

Asociación entre Niveles de Vitamina D y Preeclampsia Severa en Pacientes con Embarazo Único a Término

Association between Vitamin D Levels and Severe Pre-Eclampsia in Patients with a Single Term Pregnancy

Alan Rigoberto Carvajal-Sepúlveda¹, Fred Valentín Morgan-Ruiz¹, Perla Yareli Gutiérrez-Arzapalo², Everardo Quevedo-Castro¹, Guadalupe López-Manjarrez³, Saúl Armando Beltrán-Ontiveros², Josefina Báez-Barraza⁴, Fred Morgan-Ortiz¹

1. Departamento de Ginecología y Obstetricia del Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa
2. Coordinación de Investigación, Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa.
3. Profesor Investigador de Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa.
4. Hospital Ángeles Culiacán, Culiacán, Sinaloa.

*Autor de correspondencia: Dr. Alan Rigoberto Carvajal Sepúlveda

Correo: alancarvajal@hotmail.com Teléfono: 6674918936

Domicilio: Prol. Álvaro Obregón 1422, Tierra Blanca, 80030 Culiacán Rosales, Sin.

DOI <http://dx.doi.org/10.28960/revmeduas.2007-8013.v13.n1.006>

Recibido 05 de diciembre 2022, aceptado 22 de enero 2023

RESUMEN

Objetivo: Determinar la frecuencia de hipovitaminosis D en pacientes con preeclampsia con datos de severidad y embarazo a término con producto único vivo. **Material y métodos:** Se llevó a cabo un estudio de casos y controles, en el cual se consideró como "caso" a toda embarazada con cifras tensionales igual o mayor a 160/110 y cualquier otro criterio de severidad y se definió como "control" a la embarazada con presión arterial normal, sin comorbilidades adicionales y embarazo único. Las variables analizadas fueron las características generales y los niveles promedios de vitamina D entre los dos grupos. Se utilizó la prueba *t* de *student* y la prueba exacta de *Fisher* para la comparación de variables numéricas y categóricas respectivamente. **Resultados:** Se analizaron 60 paciente (30 en el grupo de casos y 30 en el grupo control). El promedio de edad fue similar entre los grupos de estudio (25.8 vs 25.6 años; $p=0.917$). Ambos grupos presentaron características clínicas y epidemiológicas similares, a excepción del índice de masa corporal, que fue significativamente mayor en el grupo de casos ($p=0.035$). En lo que respecta al número de gestas, paridad, número de cesáreas y abortos fueron similares entre los grupos. Las parejas sexuales para cada grupo de estudio fueron de 1.83 y 1.90 respectivamente, sin diferencias significativas ($p=0.821$). El nivel sérico promedio de 25-hidroxivitamina D fue similar entre los grupos siendo de 24 ng/ml (DE: 6.214) para grupo control y un valor de 21.5 ng/ml (DE: 6.731), para el grupo de casos. 27 pacientes presentaron hipovitaminosis D en el grupo caso), y 25 pacientes con hipovitaminosis en el grupo control ($p=0.153$)

Conclusiones: No se encontró asociación entre los niveles séricos de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia.

Palabras Clave: Preeclampsia, vitamina D, hipovitaminosis D, embarazo.

ABSTRACT

Objective: To determine the frequency of hypovitaminosis D in patients with preeclampsia with data on severity and term pregnancy with a single live product. **Material and methods:** This is a case-control study, with the taxonomy of being a prospective, cross-sectional, observational and analytical study. "Cases" were described as: patients with severe preeclampsia and "control" was defined as: normotensive patients, without additional comorbidities, and singleton pregnancy. A sample of 60 patients with 30 patients per group is estimated, with a 95% confidence interval to estimate the frequency of hypovitaminosis D in severe preeclampsia. Fisher's exact test was used. The frequency is calculated as the number of cases with hypovitaminosis D among the total number of patients in the study. **Results:** The 25-hydroxyvitamin D serological status of both groups was analyzed; It was possible to demonstrate a vitamin D value of 24 ng/ml (SD: 6,214) in the control group, and a value of 21.5 ng/ml (SD: 6,731) in the case group. A total of 27 patients with hypovitaminosis status were presented in the case group (12 with insufficiency status and 15 with deficiency), and 25 patients with hypovitaminosis in the control group (17 with insufficiency status and 8 with deficiency), concluding that there are no significant differences in vitamin D deficiency (p value =0.153) **Conclusions:** No association was found between vitamin D levels and preeclampsia.

