



# Concentraciones séricas maternas de 25-hidroxivitamina D en el primer trimestre y resultados adversos gestacionales

Álvarez-Silvares E,<sup>1</sup> Vilouta-Romero M,<sup>2</sup> Borrajo-Hernández E,<sup>2</sup> Morales-Serrano ML,<sup>3</sup> Alves-Pérez MT<sup>4</sup>

## Resumen

**ANTECEDENTES:** la deficiencia de vitamina D (25(OH)D) se relaciona con diversas afecciones de la gestación y del recién nacido. La fisiopatología de esta relación aún no se conoce del todo.

**OBJETIVO:** establecer si las concentraciones séricas de vitamina D determinadas al inicio de la gestación se relacionan con: diabetes gestacional, cuadros hipertensivos del embarazo, prematuridad y alteraciones del crecimiento fetal.

**MATERIAL Y MÉTODO:** estudio de cohortes, prospectivo, efectuado en gestantes de bajo riesgo obstétrico, seleccionadas al azar en Ourense, España (latitud 42° 20'N). Se determinó la concentración de la 25-hidroxivitamina D entre las semanas 8 y 14. Se estudió la relación entre los valores de la 25-hidroxivitamina D y la diabetes gestacional, preeclampsia, prematuridad, retraso del crecimiento intrauterino y fetos pequeños para la edad gestacional. El análisis estadístico se efectuó con los programas SPSS 15.0 y Epidat 3.1.

**RESULTADOS:** se estudiaron 370 pacientes, de ellas 96.8% tuvieron hipovitaminosis; de éstas, 34.6% con deficiencias severas. Al ajustar las variables maternas y estacionales no se encontró asociación entre las concentraciones de vitamina D al inicio de la gestación y los resultados adversos estudiados.

**CONCLUSIÓN:** no se encontró asociación significativa entre el déficit de vitamina D determinado al inicio de la gestación y los padecimientos seleccionados.

**PALABRAS CLAVE:** vitamina D, gestación, diabetes gestacional, preeclampsia, prematuridad, crecimiento fetal.

<sup>1</sup> Jefa de la Sección de Obstetricia.

<sup>2</sup> Médico adjunto al servicio de Obstetricia y Ginecología.

<sup>3</sup> Médico interno, residente del servicio de Obstetricia y Ginecología.

Complejo Hospitalario Universitario de Ourense, España.

<sup>4</sup> Grupo de Investigación NECOM, Universidad de Vigo, España.

Recibido: noviembre 2015

Aceptado: enero 2016

## Correspondencia

Dra. Esther Álvarez-Silvares

Ramón Puga 54

32005 Ourense, España

laciuentadealvarez@gmail.com

## Este artículo debe citarse como

Álvarez-Silvares E, Vilouta-Romero M, Borrajo-Hernández E, Morales-Serrano ML, Alves-Pérez MT. Concentraciones séricas maternas de 25-hidroxivitamina D en el primer trimestre y resultados adversos gestacionales. Ginecol Obstet Mex. 2016 mar;84(3):150-163.



Ginecol Obstet Mex. 2016 Mar;84(3):150-163.

## Maternal serum 25-hydroxy vitamin D levels in the first trimester and adverse gestational outcomes

Álvarez-Silvares E,<sup>1</sup> Vilouta-Romero M,<sup>2</sup> Borrajo-Hernández E,<sup>2</sup> Morales-Serrano ML,<sup>3</sup> Alves-Pérez MT<sup>4</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Some disorders of pregnancy and newborn have been associated with vitamin D deficiency (25 (OH) D) in maternal serum. The pathophysiology of this relationship is unknown today.

**OBJECTIVE:** The aim of this study was to determine whether serum levels of vitamin D at the beginning of pregnancy are associated with gestational diabetes, hypertensive disorders of pregnancy, preterm birth and fetal growth restriction.

**MATERIAL AND METHOD:** We conducted a prospective cohort study in 370 pregnant women at low obstetric risk randomly selected in our area (latitude 42 ° 20'N). The level of 25-hydroxy vitamin D was determinate between 8 and 14 weeks of pregnancy. We studied the relationship between the status of vitamin D and gestational diabetes, preeclampsia, preterm birth, intrauterine growth restriction and small for gestational age. The statistic analysis was performed using SPSS 15.0 and 3.1 Epidat programs.

**RESULTS:** The prevalence of vitamin D deficiency in pregnant women in this serie was 96.8%, 34.6% had severe deficiency. After adjusting for maternal and seasonal variables, we haven't found association between first trimester maternal serum vitamin D levels and pregnancy outcomes studied.

**CONCLUSIONS:** The pregnancy outcome was independent of the first trimester maternal serum 25(OH)D status.

**KEYWORDS:** Vitamin D; Pregnancy; Gestational diabetes; Preeclampsia; Preterm birth; Fetal growth

<sup>1</sup> Jefa de la Sección de Obstetricia.

<sup>2</sup> Médico adjunto al servicio de Obstetricia y Ginecología.

<sup>3</sup> Médico interno, residente del servicio de Obstetricia y Ginecología.

Complejo Hospitalario Universitario de Ourense, España

<sup>4</sup> Grupo de Investigación NECOM, Universidad de Vigo, España.

### Correspondence

Dra. Esther Álvarez-Silvares

Ramón Puga 54

32005 Ourense, España

lacuentadealvarez@gmail.com

### ANTECEDENTES

La vitamina D está constituida por diferentes moléculas que difieren, principalmente, en grado y lugar de la hidroxilación; pueden distinguirse la vitamina D2 o ergosterol, la vitamina D3 o colecalciferol, la 25-hidroxivitamina D o cal-

cidiol y la 1,25-hidroxivitamina D o calcitriol. Las principales fuentes de vitamina D para los humanos provienen de la síntesis cutánea de vitamina D3 y, en menor cantidad, de la ingesta de alimentos ricos en vitaminas D2 y D3.<sup>1</sup> Las vitaminas D2 y D3 requieren el proceso de hidroxilación para convertirse en calcitriol, que

es el metabolito responsable de la mayor parte de sus funciones. En esta cadena, para obtener el calcidiol es necesaria la hidroxilación hepática en la posición C-25. Posteriormente, tras el efecto de la 1-alfa hidroxilasa renal se obtiene el calcitriol.<sup>2</sup>

El calcidiol (25-hidroxivitamina D) es, por su vida media plasmática de 3-4 semanas, el metabolito más utilizado y recomendado en la práctica clínica diaria para determinar las concentraciones de la vitamina D y valorar su estado deficitario. Sin embargo, aún no existe un consenso acerca de los valores del calcidiol para definir su suficiencia.<sup>3</sup> Hasta hace pocos años se recurrió a los criterios de Lips<sup>4</sup> pero se determinó que las concentraciones de calcidiol de 75-80 nmol/L (30 ng/mL) permiten mayor supresión de la paratohormona, mayor absorción de calcio y mayor densidad mineral ósea. Con base en estos hallazgos, la Sociedad Norteamericana de Endocrinología<sup>5</sup> definió a la hipovitaminosis D como las concentraciones de calcidiol inferiores a 75 nmol/L.

