

**Vitamina D y Metabolitos Relacionados.**

**Resultados Adversos Materno-fetales.**



**UNIVERSIDAD  
DE GRANADA**

Tesis Doctoral

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA CLÍNICA Y SALUD PÚBLICA

Doctorando: D. Íñigo María Pérez Castillo

Directora: Dra. María José Aguilar Cordero

Granada, 2021



Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autor: Íñigo María Pérez Castillo  
ISBN: 978-84-1117-051-2  
URI: <http://hdl.handle.net/10481/70704>

## **Agradecimientos**

Dedico el presente trabajo a todas aquellas personas que me han acompañado durante estos años, me han guiado y han contribuido a mi desarrollo personal e intelectual. Agradezco a los integrantes del grupo de investigación del Plan Andaluz de Investigación, Desarrollo e Innovación (PAIDI) “CTS-367” y en particular a su coordinadora, la Dra. María José Aguilar Cordero, por contribuir con su tiempo, dedicación y esfuerzo al desarrollo de este proyecto que siempre he considerado necesario. Gracias.

A mis padres, por apoyar mi decisión de llevar a cabo este trabajo y ser mi guía cuantas veces lo he necesitado.

A mis abuelos, Aurora y Papapí. Aunque no puedan leer este trabajo, sé que estarían orgullosos.

A Mar y su familia, por acogerme y estar a mi lado todos estos años, incluso en las situaciones más imprevistas.

Y muy especialmente a mi padre. Sin ti nada de esto sería posible. Txapeldun.

## Listado de publicaciones y criterios de calidad

### Publicaciones de la Tesis Doctoral

Aguilar-Cordero M.J, Lasserrot-Cuadrado A, Mur-Villar N, León-Ríos X.A, Rivero-Blanco T, **Pérez-Castillo I.M\***. Vitamin D, preeclampsia and prematurity: A systematic review and meta-analysis of observational and interventional studies. *Midwifery*. 2020;87:102707. <https://doi.org/10.1016/j.midw.2020.102707>

Enviado: 30 de septiembre de 2019      Aceptado: 20 de marzo de 2020

Factor de impacto 2019: 1,778      Categoría en JCR: *Nursing*      Posición 36/123 (2019)

**Pérez-Castillo Í.M**, Rivero-Blanco T, León-Ríos X.A, Expósito-Ruiz M, López-Criado M.S, Aguilar-Cordero M.J\*. Associations of Vitamin D Deficiency, Parathyroid hormone, Calcium, and Phosphorus with Perinatal Adverse Outcomes. A Prospective Cohort Study. *Nutrients*. 2020;12(11):1–14. <https://doi.org/10.3390/nu12113279>

Enviado: 15 de septiembre de 2020      Aceptado: 22 de octubre de 2020

Factor de impacto 2019: 4,546      Categoría en JCR: *Nutrition & Dietetics*      Posición 17/89 (2019)

### Otras publicaciones realizadas durante el desarrollo de la Tesis Doctoral

Aguilar Cordero M.J, Fajardo Gaitán M, **Pérez Castillo I.M\***, Rojas Carvajal A.M, Latorre García J, Núñez Negrillo A.M. Alteraciones y efectos del sueño durante el embarazo. *JONNPR*. 2020;5(12):1558–74. <https://doi.org/10.19230/jonnpr.3979>

Aguilar Cordero M.J, León-Ríos X.A\*, Luque- Ortega A, **Pérez-Castillo I.M**, Rivero-Blanco T, Mur-Villar N. Efecto de los probióticos como tratamiento alternativo para la mastitis humana. *JONNPR*. 2020;5(10):1179–94. <https://doi.org/10.19230/jonnpr.3801>

**Pérez-Castillo Í.M**, Fernández-Castillo R, Lasserrot-Cuadrado A, Gallo-Vallejo J.L, Rojas-Carvajal A.M, Aguilar-Cordero M.J\*. Reporting of perinatal outcomes in probiotic randomized controlled trials. A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2021;13(1):1–24. <https://doi.org/10.3390/nu13010256>

Aguilar Cordero M.J, Quirantes Morillas M, Rivero Blanco T, Rojas Carvajal A.M, **Pérez Castillo I.M**, Sanchez Lopez A.M. Variación del perfil lipidico durante el embarazo y su relacion con las enfermedades metabolicas. *JONNPR*. 2021;6(8):1064–78. <https://doi.org/10.19230/jonnpr.4008>

Gil-Montoya J.G, León Ríos X.A, Rivero-Blanco T, Expósito-Ruiz M, **Pérez-Castillo I.M**, Aguilar-Cordero M.J. Factors associated with oral health-related quality of life during pregnancy: a prospective observation study. *Qual. Life Res*. 2021. <https://doi.org/10.1007/s11136-021-02869-3>

Aguilar Coder M.J, León Ríos X.A, Rojas Carvajal A.M, Latorre García J, Pérez Castillo I.M, Sánchez López A.M. Efectos de la actividad física sobre la calidad de vida en niños con sobrepeso y obesidad. *Nutr.Hosp*. 2021. <https://10.20960/nh.03373>. Aceptado.