Keywords: Preeclampsia, vitamin D, hypovitaminosis D, pregnancy.

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia es una de las causas principales de morbilidad materna, es una enfermedad específica del embarazo caracterizado

por trastornos hipertensivos que pueden estar asociados a distintos grados de proteinuria, con la posibilidad de evolucionar a distintos espectros clínicos de severidad ^{1,2}.

En presencia de alguna de las características de severidad, automáticamente se puede clasificar a las pacientes como "preeclampsia severa", las entidades que nos permiten dar pauta al diagnóstico son: cifras sistólicas >160 o diastólicas >110 mmHg, conteo plaquetario menor a 100,000, elevación de transaminasas al doble de su límite superior (ALT, AST >70), dolor epigástrico o en cuadrante superior derecho de forma persistente que no responde a medicamentos u otros diagnósticos alternativos; daño renal caracterizado por creatinina >1.1, síntomas de vasoespasmo a nivel central como alteraciones visuales (escotomas, fosfenos, amaurosis, etc.), acúfenos y cefalea ^{2,3}.

Se ha estimado que complica del 2 al 8% de todos los embarazos globalmente ^{1,2}. En América Latina y regiones del Caribe representa el 26% de las muertes maternas². En México por cada mujer que muere, se estima que otras 20 pacientes tienen riesgo de sufrir morbilidad severa o discapacidad, además de que aquellas sobrevivientes a casos de severidad tienen un riesgo aumentado a 7 del 20% de padecer hipertensión y microalbuminuria ³.

La tendencia en la población mexicana es con frecuencia tener factores de riesgos mayores para padecer preeclampsia, pues se han descrito una serie variada de características que aumentan las posibilidades de padecer la enfermedad, aunque está bien establecido que la

mayoría de los casos se presentarán en mujeres nulíparas sin factores de riesgo evidentes ^{3,4}.

La "vitamina", en realidad una hormona esteroide liposoluble, no se descubrió y se inició a describir sus características hasta principios siglo XX ⁵. Los estudios de fisiología de vitamina D, sugieren que los efectos de la deficiencia de ésta podrían incluir enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la diabetes y complicaciones del embarazo ^{6,7,10}.

Durante el embarazo, los niveles séricos de 1,25 (OH) D aumentan hasta 2 veces a partir de las 10-12 semanas de gestación y alcanzando un máximo en el tercer trimestre^{11,12}. No está claro si los niveles de 25 (OH) D aumentan globalmente durante el embarazo ¹³; sin embargo, dado un aumento en el activo forma de vitamina D, las mujeres embarazadas probablemente tengan una mayor exposición celular a vitamina D durante el segundo y tercer trimestres que sugieren un papel para vitamina D en el bienestar obstétrico ^{8,10}.

La determinación de 25 (OH) D es la medida estándar clínica y de investigación del estado de la vitamina D. Sin embargo, dado la complejidad del sistema de la vitamina D, no está claro si los niveles de 25 (OH) D tienen las mismas implicaciones clínicas en todas las mujeres o en todas las etapas del embarazo ¹³⁻¹⁵.

La vitamina D quizá funcione como inmunomodulador, pues se ha asociado niveles mayores

de interleucina 6 (IL-6) en pacientes con hipovitaminosis D, lo que se asocia a procesos inflamatorios de mayor intensidad^{7,8,10}. El trofoblasto humano tiene la capacidad de responder a la forma activa de la vitamina D (1-25-OH-2D), regulada por la actividad enzimática de la 1 A hidroxilasa, y la degradación por parte 24 A hidroxilasa, estudios recientes comprueban que la vitamina D tiene acción sobre los receptores de la 24 A hidroxilasa, inhibiendo mRNA de transcripción, aumentando la vida media de la vitamina e inhibiendo la producción de citoquinas proinflamatorias (TNFA, IFN gamma e IL6), apoyando la hipótesis sobre el daño endotelial de la preeclampsia¹⁰.