La función más importante del calcidiol es la regulación del metabolismo óseo, la homeostasis del calcio y fósforo y el mantenimiento de la función muscular. Hoy día, gracias a los resultados de la investigación de sus acciones extraesqueléticas, su déficit también se relaciona con mayor riesgo de infecciones, diabetes, enfermedades cardiovasculares, asma, obesidad, enfermedad inflamatoria intestinal, algunos tipos de cáncer y ciertas enfermedades neurológicas. En las células del sistema inmunitario, páncreas, placenta, vasos sanguíneos, colon y mama se ha demostrado la existencia del “receptor de la vitamina D” y de la enzima 1-alfa-hidroxilasa, entre otras localizaciones,<sup>6</sup> circunstancia que apoya la participación de la vitamina D en la patogénesis de esos padecimientos.

Las bajas concentraciones de esta vitamina durante el embarazo se asocian con mayor riesgo

de: abortos de repetición, preeclampsia, diabetes gestacional, infecciones maternas, prematuridad, incremento de la tasa de cesáreas, fetos pequeños para la edad gestacional, alteraciones en el desarrollo neurológico y otros problemas de salud en la descendencia.<sup>6,7,8</sup>

La deficiencia materna de vitamina D, es según los criterios actuales, un serio problema de salud en muchos países. Se estima que alrededor de dos tercios de las embarazadas de Estados Unidos y 65% de las de Canadá<sup>9</sup> tienen un estado deficiente de vitamina D. Estos datos son similares a los obtenidos en embarazadas españolas, en el estudio de Rodríguez-Dehli.<sup>7</sup>

La escasa exposición al sol, combinada con la baja ingestión de alimentos con vitamina D, es la primera causa de su deficiencia. Está descrita la variación estacional de las concentraciones de vitamina D, quizás influida por factores que disminuyen la efectividad de la exposición al sol, como mayor cobertura de ropa en meses fríos, las horas del día de permanencia en el exterior, la latitud y el ángulo de incidencia de los rayos ultravioleta. Cada vez existen más estudios que plantean la necesidad de que las embarazadas reciban suplementos con vitamina D, pero no existen evidencias para generalizar su indicación ni se sabe con certeza cuál sería la dosis adecuada o el momento de inicio. Existen estudios que confirman la inocuidad y eficacia de los suplementos en dosis altas en mujeres embarazadas con déficit severo de esta vitamina.<sup>10,11</sup> En la actualidad no se recomienda el cribado universal ni la suplementación con 25-hidroxivitamina D durante la gestación. Sin embargo, Burris HH y su grupo<sup>12</sup> sugieren que podría considerarse el cribado de las concentraciones de calcidiol (25-hidroxivitamina D) en las mujeres con factores de riesgo de hipovitaminosis D y valorar la suplementación cuando se demuestre el déficit.

En la bibliografía médica no existe un consenso que demuestre, definitivamente, la relación



causal entre el déficit de calcidiol (25-hidroxivitamina D) y las complicaciones obstétricas. Los resultados de los estudios longitudinales y casos control son dispares. En los estudios de intervención no se ha observado un descenso en la prevalencia de las diferentes enfermedades estudiadas; por todo ello, el reto actual consiste en demostrar si realmente el calcidiol participa en la patogénesis de estas complicaciones y si se alcanzan las concentraciones óptimas mediante la suplementación a la mujer embarazada que haga que la tasa de complicaciones disminuya.

Los objetivos de esta investigación son: 1) conocer las concentraciones circulantes de calcidiol (25-hidroxivitamina D) en una población de mujeres gestantes de nuestro entorno. 2) Determinar la prevalencia de la deficiencia de calcidiol en gestantes de nuestra área y 3) Analizar la relación entre la hipovitaminosis D al principio de la gestación y las afecciones gestacionales y perinatales.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio de cohortes, prospectivo, efectuado entre marzo de 2013 y junio de 2014 en gestantes con feto único, de bajo riesgo obstétrico, elegidas al azar entre las pacientes atendidas en el Complexo Hospitalario Universitario de Ourense (latitud 42° 20'N). Todas otorgaron su consentimiento informado para participar en el estudio. La determinación de las concentraciones de calcidiol (25-hidroxivitamina D) se efectuó entre las semanas 8 y 14 de la gestación.

Se revisaron las historias clínicas de las madres y sus recién nacidos y los datos relevantes fueron: demográficos, complicaciones gestacionales y antropométricos del recién nacido.

La determinación cuantitativa del calcidiol en plasma se estableció mediante electroquimioluminiscencia (inmunoensayo) con el analizador

Cobas-e411 de la marca comercial Roche Diagnóst. El límite inferior de detección se establece en 3 ng/mL (7.5 nmol/L).

Los valores del calcidiol se expresaron en ng/mL. La cohorte se categorizó según las concentraciones de calcidiol siguiendo las directrices de la Sociedad Norteamericana de Endocrinología (2012):<sup>5</sup>

Normal:  $\geq 30$  ng/mL ( $\geq 75$  nmol/L)

Insuficiente: entre 20-29 ng/mL

Deficiente: entre 10-19 ng/mL

Deficiencia severa: menos de 10 ng/mL (menos de 25 nmol/L)

Se realizó un análisis descriptivo de la población de estudio y las variables cualitativas se describieron como frecuencias y porcentajes, y las variables cuantitativas como media, mediana, desviación típica, mínimo y máximo.

Para determinar la distribución gaussiana de las variables continuas se realizaron pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov- Shapiro Wilks). En las variables con distribución normal se aplicaron las pruebas paramétricas (t de Student para muestras independientes) y en las variables que no cumplían dicha condición se usaron pruebas no paramétricas (U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis).

Para la comparación de variables cualitativas se utilizaron  $\chi^2$  y prueba exacta de Fisher. Los datos se recolectaron en una base de Excel y para su análisis se utilizó el programa SPSS 15.0, Epidat 3.1. En todos los análisis se consideraron estadísticamente significativos los valores de  $p < 0.05$ .

