và mức tăng HOMA2-IR-Cp thấp hơn ( $0,10 \pm 0,33$  so với  $0,48 \pm 0,47$ ,  $p = 0,001$ ).



**Biểu đồ 3.8. Thay đổi các chỉ số HOMA2-IR từ LK 1 đến LK 3 theo phần trăm**

*Chú thích:* Giá trị trình bày là [ ] SD); giá trị p: so sánh giữa 2 nhóm

- Nhóm 1500 IU/ngày có mức tăng các chỉ số HOMA2-IR theo phần trăm thấp hơn có YNTK so với nhóm 500 IU/ngày: tăng HOMA2-IR-In  $18,6 \pm 31,1\%$  so với  $64,6 \pm 74,7\%$  ( $p < 0,01$ ); tăng HOMA2-IR-Cp  $9,4 \pm 20,8\%$  so với  $41,6 \pm 38,6\%$  ( $p < 0,001$ ).

- Khi lấy mức tăng chỉ số HOMA-IR ở nhóm 500 IU/ngày là 100%, mức tăng HOMA-IR ở nhóm 1500 IU/ngày (chênh lệch tương đối) giảm 71,2% về HOMA2-IR-In và giảm 77,4% về HOMA2-IR-Cp.

## Chương 4. BÀN LUẬN

### 4.1. Đối tượng nghiên cứu

Tổng số 104 thai phụ mắc ĐTĐTK và 55 thai phụ không mắc ĐTĐTK được đưa vào nghiên cứu, đáp ứng được yêu cầu về cỡ mẫu của đề tài.

Đối tượng tương đối đồng nhất về tuần thai (24 – 28 tuần) và

mức glucose máu (loại trừ các thai phụ mắc “ĐTĐ rõ”, có mức glucose máu cao hơn) giúp làm giảm các yếu tố nhiễu khi khảo sát các mối liên quan giữa vitamin D với kháng insulin.

## **4.2. Tình trạng vitamin D và các mối liên quan**

### **4.2.1. Tỷ lệ thiếu vitamin D**

Ở nhóm ĐTĐTK tỷ lệ thiếu vitamin D nhẹ là 73,1% và thiếu vitamin D nặng là 8,6% và tỷ lệ thiếu vitamin D chung là 81,7% (biểu đồ 3.1). Tỷ lệ này cao hơn khá nhiều so với nghiên cứu ở trong nước ở các phụ nữ không mang thai và mang thai: 58,6% ở phụ nữ độ tuổi sinh đẻ ở nội thành Hà Nội, 52% ở phụ nữ cùng độ tuổi ở nông thôn Hải Dương (V.T.T. Hiền và CS, 2007); 60% ở phụ nữ mang thai ở nông thôn Hà Nam (Hanieh và CS, 2014). Như vậy, mặc dù nằm ở vùng nhiệt đới, thiếu vitamin D ở Việt Nam rất phổ biến, đặc biệt ở phụ nữ mang thai ở khu vực Hà Nội. Bổ sung vitamin D thường quy cho phụ nữ mang thai, đặc biệt ở khu vực phía Bắc là cần thiết.

### **4.2.2. Nồng độ 25(OH)D Ht và một số yếu tố liên quan**

Nđ 25(OH)D Ht có tương quan nghịch có YNTK với tăng cân từ khi mang thai đến lần khám 1 ( $r = -0,201, p = 0,041$ ), tăng BMI từ khi mang thai đến lần khám 1 ( $r = -0,231, p = 0,019$ ) (bảng 3.2). Mối liên quan giữa thừa cân với thiếu vitamin D liên quan với sự tăng giảm giữ vitamin D ở mô mỡ trong tình trạng thừa cân, béo phì.

## **4.3. Kháng insulin và một số yếu tố liên quan**

Nhóm ĐTĐTK có giá trị trung bình của HOMA2-IR-In và tỷ lệ tăng HOMA2-IR-In cao hơn nhóm KĐTĐTK (bảng 3.4). Thai phụ mắc ĐTĐTK có tăng KI so với thai phụ không mắc ĐTĐTK do ngoài KI sinh lý của thai nghén thai phụ mắc ĐTĐTK còn có KI mạn tính có từ trước mang thai (Catalano 1997, Xiang 1999).

Các chỉ số HOMA2-IR của nhóm ĐTĐTK có tương quan thuận có YNTK với BMI trước MT, tăng cân từ khi MT đến LK 1, BMI LK 1, tăng BMI từ khi MT đến LK 1, Nđ triglycerid Ht đối (bảng 3.6) - các đặc điểm của KI trong hội chứng chuyển hóa, ĐTĐ type 2 và ĐTĐTK, trong đó KI là trung tâm.

## **4.4. Liên quan giữa vitamin D với kháng insulin, glucose máu và ĐTĐTK**

#### **4.4.1. Liên quan giữa vitamin D với kháng insulin**

*\*Tương quan tuyến tính giữa Nđ 25(OH)D Ht với KI*

Nđ 25(OH)D Ht ở nhóm ĐTĐTK có tương quan tuyến tính nghịch có YNTK với các chỉ số HOMA2-IR trong phân tích đơn biến (biểu đồ 3.3). Trong mô hình hồi quy tuyến tính đa biến với các yếu tố liên quan đến KI (tuần thai, BMI trước MT và hiện tại ở LK 1, tăng BMI từ khi MT đến LK 1, Nđ triglycerid Ht đối) Nđ 25(OH)D Ht vẫn có tương quan nghịch có YNTK với HOMA2-IR-In và HOMA2-IR-Cp với hệ số tương quan chuẩn hóa  $\beta$  tương ứng bằng  $-0,225$  ( $p = 0,018$ ) và  $-0,283$  ( $p = 0,002$ ) (bảng 3.7). *Như vậy, Nđ 25(OH)D Ht có tương quan nghịch tuyến tính độc lập với KI ở phụ nữ mắc ĐTĐTK.*

*\*Liên quan giữa tình trạng vitamin D với KI*

Nhóm thiếu vitamin D có các chỉ số HOMA2-IR cao hơn có YNTK so với nhóm đủ vitamin D (bảng 3.8). Trong phân tích phương sai hiệp biến với các chỉ số HOMA2-IR là biến phụ thuộc, còn các biến độc lập là tình trạng vitamin D và các yếu tố liên quan với KI bao gồm tình trạng BMI trước mang thai ( $< 23$  và  $\geq 23$  kg/m<sup>2</sup>), BMI ở LK 1, tăng BMI từ khi mang thai đến LK 1 và Nđ triglycerid Ht đối, thiếu vitamin D vẫn có liên quan có YNTK với tăng HOMA2-IR-In và với tăng HOMA2-IR-Cp (bảng 3.9). *Như vậy, thiếu vitamin D có liên quan độc lập với tăng kháng insulin ở phụ nữ mắc ĐTĐTK.*

Nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng có kết quả tương tự: Nghiên cứu của Maghbooli và CS, 2008: Nđ 25(OH)D Ht tương quan nghịch có YNTK với HOMA-IR ( $r = -0,20$ ;  $p = 0,002$ ) ở phụ nữ mang thai ở tuần thai 24 – 28 và mỗi liên quan vẫn có YNTK khi được hiệu chỉnh bởi BMI và số lần đẻ trong phân tích đa biến. Nghiên cứu của Lacroix và CS (2014): Nđ 25(OH)D Ht ở tuần thai 6-13 có tương quan nghịch với chỉ số HOMA-IR ( $r = -0,08$ ;  $p = 0,03$ ) và tương quan thuận với chỉ số độ nhạy insulin Mastuda ( $r = 0,13$ ;  $p = 0,001$ ) ở tuần thai 24-28, mỗi tương quan giữa Nđ 25(OH)D Ht với HOMA-IR vẫn có YNTK khi được hiệu chỉnh bởi vòng bụng của thai phụ ở tuần thai 6-13 và nồng độ hormon cận giáp.



*Tóm lại, kết quả của đề tài cho thấy Nữ 25(OH)D Ht có liên quan nghịch với kháng insulin ở phụ nữ mắc ĐTĐTK và mối liên quan này có thể là độc lập, nghĩa là thiếu vitamin D có thể góp phần gây tăng kháng insulin. Đây có thể là một trong lý do giải thích mối liên quan giữa Nữ 25(OH)D Ht thấp với tăng Nữ glucose máu và tăng nguy cơ mắc ĐTĐTK như đã bàn luận ở trên.*

#### **4.4.3. Liên quan giữa vitamin D với glucose máu**

Khi gộp chung 2 nhóm ĐTĐTK và KĐTĐTK, Nữ 25(OH)D Ht có tương quan nghịch có YNTK với Nữ glucose máu tại thời điểm lúc đói và 1 giờ trong NPDNG (bảng 3.3). Các nghiên cứu tương tự cho thấy Nữ 25(OH)D Ht có tương quan nghịch với Nữ glucose Ht lúc đói với  $r = -0,20$  (CI95%  $-0,31 - -0,08$ ) (Clifton-Bligh và CS, 2008) và tương quan nghịch với Nữ glucose Ht lúc đói và 2 giờ trong NPDNG với  $r = -0,16$  và  $p = 0,05$  trong cả 2 tương quan (Lau và CS, 2011).

#### **4.4.4. Liên quan giữa vitamin D với ĐTĐTK**

Nhóm ĐTĐTK có Nữ 25(OH)D Ht thấp hơn có YNTK so với nhóm KĐTĐTK và nguy cơ mắc ĐTĐTK do thiếu vitamin D tăng 2,18 lần (95%CI 1,03 – 4,61) (biểu đồ 3.2). Các phân tích gộp cho thấy nguy cơ ĐTĐTK do thiếu vitamin D tăng 1,609 lần với CI95%: 1,19 – 2,17 (Poel và CS 2012) và tăng 1,49 lần với CI95%: 1,18 – 1,89 (Aghajafari và CS 2013).