En un estudio de cohortes realizado por la Universidad de Texas y colaboradores en 2016, en el que se examinaron 100 pacientes con preeclampsia y 100 controles normotensas, se realizaron comparaciones entre los niveles de vitamina D y niveles de IL-6, los resultados arrojaron concentraciones de 25 OH vitamina D de 49.4 mmol +- 22 mmol/lt en pacientes sin patología hipertensiva, mientras que las pacientes con preeclampsia tenían valores de 42 mmol +- 17 mmol/lt.⁸ Con dichos resultados se concluía que los niveles de vitamina D eran factores de riesgo independientes para padecer preeclampsia, pero no tenían suficiente valor estadístico para apoyar la hipótesis que la vitamina D podía alterar la activación de factores de inflamación^{9,10}. Durante el 2010, Robinson organizó un estudio de casos y controles anidado a una

cohorte, siguiendo a pacientes con <16 semanas de gestación hasta finalizar el embarazo, y correlacionó el estado materno de vitamina D, encontrando que los niveles de 25 OH D eran menores en pacientes que desarrollaron preeclampsia de manera temprana comparado con los controles^{8,11}. Con base en estos antecedentes se diseñó el presente estudio con el propósito de evaluar si existe asociación de los niveles de vitamina d con la presencia de preeclampsia con datos de severidad.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se llevó a cabo un estudio de casos y controles, en el cual se incluyeron 30 pacientes con embarazo único a término sin enfermedades crónicas adyacentes con preeclampsia con datos de severidad (casos) y 30 pacientes asignadas al grupo "control" definidas como pacientes normotensas con embarazo único a término, sin comorbilidades adicionales.

La población de estudio incluyó aquellas pacientes que acudan al servicio de tococirugía o consulta externa de ginecología y obstetricia del Hospital Civil de Culiacán, con edad de 18 a 45 años., embarazo con edad gestacional igual o superior a 37 semanas, datados por fecha de última regla confiable o traspolado menor a las 22 semanas de gestación., con producto único y diagnóstico de trastorno hipertensivo del embarazo. Se excluyeron pacientes con embarazo pretérmino, embarazo logrado mediante técnicas de reproducción asistida, con enfermedad

renal o dermatosis previas, antecedente de hipertensión arterial sistémica previa a gestación, hipotiroidismo, diabetes mellitus, diabetes gestacional, lupus o síndrome antifosfolípidos. Se eliminaron a las pacientes que no se realicen determinación sérica de vitamina D.

Las concentraciones plasmáticas maternas de 25(OH) D3 se cuantificarán por el método de cromatografía líquida de alta resolución con el uso de dispositivos marca BioRAD según los protocolos del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (NCCLS) que sigue la certificación del Hospital Civil de Culiacán. El límite de detección es de 5 ng/dL, y el coeficiente de variación entre muestras es menor al 4,5%.

Las variables de interés primario fue evaluar si existían diferencias en la concentración sérica de vitamina D entre pacientes con y sin preeclampsia, así como estratificación de las pacientes por grupo de concentración de vitamina D (deficiente; <19.9 ng/ml, insuficiente: 20-29.9 ng/ml y suficiente: \geq 30 ng/ml).

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando estadística descriptiva mediante el cálculo de medias y proporciones como medidas de tendencia central y desviación estándar y rango como medidas de dispersión. Se utilizó estadística inferencial con el uso de la prueba *t* de *student* para la comparación de variables numéricas y *Chi cuadrada* para la comparación de variables categóricas. El tamaño de muestra esti-