**Definiciones:** diabetes gestacional: dos o más valores alterados en la curva de tolerancia a la glucosa según los criterios NDDG (1979).<sup>13</sup>  
 Valor de glucosa basal: 105 mg/dL (5.83 mmol/L)

dL), valor a la primera hora: 190 mg/dL (10.55 mmol/dL), valor a la segunda hora: 165 mg/dL (9.16 mmol/dL), valor a la tercera hora: 145 mg/dL (8.05 mmol/dL).

**Prematuridad:** finalización del embarazo antes de las 37 semanas de amenorrea corregida por la ecografía del primer trimestre.

**Preeclampsia:** hipertensión arterial de nueva aparición asociada con proteinuria o disfunción orgánica en una gestante de más de 20 semanas, previamente normotensa.<sup>14</sup>

**Feto pequeño para la edad gestacional:** peso fetal estimado entre el percentil 3 y 10 (según las tablas poblacionales de peso-amenorrea),<sup>15</sup> sin alteraciones en el estudio fluxométrico.

**Retraso del crecimiento intrauterino:** feto con un crecimiento por debajo del percentil 3, según las tablas poblacionales de peso-amenorrea o feto con crecimiento por debajo del percentil 10, con alteraciones en el índice cerebro-placentario, o el Doppler de la arteria uterina.<sup>16,17</sup>

**Cálculo de la potencia del estudio:** se calculó con base en la proporción de pacientes con hipovitaminosis que terminaron en partos con recién nacidos con alteraciones del crecimiento.

La proporción de mujeres sin alteración del calcidiol que tuvieron fetos pequeños fue de 47.5 y con alteración del calcidiol 97.6%. Puesto que por cada caso hubo 8 controles para un nivel de confianza de 95%, la potencia de este estudio es de 99.99%.

## RESULTADOS

Se seleccionaron al azar 402 gestantes de las que se excluyeron 38 luego de la revisión sistemática de la historia clínica. La edad media de

las gestantes fue de 32.2 años con límites de 17 y 44 años. El 31.3% (n = 116) tuvo sobrepeso (IMC: 25-29.9) y 10.2% (n = 38) obesidad (IMC  $\geq$  30). Las principales variables de la muestra se enlistan en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Media, mínimo y máximo de las principales variables

Variable	Media	Mínimo	Máximo
Edad	32.26 $\pm$ 5.11	17	44
IMC	24.32 $\pm$ 3.8	16.90	37
Embarazos	1.05 $\pm$ 0.7	0	5
Amenorrea al parto	39.45 $\pm$ 1.8	25.71	42
Peso fetal	3203 $\pm$ 520.91	520	4530
Vitamina D (valor)	13.8 $\pm$ 8.47	2	67

La edad gestacional media al momento de la determinación sérica del calcidiol fue de 9.5  $\pm$  1.3 semanas con un rango entre 7 y 14 semanas (amenorrea corregida por ecografía temprana).

Los valores plasmáticos medios del calcidiol fueron 13.80 ng/mL con un mínimo de 3 y un máximo de 67 ng/mL. La categorización de los valores del calcidiol se enlista en el Cuadro 2. Solo 3.2% de nuestra cohorte tuvo concentraciones normales de la 25-hidroxivitamina D y 78.9% se encontró con deficiencia o deficiencia severa. El momento estacional de la determinación bioquímica se señala en el Cuadro 3 y Figura 1.

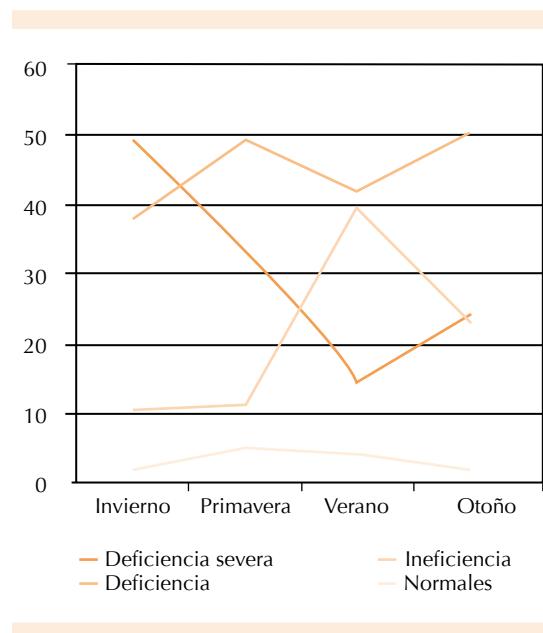
La mayor prevalencia de insuficiencia, deficiencia y deficiencia severa de calcidiol en la

**Cuadro 2.** Porcentajes de gestantes según la categorización de las concentraciones plasmáticas de 25-hidroxivitamina D

Vitamina D (ng/mL)	%
Normales	3.2
Insuficientes	17.8
Deficientes	44.3
Deficiencia severa	34.6

**Cuadro 3.** Distribución de las concentraciones de calcidiol según la estación del año

Vitamina D (ng/mL)	n	normal	Insuficiente	Deficiente	Deficiencia severa
Inviero (enero, febrero, marzo)	134 (36.21%)	3 (2.2%)	14 (10.4%)	51 (38.1)	66 (49.3%)
Primavera (abril, mayo, junio)	94 (25.4%)	5 (5.35)	11 (11.7%)	46 (48.9%)	32 (34%)
Verano (julio, agosto, septiembre)	48 (12.97%)	2 (4.2%)	19 (39.6%)	20 (41.7%)	7 (14.6%)
Otoño (octubre, noviembre, diciembre)	94 (25.4%)	2 (2.1%)	22 (23.4%)	47 (50%)	23 (24.5%)

**Figura 1.** Porcentajes según categorización de calcidiol por estación.

población de estudio fue en los meses de menor exposición solar (enero, febrero, marzo) ( $p < 0.001$ ). El porcentaje de gestantes con valores de calcidiol normales es mayor en los meses con más horas de luz solar ( $p < 0.001$ ).

No se encontraron diferencias significativas en los valores de calcidiol respecto de la edad materna al inicio de la gestación ( $p = 0.528$ ).

Al categorizar la variable edad y comparar a las pacientes mayores de 38 años con las de menor

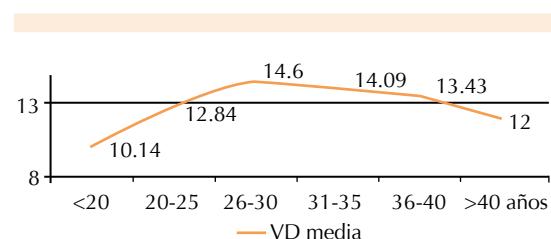
edad, tampoco se alcanzó la significación ( $p = 0.512$ ).