### **4.5. Hiệu quả bổ sung vitamin D đối với kháng insulin**

#### **4.5.1. Thiết kế nghiên cứu**

KI ở phụ nữ mang thai bắt đầu tăng từ nửa sau của thai kỳ và tăng dần cho đến khi đẻ, vì thế thiết kế nghiên cứu so sánh vitamin D với placebo có thể không xác định được hiệu quả vitamin D do vitamin D có thể chỉ làm giảm sự gia tăng của KI chứ không giảm KI ở cuối thai kỳ (tuần thai 36 – 38) thấp hơn so với giữa thai kỳ (tuần thai 24 – 28). Thiết kế so sánh 2 liều vitamin D khác nhau là phù hợp với mục đích kiểm chứng giả thiết liều vitamin D3 cao hơn sẽ có mức gia tăng KI từ tuần thai 24 – 28 đến cuối thai kỳ ít hơn so với liều thấp hơn.

Đề tài đã chọn 2 liều vitamin D3, liều 500 IU/ngày, gần với khuyến cáo của Viện Y học Mỹ (600 IU/ngày) và liều 1500

IU/ngày, nằm trong ngưỡng khuyến cáo của Hội Nội tiết Mỹ (1500 – 2000 IU/ngày) để so sánh hiệu quả lên KI. Khác biệt giữa 2 liều là khá lớn để có thể phân biệt được sự khác biệt giữa 2 liều về hiệu quả đối với KI.

#### **4.5.2. Đặc điểm của các đối tượng nghiên cứu trong thời gian bổ sung vitamin D**

Giữa 2 nhóm bổ sung vitamin D không có sự khác biệt về các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng liên quan đến KI và các chỉ số HOMA2-IR trước bổ sung vitamin D, cũng không có khác biệt về tăng cân, tăng BMI và tuần thai tại các lần khám. Tất cả những điều này đảm bảo cho sự so sánh kết quả can thiệp của hai nhóm không bị nhiễu bởi các yếu tố này.

#### **4.5.3. Thời gian bổ sung vitamin D**

Thời gian bổ sung vitamin D trung bình của 2 nhóm tương đương nhau ( $9,7 \pm 1,5$  và  $9,9 \pm 1,7$ ,  $p > 0,05$ ). Thời gian bổ sung vitamin D như vậy đủ dài để phát hiện hiệu quả của vitamin D lên KI. Hai nghiên cứu của Asemi cho thấy sung vitamin D ở phụ nữ mang thai trong 6 tuần và 9 tuần đều làm giảm rõ rệt KI.

#### **4.5.4. Thay đổi về vitamin D sau bổ sung vitamin D**

Bổ sung 1500 IU/ngày có hiệu quả cao hơn rõ rệt so với 500 IU/ngày về Nđ 25(OH)D Ht ( $79,82 \pm 10,11$  so với  $67,41 \pm 10,62$  nmol/L,  $p < 0,001$ ) và về mức tăng Nđ 25(OH)D Ht ( $16,91 \pm 9,64$  so với  $6,00 \pm 10,48$  nmol/L,  $p < 0,001$ ) (biểu đồ 3.4) và về tỷ lệ đủ vitamin D (70,0% so với 23,3%,  $p < 0,001$ , biểu đồ 3.5).

#### **4.5.5. Điều trị ĐTĐ thai kỳ**

Nhóm 500 IU/ngày có 2 (6,7%) thai phụ và nhóm 1500 IU/ngày có 3 (10,0%) thai phụ điều trị insulin, khác biệt không có YNTK với  $p > 0,50$ . Các thai phụ điều trị insulin được loại khỏi phân tích liên quan đến insulin, C-peptid và các chỉ số HOMA2-IR. Sự không khác biệt giữa 2 nhóm về tỷ lệ điều trị insulin hạn chế ảnh hưởng của việc loại bỏ các đối tượng đến việc so sánh hiệu quả bổ sung vitamin D giữa 2 nhóm.

#### **4.5.6. Thay đổi về glucose máu, HbA1c và các chỉ số HOMA2-IR sau bổ sung vitamin D**

##### **4.6.6.1. Diễn biến về tình trạng glucose máu**

Nhóm 1500 IU/ngày có GHt lúc đói diễn biến tốt hơn nhóm 500 IU/ngày: GHt lúc đói thấp hơn vào LK 3 so với nhóm 500IU/ngày, GHt lúc đói vào LK 2 và 3 thấp hơn LK 1 có YNTK trong khi GHt lúc đói của nhóm 500IU/ngày vào LK 2 và 3 không thấp hơn có YNTK so với LK 1 có (biểu đồ 3.6).

Nhóm 1500IU/ngày có HbA1c diễn biến tốt hơn nhóm 500 IU/ngày: HbA1c ở nhóm 1500IU/ngày không tăng có YNTK từ LK 1 đến LK 2 và 3 trong khi HbA1c ở nhóm 500IU/ngày vào LK 2 và 3 tăng có YNTK so với LK 1 (biểu đồ 3.6)

Vì 2 nhóm có tình trạng glucose máu trước can thiệp tương đương nhau và được hướng dẫn như nhau về chế độ luyện tập và ăn uống, bổ sung vitamin D liều 1500 IU/ngày có thể là một nguyên nhân giúp cải thiện glucose máu so với liều 500 IU/ngày.

#### 4.5.6.2. Thay đổi về các chỉ số HOMA2-IR

Nhóm 1500IU/ngày có tình trạng KI tốt hơn rõ rệt so với nhóm 500 IU/ngày **sau bổ sung vitamin D:**

- Chỉ số HOMA2-IR tăng có YNTN còn HOMA2-IR-Cp không tăng có YNTK trong khi nhóm 500 IU/ngày có cả 2 chỉ số này tăng có YNTK (biểu đồ 3.7).
- Các chỉ số HOMA2-IR-In thấp hơn nhóm 500 IU/ngày ở LK 3 (biểu đồ 3.7).
- Mức tăng các chỉ số HOMA2-IR từ lần khám 1 đến lần khám 3 thấp hơn nhóm 500 IU/ngày (biểu đồ 3.7).
- Mức tăng các chỉ số HOMA-IR theo phần trăm thấp hơn có YNTK so với nhóm 500IU/ngày (biểu đồ 3.8).
- Khi lấy mức tăng các chỉ số HOMA-IR ở nhóm 500 IU/ngày là 100%, mức tăng của nhóm 1500 IU/ngày giảm được 71,2% về HOMA2-IR-In và 77,4% về HOMA2-IR-Cp (biểu đồ 3.8).

KI có xu hướng tăng từ đầu nửa sau của thai kỳ và tăng dần cho đến khi đẻ. *Như vậy, bổ sung vitamin D liều 1500 IU/ngày không giảm được tuyệt đối KI, nhưng hạn chế được rõ rệt sự gia tăng KI trong giai từ tuần thai 24 – 28 đến tuần thai 36 – 38 so với bổ sung 500 IU/ngày.*

Các nghiên cứu trên thế giới cũng cho thấy bổ sung vitamin D so với placebo hoặc liều cao vitamin D so với liều thấp hơn làm

giảm kháng insulin ở phụ nữ mang thai mắc và không mắc ĐTĐTK.

- Nghiên cứu của Asemi, Samimi và CS so sánh bổ sung vitamin D liều 400 IU/ngày với placebo trong 9 tuần ở phụ nữ mang thai bắt đầu từ tuần thai 25. Sau 9 tuần, nhóm vitamin D có giảm Nđ glucose Ht lúc đói nhiều hơn nhóm placebo ( $-0,65$  so với  $-0,12$  mg/dL,  $p = 0,01$ ), giảm HOMA-IR so với tăng ở nhóm placebo ( $-0,34$  so với  $+0,60$ ,  $p = 0,06$ ).

- Nghiên cứu của Asemi, Hashemi và CS trên thai phụ mắc ĐTĐTK ở tuần thai 24 – 28 so sánh vitamin D liều 50.000 IU 2 lần cách nhau 2 tuần với placebo cũng cho kết quả tương tự. Sau 6 tuần, nhóm dùng vitamin D có giảm có YNTK các chỉ số glucose Ht lúc đói ( $-17,12 \pm 14,84$ mg/dl,  $p < 0,001$ ), HOMA-IR ( $-1,21 \pm 1,41$ ,  $p = 0,001$ ). Trong khi đó nhóm chứng có các chỉ số này không thay đổi có YNTK sau bổ sung vitamin D.

- Nghiên cứu của Soheilykhah và CS so sánh liều vitamin D khác nhau bổ sung cho phụ nữ mang thai ở tuần 12 cho đến khi đẻ. Sau bổ sung, so với nhóm 200 IU/ngày, nhóm 50.000 IU/mỗi 2 tuần có mức tăng Nđ insulin Ht lúc đói ít hơn ( $3,58 \pm 4,16$  so với  $6,9 \pm 7$  IU/ml,  $p = 0,01$ ), mức tăng HOMA1-IR ít hơn ( $0,7 \pm 1,04$  so với  $1,46 \pm 1,69$ ,  $p = 0,02$ ).

KI ở phụ nữ mang thai, đặc biệt là phụ nữ mang thai mắc ĐTĐTK bắt đầu tăng từ nửa sau của thai kỳ và tăng dần cho đến cuối thai kỳ. Đề tài so sánh hiệu quả của liều vitamin D 1500 IU/ngày so với liều 500 IU/ngày. Kết quả cho thấy nhóm 1500 IU/ngày có tình trạng glucose máu tốt hơn và mặc dù không giảm được tuyệt đối mức KI, nhưng giảm được mức độ gia tăng KI so với nhóm 500 IU/ngày. Kết quả này phù hợp với kết quả của Soheilykhah bổ sung vitamin D với các liều khác nhau (200, 2000 và 4000 IU/ngày) từ đầu thai kỳ cho đến cuối thai kỳ, mặc dù tất cả các liều cũng đều không giảm được tuyệt đối KI nhưng liều cao hơn giảm được mức độ gia tăng KI nhiều hơn so với liều thấp hơn.