mado fue de 60 pacientes incluyendo 30 pacientes por grupo. Un valor de *p* igual o menor de 0.05 se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Se estudiaron un total de 60 paciente con embarazo a término, las cuales fueron divididas en 2 grupos: 30 pacientes embarazadas normotensas fueron asignadas al grupo control y 30 pacientes embarazadas con preeclampsia severa fueron asignadas al grupo de casos. En lo que respecta al promedio de edad no se encontraron diferencias entre los grupos de estudio (25.8 vs 25.6 años; $p=0.917$). Ambos grupos presentaron características clínicas y epidemiológicas similares, a excepción del índice de masa corporal, donde se encontraba un aumento discreto en el grupo de preeclampsia, con diferencia estadísticamente significativas entre los grupos ($p= 0.035$) (Fig. 1); El 74% de las pacientes resolvieron su embarazo vía operación cesárea (Cuadro 1). En lo que respecta a los antecedentes obstétricos como número de gestas, paridad, número de cesáreas y abortos fueron similares entre los grupos solo encontrándose diferencias en la edad gestacional, con una media de 39.03 (DE 1.098) semanas de gestación en el grupo control y 38.2 (DE 1.358) semanas de gestación en el grupo caso ($p= 0.016$). Las parejas sexuales para cada grupo de estudio fueron de 1.83 y 1.90 respectivamente, sin diferencias significativas ($p=0.821$). (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características Generales y Obstétricas por grupo de estudio.

VARIABLE	NORMOTENSAS	PREECLAMPSIA SE- VERA	VALOR P
EDAD	25.8 (DE: 6.55)	25.6 (DE: 5.77)	0.917
IMC	25.37 (DE: 2.251)	27.00 (DE: 3.464)	0.035
GESTAS	1.77 (DE: 0.893)	1.77 (DE: 1.165)	1.000
PARAS	0.53 (DE: 0.937)	0.67 (DE: 1.061)	0.608
CESAREAS	1.13 (DE: 0.860)	0.93 (DE: 0.70)	0.338
ABORTOS	0.13 (DE: 0.346)	0.20 (DE: 0.407)	0.497
SEMANAS DE GESTACIÓN	39.03 (DE: 1.098)	1.83 (DE:1.117)	0.016
PAREJAS SEXUALES	1.83 (DE: 1.117)	1.90 (DE: 1.155)	0.821