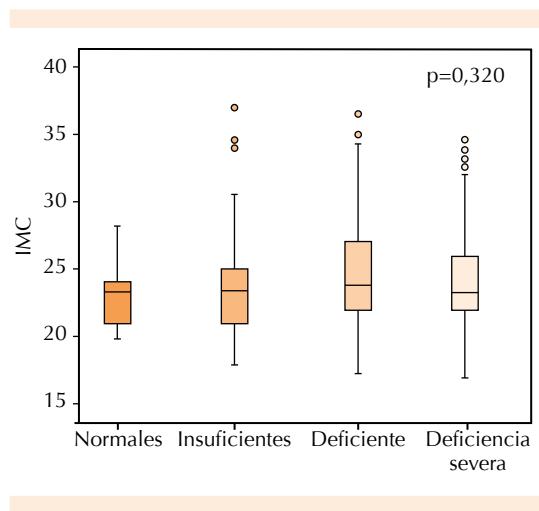
El grupo de edad con mayor valor plasmático medio de calcidiol fue el comprendido entre 26 y 30 años y quienes tuvieron concentraciones medias menores fueron las gestantes con edad menor a 20 años. Figura 2

Al comparar a las gestantes menor/igual de 20 años con el resto de la serie, no se obtuvo significación estadística ( $p = 0.132$ ).

No se encontraron diferencias significativas en los valores de calcidiol respecto del índice de masa corporal (IMC) al inicio de la gestación ( $p = 0.320$ ). Figura 3

En el Cuadro 4 pueden observarse los principales datos estadísticos de la relación entre los valores de calcidiol y el índice de masa corporal.

**Figura 2.** Valores plasmáticos medios de calcidiol según grupos de edad.



**Figura 3.** Diagrama de cajas. Relación entre IMC y categorización de la 25-hidroxivitamina D.

Al comparar a las pacientes con  $IMC \geq 30$  con las que tuvieron  $IMC < 30$ , tampoco se alcanzó la significación ( $p = 0.557$ ).

Las concentraciones de calcidiol categorizadas no se relacionan estadísticamente con ninguna de las variables descriptivas: edad materna, paridad, IMC, amenorrea al parto, peso fetal.

Los padecimientos encontrados en la cohorte, junto con sus frecuencias, se señalan en el Cuadro 5.

#### *Relación entre estados patológicos y concentraciones de calcidiol*

**Diabetes gestacional.** Las pacientes con diabetes gestacional tuvieron un valor medio de calcidiol

**Cuadro 5.** Padecimientos estudiados e incidencia en la cohorte estudiada

Padecimientos	Incidencia (%)
Diabetes gestacional	5.95
Prematuridad	5.95
Pequeño para la edad gestacional	7.3
Restricción del crecimiento intrauterino	4.1
Preeclampsia	4.86

diol al inicio de la gestación de  $15.22 \pm 10.93$ , mientras que el grupo sin diabetes gestacional reportó valores medios de  $13.71 \pm 8.27$  ng/mL.

En el Cuadro 6 se observa la relación entre las concentraciones de calcidiol y la presencia-ausencia de diabetes gestacional.

El valor del calcidiol al inicio de la gestación no se asoció con la posterior aparición de diabetes gestacional ( $p = 0.737$ ).

Al categorizar las concentraciones de calcidiol en  $\geq 20$  ng/mL y menores de 20 ng/mL no se encontró significación estadística que lo relacione con la posterior aparición de diabetes gestacional ( $p = 0.691$ ).

**Preeclampsia.** las pacientes con preeclampsia tuvieron un valor medio de calcidiol de  $11.22 \pm 7.5$ , mientras que los valores medios de las que no la padecieron fueron de  $13.93 \pm 8.48$  ng/mL.

En el Cuadro 7 puede observarse la relación entre las concentraciones de calcidiol y la presencia-ausencia de preeclampsia.

**Cuadro 4.** Tabla de contingencia: concentraciones de vitamina D e IMC materno al inicio de la gestación

Concentraciones de vitamina D	Media	Desv. típ.	Mediana	Mínimo	Máximo
Normales	23.217	2.7931	23.300	19.8	28.2
Insuficiente	23.954	3.9792	23.400	17.9	37.0
Deficiente	24.623	3.8049	23.800	17.3	36.5
Deficiencia severa	24.212	3.7650	23.300	16.9	34.6
Total	24.316	3.7953	23.500	16.9	37.0



**Cuadro 6.** Tabla de contingencia: presencia-ausencia de diabetes gestacional y concentraciones de 25-hidroxivitamina D-categorizadas

		Concentraciones				Total	
		Normales	Insuficiente	Deficiente	Deficiencia severa		
DG	No	Recuento	11	63	152	122	248
	Sí	Recuento	1	3	12	6	22
Total		Recuento	12	66	164	128	370
		% de DG	3.2%	17.8%	44.3%	34.6%	100%

**Cuadro 7.** Tabla de contingencia: presencia-ausencia de preeclampsia y concentraciones de 25-hidroxivitamina D-categorizadas

Preeclampsia		Concentraciones				Total
		Normales	Insuficiente	Deficiente	Deficiencia severa	
no	n	12	63	157	120	352
	% de HTA	3.4%	17.9%	44.6%	34.1%	100%
si	n	0	3	7	8	18
	% de HTA	.0%	16.7%	38.9%	44.4%	100%
Total	n	12	66	164	128	370
	% de HTA	3.2%	17.8%	44.3%	34.6%	100%

El valor plasmático de calcidiol al inicio de la gestación no se asoció con el inicio posterior de preeclampsia ( $p = 0.733$ ).

Al categorizar las concentraciones de calcidiol en  $\geq 20$  ng/mL y menores de 20 ng/mL, no se encontró significación estadística que las relacione con el inicio posterior de preeclampsia ( $p = 0.638$ ).

**Prematuridad.** Las pacientes con partos prematuros tuvieron un valor medio de calcidiol al inicio de la gestación de  $13.36 \pm 7.44$ , mientras que en las gestantes con gestaciones a término los valores medios fueron:  $13.83 \pm 8.52$  ng/mL.

En el Cuadro 8 se observa la relación entre las concentraciones de calcidiol y la prematuridad.

El valor del calcidiol al inicio de la gestación no se asoció con parto prematuro ( $p = 0.944$ ).

Al categorizar las concentraciones de calcidiol en  $\geq 20$  ng/mL y menores de 20 ng/mL no se encontró significación estadística que las relacione con parto prematuro ( $p = 0.731$ ).