Vitamin D làm giảm KI theo một số cơ chế đã được chứng minh trong thực nghiệm như đã bàn luận ở phần mối liên quan giữa các chỉ số KI và vitamin D, bao gồm: Tăng biểu lộ thụ thể insulin; kích thích tổng hợp PPAR $\delta$  – yếu tố sao mã các chất tham gia

chuyển hóa lipid; ổn định nồng độ calci ion nội bào; ức chế tổng hợp các cytokin viêm gây KI như TNF- $\alpha$ , Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-6; ức chế hệ renin - angiotensin.

## KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 104 thai phụ mắc ĐTĐTK tại BV Phụ sản TW và BV Nội tiết TW chúng tôi thu được kết quả sau:

- 1. Tỷ lệ thiếu vitamin D ở thai phụ mắc ĐTĐTK ở tuần thai 24 – 28 đến khám tại BV Phụ sản TW và BV Nội tiết TW là 81,7%.**
- 2. Nồng độ 25(OH)D huyết tương có liên quan nghịch với kháng insulin ở phụ nữ mắc ĐTĐTK vào tuần thai 24 – 28.**

Nồng độ 25(OH)D Ht có tương quan tuyến tính nghịch với kháng insulin với  $r = -0,298$  và  $p = 0,002$  đối với HOMA2 tính bằng insulin và  $r = -0,314$  và  $p = 0,001$  đối với HOMA2 tính bằng C-peptid. Mọi tương quan nghịch này vẫn có ý nghĩa thống kê khi được hiệu chỉnh bởi tuần thai, BMI trước mang thai, BMI hiện tại, tăng BMI từ khi mang thai và nồng độ triglycerid huyết tương lúc đói.

Thiếu vitamin D có liên quan với tăng kháng insulin. Mọi liên quan này vẫn có ý nghĩa thống kê khi được hiệu chỉnh bởi các yếu tố tăng BMI trước mang thai, mức tăng BMI từ khi mang thai đến tuần thai 24 - 28, BMI hiện tại và Nđ triglycerid Ht lúc đói.

- 3. Bổ sung vitamin D liều 1500 IU/ngày từ tuần thai 24 – 28 đến tuần thai 36 – 38 ở thai phụ mắc ĐTĐTK và thiếu vitamin D có hiệu quả làm giảm sự gia tăng kháng insulin so với liều 500 IU/ngày trong giai đoạn này.**

Sau bổ sung vitamin D, nhóm 1500 IU/ngày có giảm sự gia tăng kháng insulin 71,2% theo HOMA2 tính bằng insulin và 77,4% theo HOMA2 tính bằng C-peptid so với nhóm 500 IU/ngày.

## KIẾN NGHỊ

1. Do tình trạng thiếu vitamin D rất phổ biến ở thai phụ mắc ĐTĐTK, cần phát hiện thường quy thiếu vitamin D ở nhóm đối tượng này và bổ sung vitamin D cho thai phụ có thiếu vitamin D.
2. Cần tiếp tục nghiên cứu về hiệu quả bổ sung vitamin D trong điều trị hỗ trợ bệnh ĐTĐTK ở thai phụ có thiếu vitamin D, đặc biệt là thiếu vitamin D nặng, nghiên cứu hiệu quả dự phòng ĐTĐTK từ giai đoạn sớm của thai kỳ, đặc biệt ở thai phụ có nguy cơ cao mắc ĐTĐTK và thiếu vitamin D.

MINISTRY OF  
EDUCATION AND TRAINING

MINISTRY OF  
HEALTH

**HANOI MEDICAL UNIVERSITY**



**LE QUANG TOAN**

**STUDY OF RELATIONSHIPS BETWEEN PLASMA  
25-HYDROXYVITAMIN D CONCENTRATION AND  
INSULIN RESISTANCE, AND EFFECTS OF VITAMIN D  
SUPPLEMENTATION ON INSULIN RESISTANCE  
IN GESTATIONAL DIABETES MELLITUS**

Specialty: Endocrinology

Code: 62.72.01.45

**SUMMARY OF MEDICAL PhD DISSERTATION**

**HANOI – 2016**

DISSERTATION HAS BEEN COMPLETED  
AT HANOI MEDICAL UNIVERSITY

Scientific Supervisors:

- 1. Ascoc.Prof., PhD. Do Trung Quan**
- 2. PhD. Nguyen Van Tien**

**1<sup>st</sup> Reviewer : Ascoc. Prof., PhD. Hoang Trung Vinh**

**2<sup>nd</sup> Reviewer: Prof., PhD. Nguyen Hai Thuy**

**3<sup>rd</sup> Reviewer: Ascoc. Prof., PhD. Nguyen Khoa Dieu Van**

The dissertation will be defended at The University level Commission

at: ..... h ..... , ...../...../.....

The dissertation can be found at:

- The National Library
- Hanoi Medical University Library
- Central Medical Information Library



## LIST OF PUBLICATIONS

1. Le Quang Toan, Do Trung Quan, Nguyen Van Tien (2014). Comments on effects of vitamin D supplementation on insulin resistance in gestational diabetes mellitus. *Journal of Practical Medicine*, 8 (928), 53 – 55.
2. Le Quang Toan, Do Trung Quan, Nguyen Van Tien (2014). Relationships between vitamin D and insulin resistance in women with gestational diabetes mellitus. *Journal of Medical Research*, 91 (6), 31 – 37.



## ABBREVIATIONS

1,25(OH) <sub>2</sub> D	1,25-dihydroxyvitamin D
25(OH)D	25-hydroxyvitamin D
BMI	Body Mass Index
DM/GDM	Diabetes Mellitus/Gestational Diabetes Mellitus
GW	Gestation week
FPG/PG	Fasting Plasma glucose/Plasma glucose
HbA1c	Glycosylated Hemoglobin A1c
HOMA	Homeostasis Model Assessment
HOMA2-IR	Insulin resistance assessed by HOMA2
HOMA2-IR-Cp	HOMA2-IR calculated by FPG and C-peptide
HOMA2-IR-In	HOMA2-IR calculated by FPG and insulin
IR	Insulin resistance
NGDM	Non-Gestational Diabetes Mellitus
OGTT	Oral glucose tolerance test

## INTRODUCTION

Vitamin D insufficiency is very common in the world and pregnant women are at high risk of this condition. The condition is also very common in Vietnam with prevalence ranging from 52,0 to 60,0% in women. Numerous roles of vitamin D, other than classical ones, have recently been discovered, including relationships to insulin resistance (IR) in gestational diabetes mellitus (GDM).

Prevalence of GDM has been rapidly increasing recently in the world as well as in Vietnam, reaching 20.3% in a recent study in a large city. GDM can cause numerous consequences for the mother and the fetus if not timely and effectively diagnosed and managed. Two principle pathological factors of GDM are islet beta cell dysfunction and IR. Until present, all the oral hypoglycemic agents have been not approved for use in pregnant women. Therefore, research on factors that are related to and capable of reducing IR in GDM has scientific and practical importance.

Plasma 25-hydroxyvitamin D (25-(OH)D) level was inversely correlated to IR and vitamin D supplementation compared to placebo or higher vitamin D doses to lower ones reduced IR and improved blood glucose in pregnant women with and without GDM in a number of studies.

However, those studies included both pregnant women with and those without GDM, and both those with and those without vitamin D deficiency. Therefore, to study the relationships separately in only pregnant women with both GDM and vitamin D deficiency is necessary. On the other hand, until now relationships between vitamin D and IR in GDM have not been studied in Vietnam.

For these reasons we conducted the research "*Study of relationships between plasma 25-hydroxyvitamin D with insulin resistance and effects of vitamin D supplementation on insulin resistance in gestational diabetes mellitus*" with the following objectives:

1. *To determine the prevalence of vitamin D insufficiency in pregnant women at the National Hospital of Gynecology & Obstetrics and the National Hospital of Endocrinology.*
2. *To explore relationships between plasma 25-hydroxyvitamin D concentration in women with gestational diabetes mellitus*
3. *To initially examine effects of vitamin D supplementation on insulin resistance in women with gestational diabetes mellitus*

#### ***New scientific findings and practical contributions***

- The finding of the prevalence of vitamin D insufficiency in women with GDM serves the base for making recommendations on vitamin D insufficiency screening and vitamin D supplementation for this population.
- The thesis confirmed the inverse relationship between plasma 25(OH)D level and IR in women with GDM, and the superiority of a higher dose vitamin D supplementation compared with a lower dose in reducing IR increase in the period from the middle to the end of gestation. This finding serves the basis for recommending vitamin D supplementation for women with GDM and vitamin D insufficiency as well as the basis for further research on vitamin D supplementation effects in GDM prevention and its adjuvant treatment of this condition.

#### ***Thesis structure***

The thesis has 116 pages (excluding the references and appendix), 4 chapters, 27 tables, 12 charts, 6 figures and 143 references. Introduction 2 pages, literature review 36 pages,

Subjects and methods 16 pages, Study results 26 pages, Discussions 34 pages, Conclusions 2 pages and Suggestions 1 page.

## Chapter 1. LITERATURE REVIEW

### 1.1. Review of vitamin D

#### 1.1.1. Chemical nature and metabolism of vitamin D

Vitamin D exists in two forms, Cholecalciferol (Vitamin D3) and Ergocalciferol (Vitamin D2). Vitamin D is converted to 25(OH)D in liver by the first hydroxylation and in kidneys by the second one to 1,25(OH)<sub>2</sub>D that is biologically active and therefore is considered a hormone.