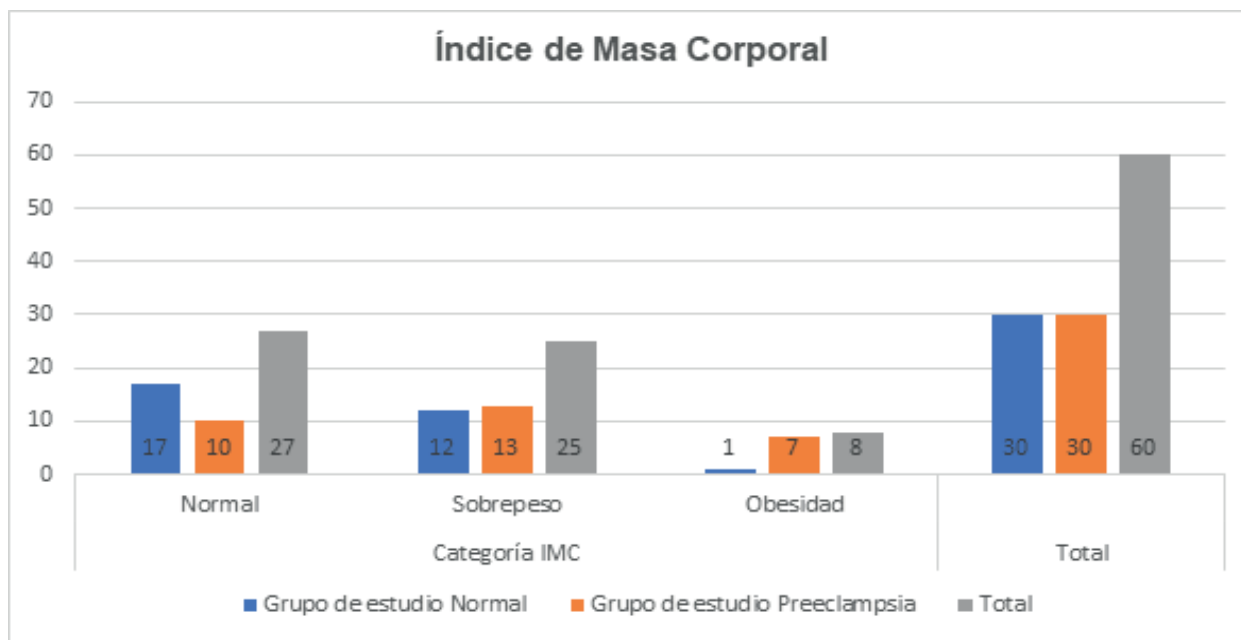


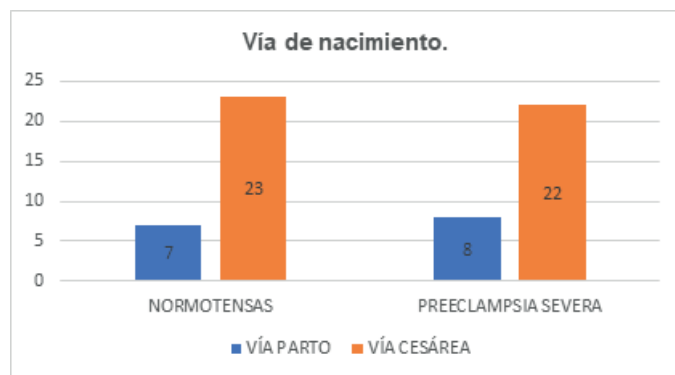
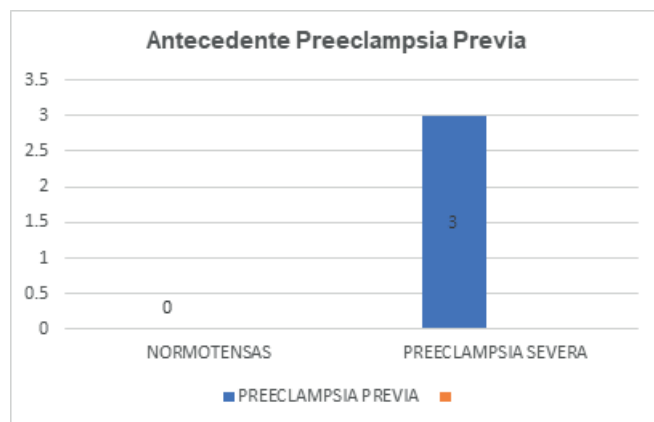
Fig. 1. Comparación de IMC de pacientes normotensas y con preeclampsia. Se observa un ligero aumento del estado hipertensivo en población con IMC alterado.

La vía de nacimiento para el grupo control, fue de una frecuencia de 7 partos vía vaginales y 23 operaciones cesáreas, en contraste con el grupo control con 8 partos vía vaginal y 23 operaciones cesáreas, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.766$) (Cuadro 2) (Fig. 2).

No se registró antecedente de preeclampsia previa en pacientes normotensas, mientras que en el grupo caso se registró el antecedente de la historia clínica en tres de las pacientes. (Cuadro 2) (Fig. 3).

Cuadro 2. Frecuencia y vía de nacimientos en los grupos de estudio

VARIABLE	NORMOTENSAS	PRE-ECLAMPSIA SEVERA	VALOR P
VÍA PARTO	7	8	0.766
VÍA CESÁREA	23	22	
PRE-ECLAMPSIA PREVIA	0	3	0.076

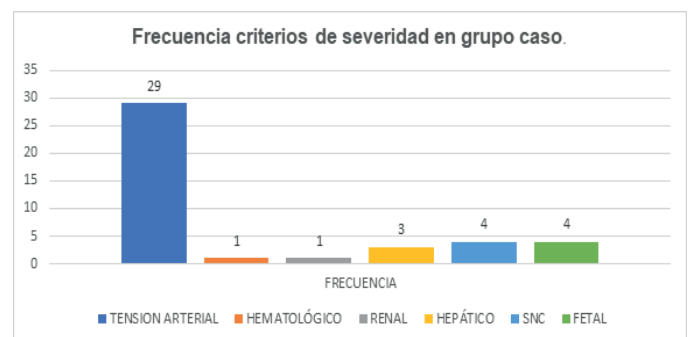
**Fig. 2.** Vía de nacimiento por grupo de estudio**Fig. 3.** Antecedente de preeclampsia en embarazo previo por grupo de estudio