**Feto pequeño para la edad gestacional.** Las pacientes cuya gestación finalizó con el parto de un feto pequeño para la edad gestacional tuvieron un valor medio de calcidiol al inicio de la gestación de  $15 \pm 7.17$ . El valor medio de calcidiol en las pacientes con fetos de peso normal fue de  $13.86 \pm 8.64$  ng/mL.

El valor del calcidiol al inicio de la gestación no se asoció con parto con feto pequeño para la edad gestacional ( $p = 0.691$ ).

Cuadro 8. Tabla de contingencia: presencia-ausencia de prematuridad y concentraciones de 25-hidroxivitamina D-categorizadas

		Concentraciones				Total		
		Normales	Insuficiente	Deficiente	Deficiencia severa			
PP	No	Recuento	11	63	154	120	348	
		% de PP	3.2%	18.1%	44.3%	34.5%	100%	
	Sí	Recuento	1	3	10	8	22	
		% de PP	4.5%	13.6%	45.5%	36.4%	100%	
Total		Recuento	12	66	164	128	370	
		% de PP	3.2%	17.8%	44.3%	34.6%	100%	

Al categorizar las concentraciones de calcidiol en  $\geq 20$  ng/mL y menores de 20 ng/mL no se encontró significación estadística que las relacione con feto pequeño para la edad gestacional ( $p = 0.345$ ).

**Restricción del crecimiento intrauterino.** Las pacientes con finalización de la gestación con un feto con restricción del crecimiento intrauterino tuvieron un valor medio de calcidiol al inicio de la gestación de  $10.27 \pm 5.23$ ; el valor medio de las pacientes con fetos de peso normal fue de  $13.86 \pm 8.64$  ng/mL.

El valor del calcidiol al inicio de la gestación no se asoció con parto con restricción del crecimiento intrauterino ( $p = 0.1$ ).

Al categorizar las concentraciones de calcidiol en  $\geq 20$  ng/mL y menores de 20 ng/mL no se encontró significación estadística con restricción del crecimiento intrauterino ( $p = 0.345$ ).

## DISCUSIÓN

La deficiencia de calcidiol (25-hidroxivitamina D) es un problema común en las mujeres en edad reproductiva que viven en los países desarrollados; debido a ello es creciente el interés por su posible asociación con efectos adversos durante la gestación.

En nuestra serie encontramos una alta tasa de deficiencia de calcidiol (25-hidroxivitamina D)

estimada en 96.7% de la muestra. Este porcentaje es muy superior al reportado en la bibliografía. Rodríguez-Delhi<sup>7</sup> reportó un prevalencia de hipovitaminosis D de 62.7% en una cohorte de 453 gestantes del Norte de España. Nuestra mayor prevalencia podría justificarse por varios motivos:

1. El área geográfica donde se efectuó el estudio se localiza en una latitud  $42^{\circ} 20'N$  y, según los datos del Instituto Nacional de Estadística (INE)<sup>18</sup> las horas medias de sol al día fueron 6.08 (horas totales de sol anual durante 2013 de 2220). El ángulo de exposición solar, que depende de la latitud, de la estación del año y del momento del día, determina la cantidad de rayos ultravioleta que alcanza la piel, habiéndose observado que en latitudes situadas en torno a los  $40^{\circ}$  no se sintetiza calcidiol durante los meses de invierno.
2. Nuestra población no recibe aporte de calcidiol durante la gestación ni en forma de complejos multivitamínicos ni mediante fortificación alimentaria.
3. Por selección aleatoria en 61.62% de la muestra se determinó el valor del calcidiol en los períodos de invierno y primavera donde la media de horas de sol<sup>18</sup> es menor. Sin embargo, sí observamos la prevalencia de hipovitaminosis D solo durante los meses de verano, que alcanza 95.83%. En estos meses la tasa de insuficiencia severa es significativamente inferior a la de los meses de invierno.



Las concentraciones de calcidiol circulante durante la gestación fueron significativamente inferiores en los meses de enero a marzo, periodo en que se registra menor número de horas de sol en nuestra área.

Los diferentes estudios encontrados en la bibliografía médica que relacionan las concentraciones de calcidiol en el embarazo precoz con los efectos adversos gestacionales son contradictorios. Algunos estudios de reciente publicación relacionan la hipovitaminosis D con la diabetes gestacional,<sup>19-23</sup> con los estados hipertensivos del embarazo,<sup>24-27</sup> con las alteraciones por defecto del crecimiento fetal<sup>28,29</sup> y con la prematuridad.<sup>30-32</sup> En nuestro estudio no se pudo demostrar ninguna de las asociaciones descritas. Enseguida se analizan cada una de ellas.

**Diabetes gestacional.** La relación entre calcidiol y el metabolismo de la glucosa se ha planteado hace más de 30 años.<sup>33,34</sup> Para explicar esta asociación se han propuesto mecanismos relacionados con la secreción de insulina y la sensibilidad periférica a la misma. Estudios *in vitro* y en animales sugieren que la 1,25(OH)-vitamina D podría estimular la secreción de insulina directamente o a través de un aumento del calcio citosólico, facilitado por las concentraciones adecuadas de 25-hidroxivitamina D. Pittas y su grupo<sup>35</sup> proponen que el papel del calcidiol en la función de las células  $\beta$  pancreáticas podría estar mediado por la unión de la 1,25(OH)-vitamina D circulante al receptor de calcidiol presente en dichas células. El calcidiol podría actuar a través de la activación de 25(OH)-calcidiol mediada por la enzima 1- $\alpha$ -hidroxilasa expresada en la membrana de las células  $\beta$ . El calcidiol puede mejorar la sensibilidad a la insulina directamente por la estimulación de la expresión de los receptores de insulina o mediante la aceleración del receptor activado por el proliferador de peroxisomas.

A pesar de todo lo expuesto, la evidencia científica de una posible relación entre el calcidiol y la homeostasis de la glucosa en humanos sigue suscitando controversia, pero todo parece indicar que la deficiencia de calcidiol aumenta la resistencia a la insulina y reduce su secreción, ésta es la base fisiopatológica de la diabetes gestacional.