#### 1.1.2. Vitamin D status assessment

Plasma 25(OH)D concentration is selected as the indicator of vitamin D status because it is directly related to its intake, has longest plasma half-life and is not affected by regulating factors compared with vitamin D and 1,25(OH)<sub>2</sub>D.

There has not been a widespread consensus on criteria for vitamin D status assessment (tab. 1.2). The cut-off-point of plasma 25(OH)D level < 75 nmol/L for of vitamin D insufficiency definition according to The Endocrine Society (ES) 2011 criteria is supported by the majority of experts and is based on studies of relationships between plasma 25(OH)D level and plasma parathormone, calcium absorption in guts and consequences of vitamin deficiency.

*Table 1.1. Criteria for vitamin D status assessment*

Author	Vitamin D status by plasma 25(OH)D (nmol/L)			
	Deficiency	Insufficiency	Sufficiency	Toxicity
Hollis 2005	< 80		80 - 225	> 225
Holick 2007	<50	50 - <75	75 - 225	> 225
IOM 2010	< 30	30 - <50	≥ 50	
ES 2011	< 50	50 - <75	75 - 250	> 250

#### 1.1.3. Vitamin D deficiency

Vitamin D deficiency is very common in the world, especially in pregnant women. In Vietnam, it is also very common in women and its prevalence range from 52.0 to 60.0%.

#### 1.1.4. Recommendations on vitamin D supplementation and treatment of vitamin D deficiency

There has not been also a widespread consensus on vitamin D

supplementation and treatment of vitamin D deficiency. Institute of Medicine (IOM) recommended dietary allowance of vitamin D is 600 IU (2010), meanwhile ES vitamin D daily requirement is 600 IU for pregnant women, 600 to 1000 IU and 1500 to 2000 IU daily for pregnant women at risk of vitamin deficiency at age of 14 to 18 and 19 to 50 year old, respectively (2011).

\* **Tolerable upper intake level of vitamin D** for the adult (including pregnant women) is 4,000 and 10,000 IU daily according to IOM (2010) and ES (2011), respectively.

## 1.2. Gestational Diabetes Mellitus and insulin resistance

### 1.2.1. Definition and diagnostic criteria of GDM

GDM is defined by WHO as glucose intolerance of variable severity with onset or first recognition during pregnancy (1999). The International Association of Diabetes in Pregnancy Study Groups (IADPSG) 2010 diagnosis criteria, applied by The American Diabetes Association (ADA) since 2011 and WHO since 2013, separates two forms of diabetes first time detected during pregnancy: 1) GDM and 2) "overt diabetes" that is diagnosed when blood glucose levels meet the diagnostic criteria for diabetes in the non-pregnant:

**Table 1.2. Classification and diagnostic criteria for hyperglycemia first time detected during pregnancy (ADA 2011 and WHO 2013)**

Criterion	IADPSG/ADA 2011/WHO <sup>a</sup>	Overt DM <sup>a</sup>
FPG <sup>b</sup>	5.6 – 6.9	≥ 7.0
1-h PG <sup>b</sup>	≥ 10.0	-
2-h PG <sup>b</sup>	8.5 – 11.0	≥ 11.1
Random PG <sup>c</sup>	-	≥ 11.1

*Note:* PG unit is mmol/L, <sup>a</sup>: Diagnosed if there is one or more criteria; <sup>b</sup>: OGTT; <sup>c</sup>: + clinical symptoms of hyperglycemia.

### 1.2.2. Insulin resistance in GDM

IR is condition in which normal blood insulin concentration produces lower biological actions on carbohydrate and lipid metabolism compared with normal people.

IR in women with GDM comprises of physiological pregnancy-induced IR and that existing before conception, is higher compared with pregnant women without GDM, and starts to continuously rise from the second half of gestation until delivery.

### ***1.2.3. Homeostasis Model Assessment (HOMA) of IR***

HOMA was developed on basis of interaction between blood glucose and insulin in fasting steady state and non-linear equations derived in experiments. HOMA1 was introduced by Mathews in 1985, using simple approximate formula for calculation of IR. The computerized HOMA or HOMA2 developed by Oxford University (UK) has a number of advantages compared with HOMA1: IR is more accurately calculated by computer software, non-specific or specific blood insulin can be used, C-peptide can be used instead of insulin.

The principal advantages of HOMA2: it is simple to carry out and yields results closely correlated to ones of reference method clamp technique (correlation coefficients range from 0.73 to 0.87).

### ***1.2.4. Studies on vitamin D and IR in GDM***

Plasma 25(OH)D level is inversely correlated to IR in pregnant women with and without GDM even being adjusted by other IR related factors (Maghbooli 2008, Lacroix 2014). Vitamin D supplementation compared with placebo (2 studies by Asemi, 2013) or higher vitamin D dose compared with lower ones (Soheilykhah 2013) reduced IR in absolute or relative manor in pregnant women with and without GDM.

### ***1.2.5. Mechanisms of vitamin D actions on IR***

Vitamin D reduces IR though: 1) Increasing insulin receptor expression; 2) Stimulating synthesis of PPAR $\delta$  that is a transcription factor for proteins participating in lipid metabolism; 3) Regulating and maintaining intracellular calcium homeostasis; 4) Suppressing synthesis of pro-inflammatory cytokines causing IR and 5) Suppressing renin-angiotensin system

## **Chapter 2. SUBJECTS AND METHODS**

### **2.1. Study subjects**

Subjects were pregnant women at 24 to 28 gestational weeks at The National Hospital of Gynecology & Obstetrics and National Hospital of Endocrinology comprising of two groups:

- The group with GDM
- The control group [without GDM, NGDM group]

GDM was diagnosed by the ADA 2011 criteria as following:

**Table 2.1. ADA 2011 criteria for diagnosis of GDM with 75g OGTT**

	<b>Plasma venous glucose level (mmol/L)</b>
Fasting	5.1 - 6.9
1h	$\geq 10.0$
2 h	8.5 - 11.0

**- Selection criteria for GDM groups receiving vitamin D supplementation**

Pregnant women with GDM who have vitamin D insufficiency according to ES 2011 criteria with plasma 25(OH)D level < 75 nmol/L.

**- Exclusion criteria for GDM group:** Subjects were excluded if having one or more of the following:

Previously known diabetes or diabetes in pregnancy; past or present conditions affecting glucose metabolism; past or present use of drugs affecting glucose metabolism; present use of vitamin D containing drugs; present acute illnesses; present eclampsia; refusal of participation in the study.

**- Exclusion criteria for vitamin D supplementation groups**

- Present use of vitamin D containing drugs.

- Hypercalcemia: Total plasma calcium level > 2.5 mmol/L.

**- Exclusion criteria for the control group**

1) DM family history; 2) Past GDM in previous pregnancies; 3) History of hypertension or dyslipidemia; 4) Preconception BMI  $\geq 23\text{kg/m}^2$ ; 5) Poor obstetrics history: still-birth, miscarriage, premature birth, gross-baby (with birth weight > 4000g).

**2.2. Place and time of study**

The study was conducted in the National Hospital of Gynecology & Obstetrics and National Hospital of Endocrinology from April 2012 to April 2014.

**2.3. Study design:** Descriptive study to resolve objectives 1 and 2, and randomised control trial to resolve objective 3.

**2.4. Sample size:** The largest sample size among those for three objectives was 95 pregnant women with GDM. The real sample size was 104 women with GDM and 55 controls (NGDM).

**2.5. Study Implementation**

**2.5.1. Subject selection:** Cumulative selection and block random assignment was carried out .



### 2.5.2. Vitamin D supplementation intervention

The pregnant women with GDM having vitamin D insufficiency and giving consent to participate in the vitamin D supplementation trial were randomly allocated to one of the two groups taking daily 500 IU or 1500 IU of vitamin D3.

Vitamin D3 drug: Aquadetrim manufactured by Medana Pharma (Poland): Solution with concentration of 15.000 UI/ml, 500 IU/drop , 10ml vial.

Other vitamin D containing drugs were not used by the subjects during the supplementation trial.

The visits following the baseline visit (visit 1) were: Visit 2 at gestational weeks 31 – 33, visit 3 at gestational weeks 36 – 38.

### 2.5.3. Data collected at the visits

Table 2.3. Data collected at visits (marked with x)

Parameter	Visit 1		Visit 2	Visit 3
	NGDM	GDM	GDM	
Age	x	x		
Familial and obstetrical history	x	x		
Gestational week	x	x	x	x
Preconception weight	x	x		
Wight	x	x	x	x
Height	x	x		
Plasma glucose	x	x	x	x
HbA1c		x	x	x
Fasting plasma Insulin	<b>x</b>	x		x
Fasting plasma C-peptide		<b>x</b>		x
Fasting plasma triglyceride		<b>x</b>		
Fasting plasma HDL-C		<b>x</b>		
Plasma total and ionized Calcium		x	x	x
Plasma 25(OH)D	x	x		x

### 2.5.4. Treatment of GDM

All the pregnant women with GDM were followed up at National Hospital of Endocrinology by diet and exercise. After 2 weeks, if blood glucose targets were not met, insulin was added.

## 2.6. Data collection methods

### 2.6.1. Interview and anthropometric parameter measurement

- Demographic characteristics, personal, familial and obstetrical history, preconception weight and gestational week were collected.

- Weight and height were measured

### 2.6.2. Biochemical tests

- Oral glucose tolerance test (OGTT) with 75g of glucose and 3 time points during 2 hours

- Plasma insulin and C-peptide were measured by electro-chemiluminescent immuno-assay; insulin plasma measurement unit is pmol/L and that of C-peptide nmol/L.