Dentro de las características del grupo control, se describen los datos clínicos y laboratoriales empleados para clasificar la enfermedad hipertensiva del embarazo como “severa”. El criterio

con mayor frecuencia registrado fue la elevación de la presión arterial (>160/110mmHg), presente en 27 pacientes de la muestra, continuando con los datos de vasoespasmo y daño a sistema nervioso central en 4 pacientes, daño renal evidenciado por creatinuria en 1 paciente, daño hepático demostrado por transaminasemia en 3 ocasiones y daño fetal catalogado por restricción del crecimiento intrauterino o pruebas de bienestar fetal alteradas en 4 pacientes (Cuadro 3) (Fig. 4).

Cuadro 3. Frecuencia de datos de severidad en grupo caso

DATO DE SEVERIDAD	FRECUENCIA
TENSION ARTERIAL	29
HEMATOLÓGICO	1
RENAL	1
HEPÁTICO	3
SNC	4
FETAL	4

**Fig. 4.** Frecuencia de los criterios de severidad en el grupo con preeclampsia severa.

Todas las pacientes del grupo caso fueron protocolizadas, y se realizó recolección de proteína de orina, en búsqueda de proteinuria mayor a 300 mg en 24 horas, encontrándose presente

en 29 de las 30 pacientes con preeclampsia (Fig. 5).

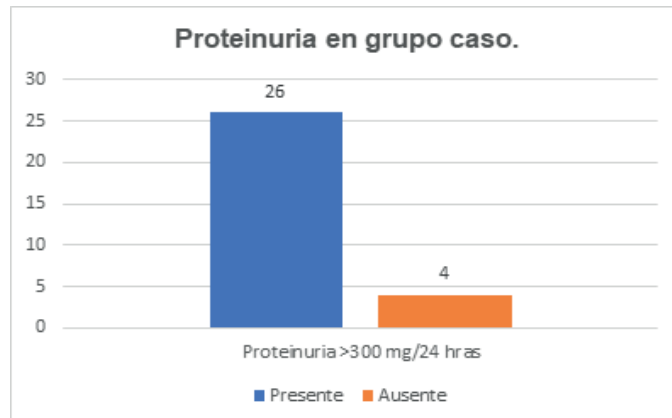


Fig. 5 Frecuencia de Proteinuria en las pacientes con preeclampsia severa

Se analizó el estado serológico de 25-hidroxivitamina D en pacientes del grupo control y cas; se logró evidenciar en el grupo control un valor de vitamina D de 24 ng/ml (DE: 6.214), y en el grupo caso un valor de 21.5 ng/ml (DE: 6.731) (Cuadro 5). Se presentó un total de 27 pacientes con estado de hipovitaminosis en el grupo caso (12 con estado de insuficiencia y 15 con deficiencia), y 25 pacientes con hipovitaminosis en el grupo control (17 con estado de insuficiencia y 8 con deficiencia), concluyendo que no existen diferencias significativas en la deficiencia de vitamina D (valor $p = 0.153$) (Cuadro 4) (Gráfica 6).

Cuadro 4. Valores de vitamina D entre los grupos y frecuencia de grados de hipovitaminosis.

	Valor vitamina D ng/ml	Suficiente	Insuficiente	Deficiente	Valor P
Normal	24 (DE: 6.214)	5	17	8	0.153
Preeclampsia	21.5 (DE: 6.731)	3	12	15	