Otros autores, al igual que nosotros, no fueron capaces de demostrar la asociación entre el déficit de calcidiol al inicio de la gestación y la diabetes gestacional. Así, Schneuer y colaboradores<sup>36</sup> en una muestra de 5,397 gestantes australianas y una prevalencia de diabetes gestacional de 6.97% no encontraron la asociación luego de ajustar los valores con las variables maternas. Baker y su grupo<sup>37</sup> en su estudio de casos-controles anidado con 60 gestantes con diabetes gestacional y 120 controles de Carolina del Norte, no pudieron demostrar esa relación. Rodríguez,<sup>38</sup> en un estudio de población española de tres regiones diferentes y aplicando criterios diagnósticos de diabetes gestacional iguales a los nuestros tampoco objetivó la asociación entre la hipovitaminosis D y la diabetes gestacional. Estos datos también los han corroborado otros autores.<sup>39,40</sup>

La explicación para las diferencias encontradas en la bibliografía acerca de la asociación entre déficit de calcidiol y diabetes gestacional, podría justificarse por:

1. Población de estudio muy diversa, tanto por prevalencia de diabetes gestacional como por localización geográfica. Ésta es la que determina las horas solares totales, que son la base para la diferente prevalencia de la hipovitaminosis D.
2. Grupos de estudio diferentes: gestantes con bajo riesgo de diabetes gestacional, gestantes con alto riesgo y cohortes no seleccionadas por factores de riesgo de diabetes gestacional.

3. Uso de métodos y criterios diferentes para el diagnóstico de diabetes gestacional, lo que determina diferencias en la prevalencia.
4. Estudios con cohortes reducidas de gestantes diabéticas.
5. Determinación de 25-hidroxivitamina D en diferentes momentos de la gestación y con diferentes métodos de laboratorio.

En la actualidad existen estudios de intervención que intentan clarificar la asociación entre las concentraciones de calcidiol y el mayor riesgo de diabetes gestacional. Así, Yap y colaboradores,<sup>41</sup> en su ensayo con asignación al azar, doble ciego, efectuado en gestantes australianas, determinaron las concentraciones de calcidiol antes de la semana 20; las pacientes con valores inferiores a 32 ng/mL se distribuyeron al azar en dos grupos de intervención: administración de 25-hidroxivitamina D, o 5000 UI/24h o 400 UI/24h. El resultado primario fue el diagnóstico de diabetes gestacional mediante la curva de tolerancia a la glucosa con 75 mg de glucosa entre las semanas 26 y 28. Tras la intervención no encontraron diferencias significativas en la prevalencia de diabetes gestacional entre ambos grupos.

El estudio DALI<sup>42</sup> es un protocolo europeo multicéntrico en el que se pretende evaluar el riesgo de padecer diabetes gestacional dividiendo la cohorte en 8 subgrupos de intervención teniendo en cuenta la actividad física, los hábitos alimentarios y la suplementación de calcidiol (1600 UI/d o placebo). Es posible que este estudio proporcione información interesante acerca de la suplementación del calcidiol y el riesgo de diabetes gestacional, pero desafortunadamente los resultados aún están sin publicar.

Kramer y sus coautores<sup>43</sup> demostraron que el estado del calcidiol en la gestación no se asocia con la sensibilidad a la insulina, la función de

las células  $\beta$ , o la tolerancia a la glucosa. Por el contrario, el incremento de la hormona paratiroides (PTH) se ha asociado con la disfunción de las células  $\beta$  y la disglucemia en el embarazo. Aseguran que el aumento de la PTH actúa como predictor independiente de diabetes gestacional.

**Preeclampsia.** En nuestro estudio se encontró que los valores medios de calcidiol al inicio de la gestación son inferiores en las pacientes que posteriormente tuvieron preeclampsia, pero no ha sido posible demostrar la existencia de mayor riesgo de preeclampsia en los casos de hipovitaminosis D.

La asociación de la 25-hidroxivitamina D con la preeclampsia se debe a que el calcidiol puede actuar regulando la invasión trofoblástica y la angiogénesis de la placenta, además de ejercer sus reconocidas propiedades antiinflamatorias. La deficiencia de calcidiol puede predisponer a una invasión anormal del trofoblasto, a la reducción de la perfusión placentaria y, por tanto, a la consiguiente cascada de eventos que conducen a la preeclampsia.<sup>25</sup>

Bodnar y su grupo<sup>25</sup> encontraron que la deficiencia de calcidiol puede ser un factor de riesgo de preeclampsia severa o de inicio precoz, pero no para los subtipos leves. En nuestro trabajo, la muestra de pacientes con preeclampsia de inicio temprano (antes de la semana 34) fue reducida, y tal vez pueda justificar nuestros resultados. Sin embargo, otros autores<sup>33,38,40</sup> con grupos mayores tampoco fueron capaces de evidenciar esa asociación.

Pérez-López y sus colaboradores<sup>10</sup> en su metanálisis de 13 ensayos controlados con asignación al azar (ECA) de una cohorte de 2,299 gestantes acerca de la eficacia de la suplementación de calcidiol y la disminución de efectos adversos observaron que la prevalencia de preeclampsia fue similar en las gestantes con y sin intervención en suplementación de 25-hidroxivitamina D.



### Alteraciones por defecto del crecimiento fetal.

El mecanismo por el que la deficiencia de calcidiol podría aumentar el riesgo de las alteraciones del crecimiento fetal es similar al descrito para la preeclampsia puesto que se considera que ambas entidades comparten una base fisiopatológica por las alteraciones de la placentación. Durante la vida intrauterina el suministro adecuado de calcidiol al feto es totalmente dependiente de las concentraciones maternas, por lo que la hipovitaminosis D materna expone a la descendencia a la insuficiencia en fases potencialmente críticas del desarrollo. La 25-hidroxivitamina D juega un papel importante en la homeostasis del calcio, la remodelación ósea y la función muscular. El déficit de la 25-hidroxivitamina D durante la gestación puede ocasionar un deterioro en el desarrollo óseo, el crecimiento fetal y promover efectos adversos en el desarrollo músculo-esquelético.

En nuestra cohorte observamos cómo las gestantes con fetos con restricción del crecimiento intrauterino tuvieron concentraciones muy inferiores de calcidiol al inicio de la gestación, respecto de las pacientes con fetos de crecimiento normal, pero sin alcanzar significación estadística. Otros autores<sup>36,39,40</sup> describen resultados similares a los nuestros.

En el citado metanálisis de Pérez-López y sus coautores<sup>10</sup>, incluyendo 4 ECA, la administración de suplementos de calcidiol no modificó el riesgo de pequeño para la edad gestacional. Los datos agrupados de 3 ECA en este estudio no mostraron un efecto significativo de la suplementación de calcidiol en relación con el riesgo de restricción del crecimiento intrauterino.

Paradójicamente, Morales y sus grupo<sup>44</sup> publicaron los resultados de su estudio multicéntrico con más de 2000 parejas madre-hijo de población española, donde encuentran que el déficit materno de 25(OH)D<sub>3</sub> (<20 ng/mL) se asocia con

mayor riesgo de sobrepeso fetal, definido como circunferencia abdominal mayor al percentil 90 con razón de momios = 1.5 (IC 95%:1,01 - 2,21; p = 0.041) o como “peso fetal estimado” superior al percentil 90 con razón de momios de 1.47 (IC95%:1,00 – 2,16; p = 0.046).