- Plasma 25(OH)D was measured by electro-chemiluminescent immuno-assay, the measurement unit is nmol/L.

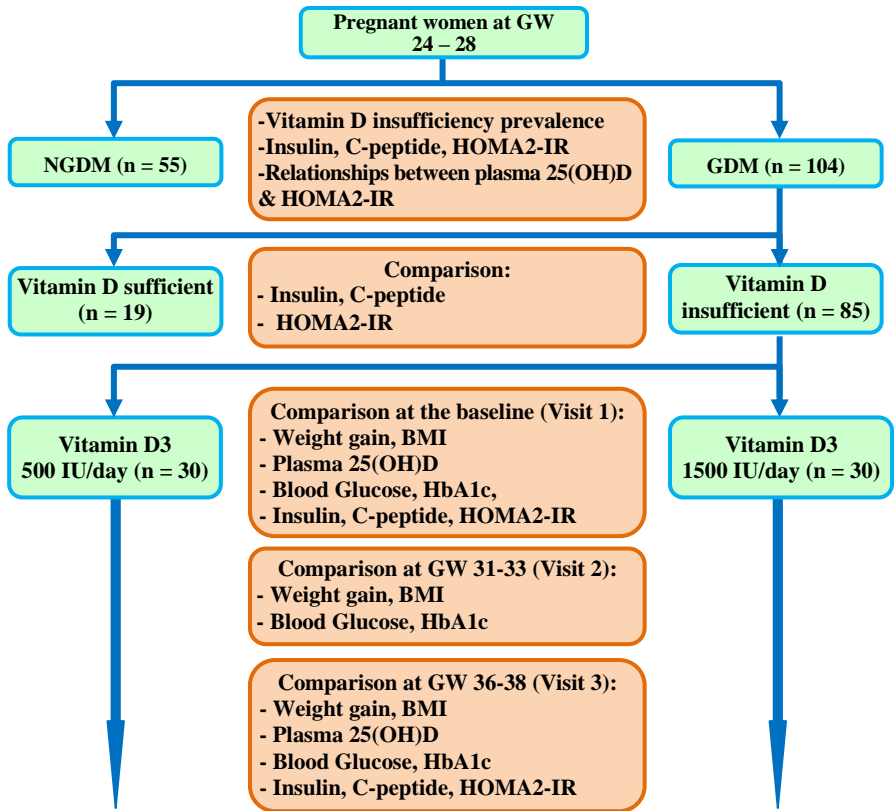


Figure 2.1. Study design

## 2.7. Diagnosis and assessment criteria

- GDM was diagnosed according to ADA 2011 criteria with 75g.
- Vitamin D status was assessed according ES 2011 criteria.
- Pregnant women pre-conception BMI was assessed according to the International Diabetes Federation criteria applied for the Asian:
  - Increased: BMI  $\geq 23,0$ ; Not increased: BMI  $< 23,0$  kg/m<sup>2</sup>
- Plasma insulin and C-peptide were assessed using the cut-off point of ■■■ 1SD of the control (NGDM) group.
- IR was calculated by HOMA2 calculator, version 2.2.3. 2013 produced by The Oxford University (UK).

HOMA2-IR calculated with fasting glucose and insulin (HOMA2-IR-In) or C-peptide (HOMA2-IR-Cp).

- Increased IR was asserted when HOMA2-IR value was above the highest quartile of that of the control (NGDM) group (WHO 1999).

## 2.8. Data analysis

Software SPSS13.0 was used to analyzing data.

Vitamin D insufficiency prevalence was calculated as percents. The relationships between plasma 25(OH)D level and IR were examined by linear correlation and comparison of HOMA2-IR indices between vitamin D sufficiency and insufficiency groups. The effects of vitamin D supplementation on IR were examined by comparison of HOMA2-IR indices between two vitamin D supplementation groups after vitamin D supplementation.

## Chapter 3. STUDY RESULTS

### 3.1. Study subject characteristics

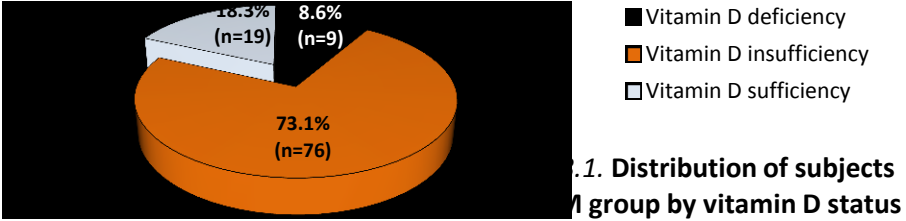
104 pregnant women with GDM and 55 ones without GDM (NGDM) determined at GW 24 - 28 participated in the study.

**Table 3.1. Distribution of study subjects according to age groups and mean age**

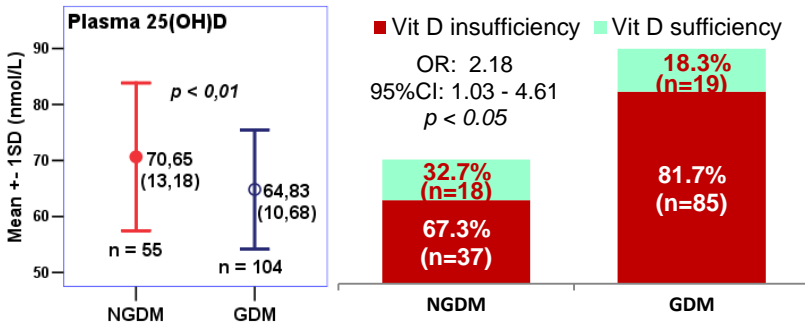
Age	NGDM(n = 55)		GDM (n = 104)		P value
	n	Percentage	n	Percentage	
< 25	9	16.4	5	4.8	< <b>0.05</b>
25 – 29	21	38.2	39	37.5	> <b>0.05</b>
30 - 34	20	36.3	36	34.6	> <b>0.05</b>
$\geq 35$	5	9.1	24	23.1	< <b>0.05</b>
<span style="background-color: black; color: black;">■■■</span> SD		28.9 $\pm$ 4.3		30.8 $\pm$ 4.4	<b>0.01</b>

- **Gestation week:** There were no significant differences in distribution by GW and mean GW between GDM and NGDM groups ( $26.6 \pm 1.3$  and  $26.9 \pm 1.3$  weeks, respectively,  $p > 0,05$ ).

### 3.2. Vitamin D status and its relationships



Vitamin D insufficiency prevalence in GDM group was 81.7%



**Chart 3.2. Vitamin D status in GDM and NGDM groups**

Note: The values are  $\pm$  1SD)

GDM group had significantly lower plasma 25(OH)D level and higher rate of vitamin D insufficiency, the GDM risk for vitamin D insufficiency increased by 2.18 times (95%CI 1.03 to 4.61) (chart 3.2)

**Table 3.2. Linear correlation between plasma 25(OH)D level and other factors in GDM group**

Factor	r	p value
Age	0.130	0.189
Gestation week	0.019	0.486
Pre-conception BMI	0.006	0.951
Weight gain from conception to visit 1	-0.201	<b>0.041</b>
BMI increment from conception to visit 1	-0.230	<b>0.019</b>
BMI at visit 1	-0.122	0.219

**Table 3.3. Correlation between plasma 25(OH)D and blood glucose in OGTT**

Plasma glucose (mmol/L)	NGDM (n = 55)		GDM (n = 104)		All (n = 159)	
	r	p	r	p	r	p
0 h	-0,158	0,248	-0,074	0,456	-0,186	<b>0,019</b>
1 h	-0,206	0,132	-0,033	0,740	-0,232	<b>0,003</b>
2 h	-0,093	0,500	0,106	0,282	-0,117	0,143

When taking both groups together, plasma 25(OH)D level was significantly inversely correlated to plasma glucose levels at 0 and 1 h in the OGTT (tab. 3.3).

### 3.3. Insulin resistance and related factors

**Table 3.4. HOMA2-IR-In in GDM and NGDM groups**

	KNGDM (n = 55)	GDM (n = 104)	p
■ SD	1.16 ± 0.44	1.44 ± 0.63	<b>0.001</b>
HOMA2- IR-In	Mean difference		24.1%
	Upper cut-off-point		1.42
	Increased (n, %)	13 (23.6%)	45 (43.3%)
			<b>&lt;0.05</b>

GDM group had higher mean HOMA2-IR-In, by 24.1% and higher increased IR rate compared with NGDM one (tab. 3.4).

**Table 3.5. HOMA2-IR indices by preconception BMI status in GDM group**

Pre-conception BMI	n	HOMA2-IR-In	HOMA2-IR-Cp
< 23 (kg/m <sup>2</sup> )	86	1.39 ± 0.61	1.45 ± 0.59
≥ 23 (kg/m <sup>2</sup> )	18	1.72 ± 0.67	1.82 ± 0.59
<i>p value</i>		<b>&lt; 0.05</b>	<b>&lt; 0.05</b>

Pregnant women with increased pre-conception BMI (≥ 23kg/m<sup>2</sup>) had significantly higher HOMA2-IR indices compared with the ones without increased pre-conception BMI (< 23 kg/m<sup>2</sup>) (tab. 3.5).

HOMA2-IR indices were significantly correlated to pre-conception BMI, weight gain and BMI increment from conception to visit 1, BMI at visit 1 and fasting plasma triglyceride (tab. 3.6).