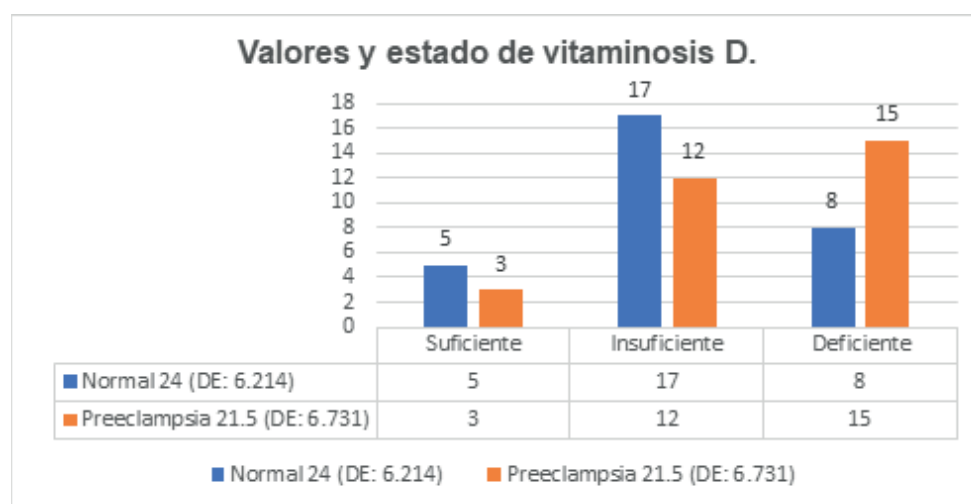


Fig. 6. Valores y estado de vitaminosis D

DISCUSIÓN

La hipovitaminosis D se ha planteado como probable relación con estados hipertensivos del embarazo, especialmente con la condición de preeclampsia severa, debido a que dicha deficiencia ha sido estudiada previamente en anomalías de trastornos placentarios, patologías obstétricas como restricción de crecimiento intrauterino y diabetes gestacional, las cuales tienen como raíz fisiopatológica, el daño endotelial y consecuente elevación de la presión arterial.

La mayoría de los estudios previamente realizados, tenían como características, que determinaban la serología de vitamina D en pacientes independientemente de sus diagnósticos adicionales, los cuales podría representar confusión al momento de poder determinar la frecuencia pura de hipovitaminosis D asociada a preeclampsia severa; por lo cual sólo incluimos en el estudio pacientes sin comorbilidades adicionales.

La determinación serológica de vitamina D, no se realiza de manera rutinaria dentro del control prenatal, y sus valores dependen del estado nutricional basal de la paciente y la exposición solar, y no ha sido estandarizada su suplementación en estados obstétricos, por lo cual la prevalencia de hipovitaminosis D en pacientes embarazadas no ha sido previamente esclarecida, sin embargo, en estudios comentados previamente^{1-2,16}, se determinó que puede ser similar a la población general.

En el presente nuestro estudio, no se encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de deficiencia/insuficiencia de vitamina D entre pacientes normotensas y pacientes con preeclampsia severa. Ambos grupos con variables similares, considerándose grupos homogéneos. Los resultados de este estudio difieren de los resultados de otros estudios como en Samimi M. y colaboradores en 2015¹⁷ el cual en un estudio de casos y controles en el que incluyeron 60 pacientes en 2 grupos y March KM en 2017¹⁸ con una muestra mayor de 226 pacientes y Hossain y cols, en 2014¹⁹ con dos grupos de 89 pacientes, reportaron una mayor prevalencia de hipovitaminosis en pacientes con estados hipertensivos.

Estos autores sugerían de acuerdo con sus hallazgos que la forma activa de la vitamina D podría jugar un papel regulador en el proceso de placentación y que el trofoblasto en casos de disminución de la vitamina D y su receptor podría crecer de forma desorganizada, haciendo que la invasión trofoblástica no sea funcional, pues la desorganización ocasiona que no se alcancen los espacios lacunares de forma correcta, comprometiendo el aporte arterial/oxígeno de la unidad fetoplacentaria^{12,14}

La vitamina D quizá funcione como inmomodulador, pues se ha asociado niveles mayores de interleucina 6 (IL-6) en pacientes con hipovitaminosis D, lo que se asocia a procesos inflamatorios de mayor intensidad.¹⁰

De acuerdo con los resultados del presente estudio, el cual presenta algunas limitaciones que se comentarán posteriormente, se puede concluir que no existen diferencias en las concentraciones de vitamina D entre pacientes con preeclampsia con datos de severidad y un grupo de embarazadas normotensas.