**Parto prematuro.** Se ha establecido que la 25-hidroxivitamina D afecta las vías fisiológicas del parto prematuro incluida la inflamación, inmunomodulación y transcripción de genes implicados en la función placentaria.<sup>45</sup>

Los receptores *Toll-like* son iniciadores críticos de la defensa inmunitaria innata contra patógenos microbianos, y la deficiencia de calcidiol altera la inducción del receptor *Toll-like* de la catelicidina, péptido antimicrobiano de los macrófagos sistémicos, por lo que aumenta la susceptibilidad a la infección.<sup>46</sup> Existen estudios que evidencian una asociación entre la deficiencia de calcidiol con la vaginosis bacteriana,<sup>47</sup> siendo éste un factor de riesgo reconocido para el parto prematuro.

La 1,25-dihidroxivitamina D, metabolito de la 25-hidroxivitamina D, es conocida por reducir las infecciones bacterianas mediante la inducción de la catelicidina en muchos tejidos, incluidas las células maternas y fetales de la placenta. Sin embargo, aunque todos estos estudios de laboratorio vinculan las concentraciones de calcidiol maternas con la respuesta antimicrobiana placentaria, las series epidemiológicas arrojan resultados equívocos sobre dicha relación.

En nuestro trabajo no fue posible demostrar tal asociación, al igual que otros múltiples estudios.<sup>38,40,47,48</sup>

Perez-López,<sup>9</sup> luego del análisis agrupado de 4 ECA, demostró que no existe un efecto significativo derivado de la administración de suplementos de calcidiol en la prevención del parto prematuro.

## CONCLUSIONES

Existe una elevada prevalencia de déficit de vitamina D en gestantes de nuestra área y ésta se mantiene incluso en los meses de mayor exposición a la luz solar. En nuestra muestra no fue posible encontrar una relación entre la hipovitaminosis D al inicio de la gestación y la posterior aparición de diabetes gestacional, preeclampsia, alteraciones por defecto del crecimiento fetal o prematuridad. Es decir, las concentraciones bajas de calcidiol en el primer trimestre no predicen las complicaciones estudiadas mejor que los factores clínicos conocidos de dichas entidades. Nuestro trabajo no solo expone los resultados de un estudio de cohortes, también hace una revisión de la evidencia disponible. Nuestros resultados, al igual que la evidencia actual, no son concluyentes con la asociación de la hipovitaminosis D y el riesgo de complicaciones obstétricas, ni demuestran superioridad de la suplementación durante la gestación.

## REFERENCIAS

1. Holick MF. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:638S-45S.
2. Chen TC, Chimeh F, Lu Z, Mathieu J, Person KS, Zhang A, et al. Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Arch Biochem Biophys.* 2007;460:213-7.
3. Holick MF. The use and interpretation of assays for vitamin D and its metabolites. *J Nutr.* 1990;120:1464-9.
4. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: Consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev.* 2001;22:477-501.
5. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:1153-8.
6. Rosen CJ, Adams JS, Bilezikian JP, Black DM, Demay MB, Manson JE, Murad MH, Kovacs CS. The nonskeletal effects of vitamin D: An endocrine society scientific statement. *Endocr Rev.* 2012;33:456-92.
7. Rodríguez-Dehli AC, Riaño Galán I, Fernández-Somoano A, Navarrete-Muñoz EM, Espada M, Vioque J, Tardón A: Prevalencia de deficiencia e insuficiencia de vitamina D y factores asociados en mujeres embarazadas del norte de España. *Nutr Hosp.* 2015;31(4):1633-1640.
8. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency, a worldwide problema with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:1080S-6S.
9. Li W, Green TJ, Innis SM, Barr SI, Withers SJ, Shand A, et al. Suboptimal vitamin D levels in pregnant women despite supplement use. *Can J Public Health.* 2011;102:308-12.
10. Perez-Lopez FR, Pasupuleti V, Mezones-Holguín E, Benites-Zapata VA, Thota P, Deshpande A, Hernandez AV. Effect of vitamin D supplementation during pregnancy on maternal and neonatal outcomes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril.* 2015;103(5):1278-88.
11. De Regil LM, Palacios C, Ansary A, Kulier R, Peña-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 2. Art. No.: CD008873. DOI: 10.1002/14651858.CD008873.pub2.
12. Burris HH, Camargo CA. Vitamin D and Gestational Diabetes Mellitus. *Curr Diab Rep.* 2014; 14:451.
13. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes.* 1979; 28(12):1039-57.
14. Management of hypertension in pregnant and postpartum women. UpToDate March 2014. (Citado 21/09/2015). Disponible: <http://www.uptodate.com/contents/preeclampsia-management-and-prognosis>.
15. Divon MY: UptoData 2014. Fetal growth restriction: Diagnosis. (Citado 06/03/2014). Disponible: [http://www.uptodate.com/mergullador.sergas.es:2048/contents/fetal-growth-restriction-diagnosis?source=search\\_result&search=fetal+growth+restriction&selectedTitle=3~150](http://www.uptodate.com/mergullador.sergas.es:2048/contents/fetal-growth-restriction-diagnosis?source=search_result&search=fetal+growth+restriction&selectedTitle=3~150)
16. Figueiras F, Gratacós E: Update on the Diagnosis and classification of Fetal Growth Restriction and proposal of a Stage-Based Management Protocol. *Fetal Diagn Ther.* 2014; 36(2):86-98.
17. Unterscheider J, Daly S, Kennelly MM, McAuliffe FM, O'Donoghue K, Hunter A, Morrison JJ, Burke G, Dicker P, Tully EC, Malone FD. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study. *Am J Obstet Gynecol.* 2013 Apr; 208(4):290.e1-6.
18. Boletín mensual de Estadística. Agosto 2015. Instituto Nacional de Estadística. (Citado el 19/09/2015) Disponible en: <http://www.ine.es/daco/daco42/bme/c19.pdf>
19. Parlea L, Bromberg IL, Feig DS, Vieth R, Merman E, Lipscombe LL. Association between serum 25-hydroxyvitamin D in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2012;29:e25-32.
20. Poel YH, Hummel P, Lips P, Stam F, van der Ploeg T, Simsek S. Vitamin D and gestational diabetes: a systematic review and metaanalysis. *Eur J Intern Med.* 2012;23:465-9.
21. Burris HH, Riffas-Shiman SL, Kleinman K, Litonjua AA, Huh SY, Rich-Edwards JW, Camargo CA Jr, Gillman MW. Vitamin D deficiency in pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Sep;207(3):182.e1-8