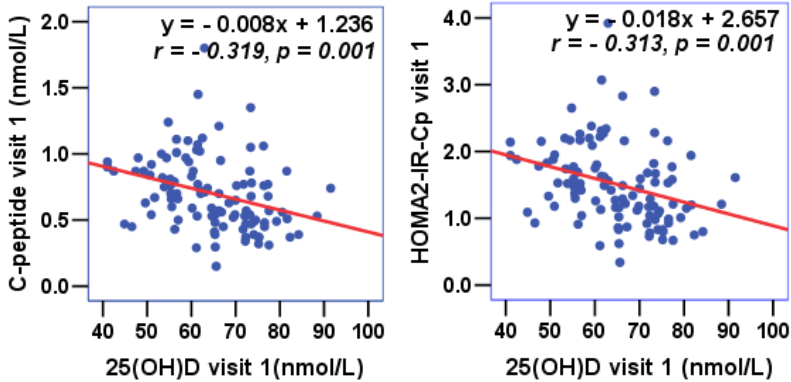
**Table 3.6. Linear correlation between HOMA2-IR indices and other factors in GDM group (n = 104)**

Factor	HOMA2-IR-In		HOMA2-IR-Cp	
	r	p	r	p
Age	-0,009	0,913	-0,121	0,220
Gestation week	0,054	0,203	0,195	<b>0,047</b>
Preconception BMI	0,250	<b>0,001</b>	0,286	<b>0,003</b>
Weight gain*	0,354	< <b>0,001</b>	0,274	<b>0,005</b>
BMI at visit 1	0,387	< <b>0,001</b>	0,371	< <b>0,001</b>
BMI increment*	0,356	< <b>0,001</b>	0,277	<b>0,004</b>
Fasting Triglyceride	0,323	<b>0,001</b>	0,197	<b>0,045</b>
Fasting HDL-C	-0,006	0,952	0,137	0,166

Note: from conception to visit 1

### 3.4. Relationships between plasma 25(OH)D and IR

#### 3.4.1. Linear correlation between plasma 25(OH)D and IR



**Chart 3.3. Correlation between plasma 25(OH)D to HOMA2-IR indices**

Plasma 25(OH)D level was significantly inversely correlated to fasting plasma insulin and C-peptide, and HOMA2-IR indices.

**Table 3.7. Correlation between plasma 25(OH)D and HOMA2-IR indices in multivariate linear regression model in GDM group**

Factor	HOMA2-IR-In		HOMA2-IR-Cp	
	r	p	r	p
Model	0,464	<b>&lt;0,001</b>	0,496	<b>&lt;0,001</b>
Constant	0,218	0,877	-1,809	0,170
Gestation week	0,040	0,591	0,190	<b>0,039</b>
Preconception BMI	0,158	0,102	0,278	<b>0,003</b>
BMI increment	0,158	0,129	0,121	0,215
Plasma 25(OH)D	-0,225	<b>0,018</b>	-0,283	<b>0,002</b>
Fasting Triglyceride	0,199	<b>0,041</b>	0,038	0,688

Plasma 25(OH)D remained significantly inversely correlated to HOMA-2-IR values in the multivariate linear regression model.

### 3.4.2. Relationships between vitamin D status and IR

**Table 3.8. HOMA2-IR indices by vitamin D status in GDM group**

	Vitamin D insufficient (n = 85)	Vitamin D sufficient (n = 19)	p
HOMA2-IR-In	1,51 ± 0,64	1,15 ± 0,50	<b>&lt;0,05</b>
HOMA2-IR-Cp	1,58 ± 0,61	1,20 ± 0,45	<b>&lt;0,05</b>

Vitamin D insufficient group had significantly higher HOMA2-IR indices (tab. 3.8).

**Table 3.9. ANCOVA model with HOMA2-IR indices in GDM group**

Factor	HOMA2-IR-In		HOMA2-IR-Cp	
	p	PES	p	PES
Model	<b>&lt;0,001</b>	0,211	<b>&lt;0,001</b>	0,206
Intercept	0,755	0,001	0,383	0,008
Vitamin D status	<b>0,028</b>	0,048	<b>0,009</b>	0,067
Increased preconception BMI	0,082	0,030	<b>0,020</b>	0,054
Gestation week at visit 1	0,729	0,001	0,071	0,033
BMI increment	0,067	0,034	0,102	0,027
Fasting Triglyceride	<b>0,016</b>	0,057	0,344	0,009

Note : PES: Partial Eta Squared

Vitamin D status was significantly associated with HOMA2-IR-In (p = 0,028) and HOMA2-IR-Cp (p = 0,009) in the analysis of covariance model (tab. 3.9).

### 3.5. Effects of vitamin D supplementation on IR

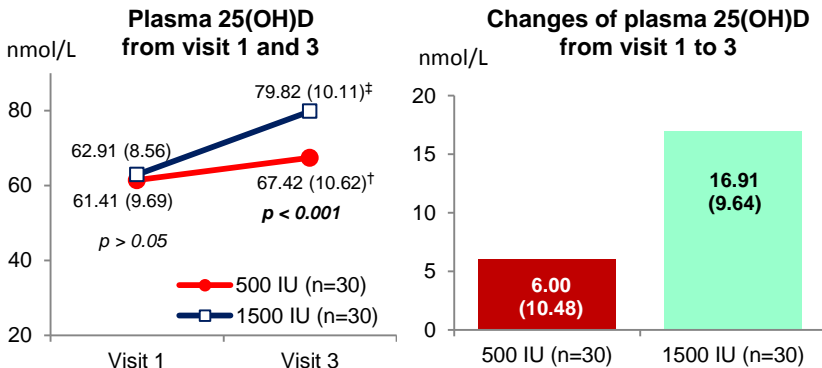
60 pregnant with GDM at GW 24 – 28 and vitamin D insufficiency were randomly allocated to two groups: one receiving daily 500IU and the other daily 1500IU of vitamin D3.

#### 3.5.1. Characteristics of subjects before and after vitamin D supplementation

Before vitamin D supplementation, there were no differences between 2 supplementation groups in age, GW, pre-conception BMI, weight gain and BMI increment from conception to visit 1, BMI at visit 1, obstetrical and familial diabetes history, blood biochemical parameters and HOMA2-IR indices.

There were no differences between the two groups in GWs at all the visits, vitamin D supplementation duration ( $9.7 \pm 1.5$  and  $9.9 \pm 1.7$  weeks in 500 IU and 1500 IU groups, respectively,  $p > 0,05$ ), weight gains and BMI increments from conception to all the visits and BMI at all the visits.

#### 3.5.2. Vitamin D change after vitamin D supplementation



**Chart 3.4. Plasma 25(OH)D before and after vitamin D supplementation**

Note: Values are (SD); p: comparison between 2 groups at each visit; visit 1 vs. visit 3 in each group: <sup>†</sup>  $p < 0,01$ , <sup>‡</sup>  $p < 0,001$ .

After vitamin D supplementation 1500 IU group had higher plasma 25(OH)D ( $79.82 \pm 10.11$  vs.  $67.41 \pm 10.62$  nmol/L,  $p < 0.001$ ) and higher increment ( $16.91 \pm 9.64$  vs.  $6.00 \pm 10.48$  nmol/L,  $p < 0.001$  (chart 3.4).



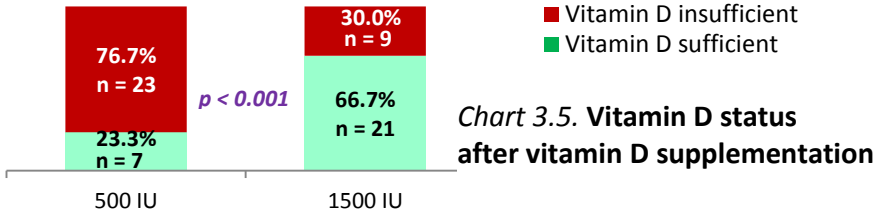


Chart 3.5. Vitamin D status after vitamin D supplementation

After supplementation, 1500 IU group had significantly higher vitamin D sufficient rate than 500 IU one (chart 3.5).

### 3.5.3. Treatment of GDM

The rate treatment with insulin and diet combination was 6.7% (n=2) and 10.0% (n = 3) in 500 IU and 1500 IU groups, respectively, the difference was not statistically significant.

### 3.5.4. Changes of FPG and HbA1c after vitamin D supplementation

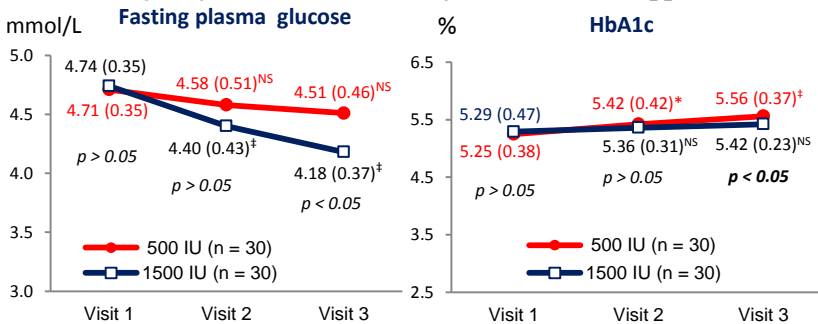


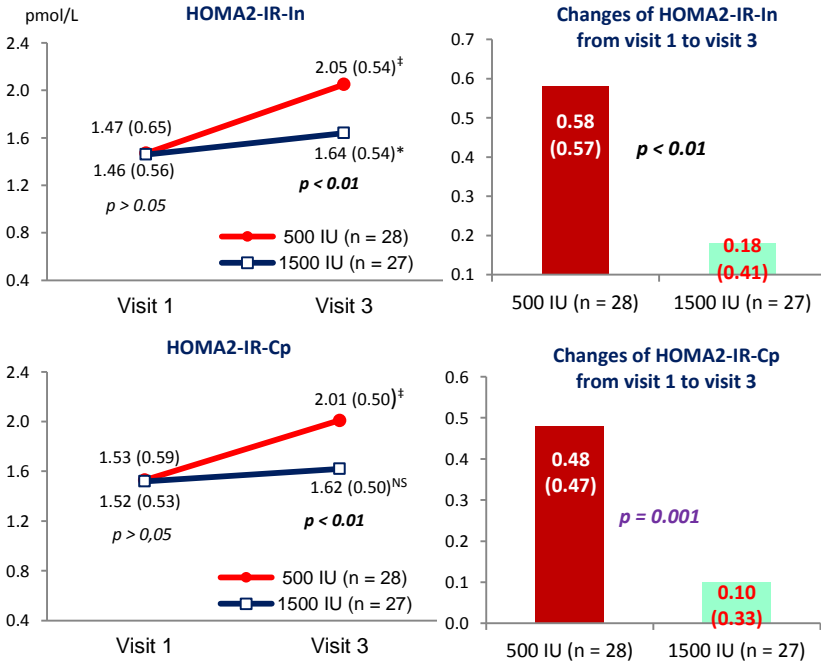
Chart 3.6. Fasting plasma glucose and HbA1c during the follow-up