Aunque una de las limitaciones de este estudio es el tamaño de muestra pequeño, aunque el cálculo se hizo tomando en cuenta la concentración de vitamina D, y no en base a la estratificación de acuerdo con si la embarazada es suficiente, insuficiente o deficiente desde el inicio y evaluar si existe diferencias entre los distintos subgrupos de concentraciones de vitamina D con una muestra de mayor tamaño de muestra.

Referencias

1. Steegers EA, Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *The Lancet*. 2010; 376: 631–644.
2. Espinoza J, Vidaeff A, Pettker CM. Gestational Hypertension and Preeclampsia Practice Bulletin. ACOG. 2019; 133:1-8.
3. Abalos E, Cuesta C, Carroli G, Qureshi Z, Widmer M, Vogel JP et al. Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG*. 2014; 121:14–24.
4. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ*. 2016; 353:1-14
5. Magee LA, Pels A, Helewa M, Rey E, Dadelszen P, Magee LA et al. Diagnosis, Evaluation, and Management of the Hypertensive Disorders of Pregnancy: Executive Summary. *J Obstet Gynaecol Can*. 2014; 36: 416–438.
6. Urrutia RP, Thorp JM. Vitamin D in Pregnancy: Current Concepts. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2012; 24: 57–64.
7. Burris HH, Rifas-Shiman SL, Huh SY, Kleinman K, Litonjua AA, Oken E et al. Vitamin D status and hypertensive disorders in pregnancy. *Ann Epidemiol Public Health*. 2014; 24: 399-403.
8. Benachi A, Baptiste A, Taieb J, Tsatsaris V, Guibourdenche J, Senat MV et al. Relationship between vitamin D status in pregnancy and the risk for preeclampsia: A nested case-control study. *Clin Nutr*. 2019; 12:200-220.
9. Liu NQ, Hewison M. Vitamin D, the placenta and pregnancy. *Arch Int Physiol Biochim Biophys*. 2012; 523: 37–47.
10. Grundmann M, Haidar M, Placzko S. Vitamin D improves the angiogenic properties of endothelial progenitor cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2012; 303: 954–962.
11. Xu L, Lee M, Jeyabalan A. The relationship of hypovitaminosis D and IL-6 in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2014; 210: 149.e1-149.e7.
12. Bodnar LM, Simhan HN, Catov JM. Maternal vitamin D status and the risk of mild and

- severe preeclampsia. *Epidemiol* 2014; 25: 207–214.
13. Murthi P, Yong HEJ, Ngyuen TPH. Role of the Placental Vitamin D Receptor in Modulating Feto-Placental Growth in Fetal Growth Restriction and Preeclampsia-Affected Pregnancies. *Front Physiol*. 2016;13: 123-138.
14. Pashapour S, Golmohammadlou S, Behroozi-Lak T. Relationship between low maternal vitamin D status and the risk of severe preeclampsia: A case control study. *Am J Obstet Gynecol*. 2019;15:161–165.
15. Wagner CL, McNeil RB, Johnson DD. Health characteristics and outcomes of two randomized vitamin D supplementation trials during pregnancy: A combined analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* .2013;136: 313–320.
16. Websky K, Hasan AA, Reichetzeder C. Impact of vitamin D on pregnancy-related disorders and on offspring outcome. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;180: 51–64.
17. Samimi M, Kashi M, Foroozanfard F, Karamali M, Bahmani F, Asemi Z, et al. The effects of vitamin D plus calcium supplementation on metabolic profiles, biomarkers of inflammation, oxidative stress and pregnancy outcomes in pregnant women at risk for pre-eclampsia. *J Hum Nutr Diet*. 2015; 214: 120-136.
18. March K, Chen N, Karakochuk C, Shand A, Innis S, von P, et al. Maternal vitamin D₃ supplementation at 50 µg/d protects against low serum 25-hydroxyvitamin D in infants at 8 wk of age: a randomized controlled trial of 3 doses of vitamin D beginning in gestation and continued in lactation. *Am J Clin Nutr*. 2015;102(2):402–10.
19. Hossain N, Kanani F, Ramzan S, Kausar R, Ayaz S, Khanani R, et al. Obstetric and neonatal outcomes of maternal vitamin D supplementation: results of an open-label, randomized controlled trial of antenatal vitamin D supplementation in Pakistani women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(7):2448–55.