22. Lacroix M, Battista MC, Doyon M, Houde G, Ménard J, Ardilouze JL, Hivert MF, Perron P. Lower vitamin D levels at first trimester are associated with higher risk of developing gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2014 Aug;51(4):609-16.
23. Cho GJ, Hong SC, Oh MJ, Kim HJ. Vitamin D deficiency in gestational diabetes mellitus and the role of the placenta. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Dec;209(6):560.e1-8.
24. Achkar M, Dodds L, Giguère Y, Forest JC, Arsmson BA, Woolcott C, Agellon S, Spencer A, Weiler HA. Vitamin D status in early pregnancy and risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Apr;212(4):511.e1-7.
25. Bodnar LM, Catov JM, Simhan HN, Holick MF, Powers RW, Roberts JM. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:3517-22.
26. Bodnar LM, Simhan HN, Catov JM, Roberts JM, Platt RW, Diesel JC, Klebanoff MA. Maternal vitamin D status and the risk of mild and severe preeclampsia. *Epidemiology*. 2014 Mar;25(2):207-14.
27. Baker AM, Haeri S, Camargo CA Jr, Espinola JA, Stuebe AM. A nested case-control study of midgestation vitamin D deficiency and risk of severe preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010 Nov;95(11):5105-9.
28. Leffelaar ER, Vrijkotte TG, van Eijnsden M. Maternal early pregnancy vitamin D status in relation to fetal and neonatal growth: results of the multi-ethnic Amsterdam Born Children and their Development cohort. *Br J Nutr*. 2010;104:108-17.
29. Bodnar LM, Catov JM, Zmuda JM, Cooper ME, Parrott MS, Roberts JM, Marazita ML, Simhan HN. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with small-for-gestational age births in white women. *J Nutr*. 2010;140:999-1006.
30. Zhu T, Liu TJ, Ge X, Kong J, Zhang LJ, Zhao Q. High prevalence of maternal vitamin D deficiency in preterm births in northeast China, Shenyang. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Feb 1;8(2):1459-65.
31. Bodnar LM, Platt RW, Simhan HN. Early-pregnancy vitamin D deficiency and risk of preterm birth subtypes. *Obstet Gynecol*. 2015 Feb;125(2):439-47.
32. Wetta LA, Biggio JR, Cliver S, Abramovici A, Barnes S, Tita AT. Is midtrimester vitamin D status associated with spontaneous preterm birth and preeclampsia? *Am J Perinatol*. 2014;31:541-6.
33. Norman AW, Frankel JB, Heldt AM, et al. Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science*. 1980;209:823-825.
34. Clark SA, Stumpf WE, Sar M. Effect of 1,25 dihydroxyvitamin D3 on insulin secretion. *Diabetes*. 1981;30:382-386.
35. Pittas AG, Dawson-Hughes B. Vitamin D and diabetes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;121:425-429.
36. Guilbert C, Simpson JM, Algert CS, Khambalia AZ, Tasevski V, Ashton AW, Morris JM, Nassar N. Effects of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the first trimester on subsequent pregnancy outcomes in an Australian population. *Am J Clin Nutr*. 2014 Feb;99(2):287-95.
37. Baker AM, Haeri S, Camargo CA Jr, Stuebe AM, Boggess KA. First-trimester maternal vitamin D status and risk for gestational diabetes (GDM) a nested case-control study. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012 Feb;28(2):164-8.
38. Rodríguez A, García-Estebe R, Basterretxea M, Lertxundi A, Rodríguez-Bernal C, Iñiguez C, Rodríguez-Delhi C, Tardón A, Espada M, Sunyer J, Morales E. Associations of maternal circulating 25-hydroxyvitamin D3 concentration with pregnancy and birth outcomes. *BJOG*. 2015; 122(12):1695-704.
39. Park S, Yoon HK, Yim CH, Kim SH. Maternal vitamin D deficiency in early pregnancy is not associated with gestational diabetes mellitus development or pregnancy outcomes in Korean pregnant women in a prospective study. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2014;60(4):269-75.
40. Flood-Nichols SK, Tinnemore D, Huang RR, Napolitano PG, Ippolito DL. Vitamin D deficiency in early pregnancy. *PLoS One*. 2015 Apr 21;10(4):e0123763. doi: 10.1371/journal.pone.0123763. eCollection 2015.
41. Yap C, Cheung NW, Gunton JE, Athayde N, Munns CF, Duke A, McLean M. Vitamin D supplementation and the effects on glucose metabolism during pregnancy: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2014 Jul;37(7):1837-44.
42. Jelsma JG, van Poppel MN, Galjaard S, Desoys G, Corcaya R, Devlieger R, van Assche A, Timmerman D, Jans G, Haareiter J, et al. Dali: Vitamin D and lifestyle intervention for gestational diabetes mellitus (GDM) prevention: An european multicentre, randomised trial-study protocol. *BMC Pregnancy Childbirth* 2013, 13, 142.
43. Kramer CK, Swaminathan B, Hanley AJ, Connelly PW, Sermer M, Zinman B, Retnakaran R. Vitamin D and parathyroid hormone status in pregnancy: effect on insulin sensitivity,  $\beta$ -cell function, and gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Dec;99(12):4506-13.
44. Morales E, Rodriguez A, Valvi D, Iñiguez C, Esplugues A, Vioque J, Marina LS, Jiménez A, Espada M, Dehli CR, Fernández-Somoano A, Vrijheid M, Sunyer J. Deficit of vitamin D in pregnancy and growth and overweight in the offspring. *Int J Obes*. 2015;39(1):61-8.
45. Liu NQ, Kaplan AT, Lagishetty V, Ouyang YB, Ouyang Y, Simmons CF, Equils O, Hewison M. Vitamin D and the regulation of placental inflammation. *J Immunol* 2011;186(10):5968-5974.
46. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, Ochoa MT et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006;311(5768):1770-1773.
47. Bodnar LM, Krohn MA, Simhan HN. Maternal vitamin D deficiency is associated with bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy. *J Nutr*. 2009;139(6):1157-1161.
48. Wagner CL, Baggerly C, McDonnell SL, Baggerly L, Hamilton SA, Winkler J, Warner G, Rodriguez C, Shary JR, Smith PG, Hollis BW. Post-hoc comparison of vitamin D status at three timepoints during pregnancy demonstrates lower risk of preterm birth with higher vitamin D closer to delivery. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015 Apr;148:256-60.