Note: Values are (mean ± SD); p: comparison between 2 groups at each visit; visit 1 vs. visit 2 and 3 in each group: <sup>NS</sup>: non-significant, <sup>\*</sup>:  $p < 0.05$ ; <sup>‡</sup>:  $p < 0.01$ ; <sup>‡</sup>:  $p < 0.001$ .

- 1500 IU group had lower FPG than 500 IU group at visit 3. FPG of 500 IU group did not change through the visits, meanwhile FPG of 1500 IU group significantly decreased at visit 2 and 3 compared with visit 1.

- HbA1c of 500 IU group significantly increased at visit 2 and 3 compared with visit 1, meanwhile HbA1c of 1500 IU group did not significantly change through the visits.

### 3.5.5. Changes of HOMA2-IR indices after vitamin D supplementation



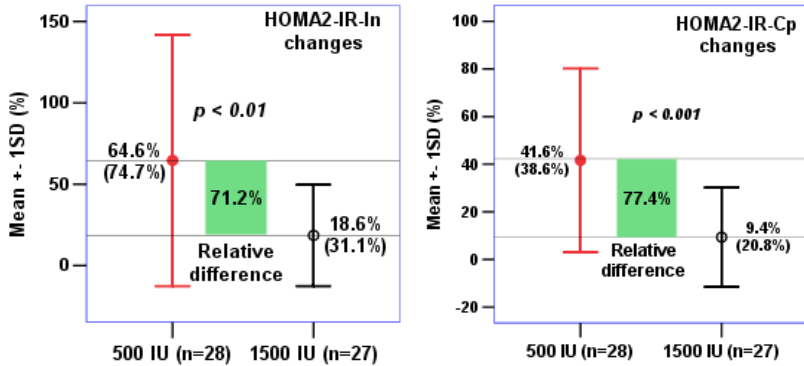
**Chart 3.7. HOMA2-IR indices from visit 1 to visit 3**

Note: Subjects treated with insulin were excluded; values are (SD); p: comparison between 2 group at each visit; visit 1 vs. visit 2 and 3 in each group: <sup>NS</sup>: non-significant, \*:  $p < 0.05$ ; <sup>†</sup>:  $p < 0.01$ ; <sup>‡</sup>:  $p < 0.001$ .

- At visit 3, 1500 IU group had significantly lower HOMA2-IR-In ( $1.64 \pm 0.54$  vs.  $2.05 \pm 0.54$ ,  $p < 0.01$ ) and lower HOMA2-IR-Cp ( $1.62 \pm 0.50$  vs.  $2.01 \pm 0.50$ ,  $p < 0.01$ ).

- Changes of HOMA2-IR indices from visit 1 (GW 24 – 28) to visit 3 (GW 36 – 38) after vitamin D supplementation: Both HOMA2-IR indices in 500 IU significantly increased, meanwhile only HOMA2-IR-In significantly increased but HOMA2-IR-Cp did not.

- The increments of HOMA2-IR indices of 1500 IU group were significantly lower than 500 IU group ( $0.18 \pm 0.41$  vs.  $0.58 \pm 0.57$ ,  $p < 0.01$  and  $0.10 \pm 0.33$  vs.  $0.48 \pm 0.47$ ,  $p = 0.001$  for HOMA2-IR-In and HOMA2-IR-Cp increments, respectively).



**Chart 3.8. Changes of HOMA2-IR indices in percentage from visit 1 to visit 3**

Note: Values are (Mean ± SD); p: comparison between 2 groups

- 1500 IU group had significantly higher percentage increases in HOMA2-IR indices than 500 IU group: HOMA2-IR-In increased by  $18.6 \pm 31.1\%$  compared with  $64.6 \pm 74.7\%$  ( $p < 0.01$ ); HOMA2-IR-Cp increased by  $9.4 \pm 20.8\%$  compared with  $41.6 \pm 38.6\%$  ( $p < 0.001$ ).

- When taking HOMA-IR changes of 500 IU group as 100%, the increases in HOMA2-IR indices of 1500 IU group (relative differences) were lower by 71.2% and 77.4% in respect to HOMA2-IR-In and HOMA2-IR-Cp, respectively.

## Chapter 4. DISCUSSIONS

### 4.1. Study subjects

A total of 104 pregnant women with and 55 without GDM participated in the study, meeting the sample size requirements.

The subjects were relatively homogenous in respect to GW (24 – 28 weeks) and blood glucose levels (subjects with “overt diabetes having higher blood glucose levels were excluded), which minimized confounding in exploring relationships between vitamin D and IR.

## **4.2. Vitamin D status and related factors**

### ***4.2.1. Vitamin D insufficiency prevalence***

The prevalence of vitamin D insufficiency, vitamin D deficiency and overall vitamin D insufficiency was 73.1%, 8.6% and 81.7%, respectively (chart 3.1). The vitamin D insufficiency prevalence is substantially higher than in other studies in pregnant and non-pregnant women in Vietnam: 58.6% and 52.0% in women of reproductive age in Hanoi and Hai Duong, respectively (V.T.T. Hien, 2007), 60% in pregnant women in a rural area of Ha Nam. Thus, vitamin D insufficiency is very common in Vietnam that although is located in the tropical zone and routine vitamin D supplementation for pregnant women, especially in the North part may be necessary.

### ***4.2.2. Plasma 25(OH)D level and related factors***

Plasma 25(OH)D level was inversely correlated to weight gain and BMI increment from the conception to visit 1 ( $r = -0.201$ ,  $p = 0.041$  and  $r = -0.231$ ,  $p = 0.019$ , respectively) (tab. 3.2). The association between vitamin D deficiency and overweight or obesity could related to increased sequestration of vitamin D in adipose tissue in these conditions.

## **4.3. Insulin resistance and related factors**

GDM group higher mean HOMA2-IR-In and higher rate of increased HOMA2-IR-In than NGDM one (tab. 3.4). Pregnant women with GDM have elevated IR compared with normal ones because besides physiologic pregnancy IR the former also have chronic IR existing before conception (Catalano 1997, Xiang 1999).

HOMA2-IR indices of GDM group were significantly correlated to preconception BMI, weight gain and BMI increment from conception to visit 1, BMI at visit 1, fasting plasma triglyceride that are traits of IR present in metabolic syndrome, type 2 DM and GDM in which IR is the central factor.

## **4.4. Relationships between vitamin D with insulin resistance, blood glucose and GDM**

### ***4.4.1. Relationships between vitamin D and insulin resistance***

*\* Linear correlation between plasma 25(OH)D and IR*

Plasma 25(OH)D level was inversely correlated to HOMA2-IR indices in in univariate model (chart 3.3). In multivariate regression model with factors related to IR (GW, pre-conception BMI and present BMI at visit 1, BMI increment from conception to visit 1, plasma triglyceride), plasma 25(OH)D remained significantly inversely correlated to HOMA2-IR-In and HOMA2-IR-Cp with standardized  $\beta$  -0,225 ( $p = 0,018$ ) and -0,283 ( $p = 0,002$ ), respectively (table 3.7). *Thus, plasma 25(OH)D level was independently inversely correlated to IR in women with GDM.*

*\* Relationships between vitamin D status and IR*

The vitamin D insufficient group had significantly higher and HOMA2-IR indices compared with the sufficient one (tab. 3.8). In the ANCOVA model in which HOMA2-IR was dependent variable and independent ones were vitamin D status and other related to IR including pre-conception BMI category ( $< 23$  or  $\geq 23$  kg/m<sup>2</sup>), BMI at visit 1, BMI increment from conception to visit 1 and fasting plasma triglyceride, vitamin D insufficiency remained significantly associated to increased HOMA2-IR-In and HOMA2-IR-Cp (tab. 3.9). *Thus, vitamin D insufficiency was independently associated to increased insulin resistance in women with GDM.*

Numerous studies worldwide had similar results: Maghbooli's study (2008): plasma 25(OH)D was significantly inversely correlated to HOMA-IR ( $r = -0.20$ ,  $p = 0.002$ ) in pregnant women at GW 24 – 28 and the association remained significant when adjusted by BMI and parity number in multivariate analysis. Lacroix's study (2014): plasma 25(OH)D at GW 6-13 was inversely correlated to HOMA-IR ( $r = -0.08$ ,  $p = 0.03$ ) and correlated to insulin sensitivity index Mastuda ( $r = 0.13$ ,  $p = 0.001$ ) at GW 24-28, and the associations remained significant when adjusted by the pregnant women waist circumference at GW 6-13 and plasma parathormone level.

*In summary, the study results demonstrated that plasma 25(OH)D was inversely related to IR in women with GDM and the association could be independent, that is vitamin D insufficiency could contribute to increased IR in those subjects. That could explain the association between decreased plasma 25(OH)D level*

*with elevated blood glucose and increased risk of GDM as discussed above.*

#### ***4.4.2. Relationships between vitamin D and blood glucose***

When taking both GDM and NGDM groups, plasma 25(OH)D was significantly inversely correlated to plasma glucose levels at 0 and 1 hours in the OGTT (tab. 3.3). Similar studies showed that plasma 25(OH)D was inversely correlated to fasting plasma glucose ( $r = -0.20$ ; CI95%  $-0.31 - -0.08$ , Clifton-Bligh 2008) and fasting plasma glucose and OGTT 1-h plasma glucose ( $r = -0.16$ ,  $p = 0.05$  in both cases, Lau 2011).

#### ***4.4.3. Relationships between vitamin D and GDM***

GDM group had significant higher plasma 25(OH)D level compared to NGDM one, and GDM risk increased by 2.18 times with vitamin D insufficiency (95% CI: 1.03 – 4.61) (chart 3.2). Meta-analysis studies showed that GDM risk due to vitamin D insufficiency increased by 1.609 times (95%CI: 1.19 – 2.17, Poel 2012) and by 1.49 times (95%CI: 1.18 – 1.89, Aghajafari 2013).

### **4.5. Effects of vitamin D supplementation vitamin D on IR**

#### ***4.5.1. Study design***

IR in pregnant women starts to rise progressively from the beginning of pregnancy second half until its end, therefore study designs comparing two different vitamin D doses are appropriate to test a hypothesis that the higher dose results in less increase of IR during this period.

The study chose two vitamin D3 doses, daily 500 IU, close to the Institute of Medicine daily recommended allowance (600 IU daily), and daily 1500 IU that is the lower limit of Endocrine Society recommended daily requirement range (1500 – 2000 IU daily) to compare their effects on IR.

#### ***4.5.2. Characteristics of study subjects during vitamin D supplementation***

There were no differences between two vitamin D supplementation groups in IR related characteristics and HOMA2-IR indices before the supplementation. There were not either differences between two groups in weight gains, BMI increments and gestation weeks at all the visits, and supplementation duration.

That ensured that the comparison the vitamin D effects between two groups not confounded by these factors.

#### ***4.5.3. Vitamin D supplementation duration***

Mean vitamin D supplementation duration is similar between two groups ( $9.7 \pm 1.5$  weeks and  $9.9 \pm 1.7$  weeks,  $p > 0,05$ ). Such vitamin D supplementation durations were long enough to detect its effects on IR. Two trials by Asemi demonstrated that vitamin D supplementation for 6 and 9 weeks reduced IR in pregnant women.

#### ***4.5.4. Change of vitamin D after its supplementation***

Vitamin D supplementation with 1500 IU/day was much more effective in respect to plasma 25(OH)D level ( $79.82 \pm 10.11$  vs.  $67.41 \pm 10.62$  nmol/L, respectively,  $p < 0,001$ ), its increment ( $16.91 \pm 9.64$  vs.  $6.00 \pm 10.48$  nmol/L, respectively,  $p < 0,001$ , chart 3.4), and vitamin D sufficiency rate (70.0% vs. 23.3%, respectively,  $p < 0,001$ , chart 3.5).

#### ***4.5.5. GDM treatment methods***

Two (6.7%) and three (10.0%) pregnant women in 500 IU and 1500 IU group, respectively had insulin therapy, the difference was not significant with  $p > 0,05$ . Those subjects were excluded from analysis involving insulin, C-peptide and HOMA2-IR indices. The similar insulin treatment rates of 2 groups minimized the subject exclusion influence on comparison of vitamin D supplementation between 2 groups.

#### ***4.5.6. Changes in blood glucose, HbA1c and HOMA2-IR indices***

##### ***4.6.6.1. Changes of blood glucose status***

1500 IU group had better FPG evolution than 500 IU one: the former had lower FPG at visit 3 compared with the latter; FPG of the former significantly decreased at visit 2 and 3 compared with visit 1, meanwhile FPG of 500 IU group did not significantly change through all the visits (chart 3.6).

1500 IU group had better HbA1c evolution than 500 IU one: HbA1c of the former did not significantly change through all the visits, meanwhile HbA1c of the latter at visit 2 and 3 were significantly increased compared with visit 1 (chart 3.6).

Because both groups had similar blood glucose before vitamin D supplementation and were educated on diet and exercise in the

similar manner, vitamin D supplementation with daily 1500 IU could have improving effects on blood glucose compared with daily 500 IU.

#### 4.5.6.2. *Changes in HOMA2-IR indices*

After vitamin D supplementation, 1500 IU had clearly better IR status than 500 IU one:

- The former had a significant increase in only HOMA2-IR but not in HOMA2-IR-Cp, meanwhile the latter had significantly increased both HOMA2-IR indices (chart 3.7).
- At visit 3, the former had significant lower HOMA2-IR-In (chart 3.7).
- The former had significant lower increments of HOMA2-IR (chart 3.7).
- The former had significant lower percentage increments in HOMA2-IR-In (chart 3.8).
- When taking the increments in HOMA2-IR indices of 500 IU group as 100%, the increments of 1500 IU group were reduced by 71.2% and 77.4% by HOMA2-IR-In and HOMA2-IR-Cp, respectively (chart 3.8).

IR progressively increases from the beginning of pregnancy second half until delivery. *Thus, vitamin D supplementation with 1500 IU/day could not absolutely reduce IR, but could substantially reduce IR increase for period from GWs 24 – 28 to GWs 36 – 38.*

Other abroad studies also demonstrated that vitamin D supplementation versus placebo or vitamin D supplementation with higher doses versus lower doses reduced IR in pregnant women with and without GDM.

- In a study by Asemi and co-workers vitamin D supplementation with daily 400 IU in pregnant women for 9 weeks, starting from GW 25, lowered FPG more than placebo (-0.65 vs. -0.12 mg/dL,  $p = 0.01$ ) and decreased HOMA-IR, meanwhile the placebo increased this index (-0,34 vs. +0,60,  $p = 0,06$ ).

- In another study by Asemi and co-workers vitamin D supplementation with two doses of 50,000 IU two weeks apart with placebo in pregnant women at GWs 24 - 28 for 6 weeks decreased FPG ( $-17.12 \pm 14.84$ mg/dl,  $p < 0.001$ ) and HOMA-IR ( $-1.21 \pm$



1.41,  $p = 0.001$ ), meanwhile, the placebo did not significantly change these indices.

- A study by Soheilykhah and co-workers compared different vitamin D doses supplemented for pregnant women from GW 12 until the delivery. After the supplementation, the group with vitamin D supplementation of 50,000 IU every two weeks had lower increases in fasting plasma insulin ( $3.58 \pm 4.16$  vs.  $6.9 \pm 7$  IU/ml,  $p = 0.01$ ) and lower increases in HOMA1-IR ( $0.7 \pm 1.04$  vs.  $1.46 \pm 1.69$ ,  $p = 0.02$ ) compared with the group receiving daily 200 IU.

In pregnant women, particularly in the ones with GDM, IR progressively increases from the beginning second half until the end of pregnancy. The present study compared effects of two vitamin D doses. The daily dose of 1500 IU resulted in better blood glucose and, although did not absolutely decreased IR, did reduced IR increase for that period compared with daily dose of 500 IU. The results were similar with those of Soheilykhah's study in which higher doses of vitamin D (daily 2000 IU and daily 4000 IU) could only reduce IR increase from the pregnancy beginning to its end but could not absolutely decrease IR for this period.

Vitamin D decreases IR by a number of mechanisms demonstrated in experiments, including the following: Increasing insulin receptor expression; Stimulating of synthesis of PPAR $\delta$ , a transcription factor of proteins participating in lipid metabolism; Maintaining intracellular calcium ion level; Suppressing pro-inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$ , Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-6; Suppressing renin – angiotensin system.

## CONCLUSIONS

The study on 104 pregnant with GDM at The National Hospital of Gynecology & Obstetrics and The National Hospital of Endocrinology had the following conclusions:

**1. Vitamin D insufficiency prevalence in women with GDM in gestation weeks 24 to 28 was 81.7%.**

**2. Plasma 25(OH) D concentration was inversely associated to insulin resistance in pregnant women with GDM in gestational weeks 24 to 28.**

Plasma 25(OH)D concentration was inversely correlated to insulin resistance with  $r = -0.298$ ,  $p = 0.002$  and  $r = -0.314$ ,  $p = 0,001$  for HOMA2-IR indices assessed by fasting plasma insulin and C-peptide, respectively. The association remained significant when adjusted by gestation week, preconception BMI, present BMI, BMI increment from conception and fasting plasma triglyceride.

Vitamin D insufficiency was associated to increased insulin resistance. The association remained significant when adjusted by preconception BMI increase, BMI increment from conception, present BMI and fasting plasma triglyceride.

**3. Vitamin D supplementation with daily 1500 IU for period from gestation weeks 24-28 until 36-38 in pregnant women with GDM reduced insulin resistance compared with daily 500 IU.**

After vitamin D supplementation, 1500 IU group reduced insulin resistance increase by 71.2% and 77.4% by HOMA2-IR indices assessed by fasting plasma insulin and C-peptide, respectively, compared with 500 IU one.

## RECOMMENDATIONS

1. Because vitamin D insufficiency is very common in women with GDM, this condition should be routinely detected in this group and vitamin D be supplemented for those with this condition.

2. It is necessary to further study effects of vitamin D supplementation as adjuvant therapy of GDM in women with vitamin D insufficiency, especially vitamin D deficiency, and effects on GDM prevention in early pregnancy, particularly in women at high risk for both conditions.