### Contribuciones a congresos realizadas durante el desarrollo de la Tesis Doctoral

Comunicación formato póster al Congreso Internacional de Sociedad, Psicología y Salud de Granada titulada “Trastorno del Espectro Autista y Microbiota Intestinal”. Lasserrot-Cuadrado A, **Pérez-Castillo I.M**, Latorre-García J, Núñez-Negrillo A.M, León-Ríos X.A, Aguilar-Cordero M.A. 13 y 14 de diciembre de 2018.

Comunicación formato póster al I Congreso de Investigadores del PTS de Granada titulada “Seguridad en cosmética. Nanomateriales empleados”. Aguilar-Cordero M.J, **Pérez-Castillo I.M**, Lasserrot-Cuadrado A, León-Ríos X.A, Noack-Segovia J. 13 – 15 de febrero de 2019.

Comunicación formato póster al I Congreso de Investigadores del PTS de Granada titulada “Comportamiento de los biomarcadores durante el embarazo y la lactancia. Modelo Predictivo. Estudio BECOME”. Aguilar-Cordero M.J, León-Ríos X.A, Rivero-Blanco T, Sánchez-García J.C, **Pérez-Castillo I.M** Rodríguez-Blanco R. 13 de febrero de 2019.

Comunicación formato póster al congreso internacional CONSEURO 2019 celebrado en Berlín titulada “Socioeconomic determinants related to the experience of dental caries in pregnant women in Granada, Spain”. León-Ríos X.A, Gil-Montoya J.A, Rivero-Blanco T, Expósito-Ruiz M, **Pérez-Castillo I.M**, Aguilar-Cordero M.J. 14 y 15 de junio de 2019.

Comunicación oral a la Cuarta Jornada de Investigación e Innovación en Salud JIIS 2020 celebrado en Talca, Chile, titulada “Influencia del estado nutricional sobre la composición del calostro”. Aguilar-Cordero M.J, Noack-Segovia J.P, **Pérez-Castillo I.M**, Gallo-Vallejo J.L, Núñez-Negrillo A.M, Sánchez-López A.M. 10 de diciembre de 2020

## ÍNDICE

I. Introducción.....	1
I.1. Fisiología del embarazo .....	2
I.1.1. Cambios hematológicos.....	2
I.1.2. Cambios cardiovasculares .....	4
I.1.3. Cambios respiratorios .....	5
I.1.4. Cambios renales.....	6
I.1.5. Cambios gastrointestinales .....	7
I.1.6. Cambios metabólicos.....	8
I.2. Resultados adversos maternos .....	13
I.2.1. Desórdenes hipertensivos .....	13
I.2.2. Hiperglucemia gestacional .....	22
I.3. Resultados adversos perinatales .....	27
I.3.1. Parto pretérmino y postérmino .....	27
I.3.2. Bajo peso al nacer y macrosomía .....	30
I.3.3. Aborto espontáneo, aborto retenido y muerte fetal .....	34
I.4. Vitamina D durante la gestación .....	36
I.5. Historia de las vitaminas.....	38
I.6. Descubrimiento de la vitamina D .....	40
I.7. Carácter prohormonal de la vitamina D .....	42
I.8. Metabolismo de la vitamina D.....	45
I.9. Mecanismo de acción de la vitamina D.....	51
I.10. Efectos de la vitamina D en la homeostasis ósea y mineral .....	56
I.10.1. Absorción intestinal de calcio.....	56
I.10.2. Reabsorción renal de calcio y fósforo .....	58
I.10.3. Homeostasis ósea.....	59

I.11. Efectos extraóseos de la vitamina D.....	60
I.11.1. Vitamina D y cáncer.....	61
I.11.2. Vitamina D e inmunidad.....	64
I.11.2.1. Inmunidad innata.....	64
I.11.2.2. Inmunidad adaptativa.....	66
I.12. Vitamina D y sistema cardiovascular.....	68
I.12.1. Vitamina D y desórdenes hipertensivos gestacionales.....	69
I.13. Vitamina D y homeostasis de la glucosa.....	71
I.13.1. Vitamina D y diabetes mellitus gestacional.....	72
I.14. Vitamina D y resultados perinatales.....	73
II. Objetivos.....	78
II.1. Objetivos generales.....	79
II.2. Objetivos específicos.....	79
III. Metodología.....	81
III.1. Revisión sistemática y meta-análisis.....	82
III.1.1. Estrategia de búsqueda.....	82
III.1.2. Criterios de inclusión y exclusión.....	83
III.1.3. Extracción de datos.....	84
III.1.4. Evaluación de calidad.....	85
III.1.5. Síntesis de datos.....	88
III.2. Estudio de cohortes prospectivo.....	89
III.2.1. Datos de las participantes.....	89
III.2.2. Variables clínicas y bioquímicas.....	91
III.2.3. Análisis estadístico.....	93
IV. Resultados.....	95
IV.1. Resultados de la revisión sistemática.....	96
IV.1.1. Características de los estudios.....	98

IV.1.2. Evaluación de la calidad .....	117
IV.1.3. Síntesis de datos.....	122
IV.1.3.1. Meta-análisis: preeclampsia y vitamina D.....	122
IV.1.3.2. Meta-análisis: prematuridad y vitamina D .....	127
IV.2. Resultados del estudio de cohortes prospectivo .....	135
IV.2.1. Características de las participantes .....	135
IV.2.2. Resultados adversos del embarazo y parto .....	139
IV.2.3. Deficiencia de vitamina D, metabolitos y resultados perinatales .....	140
V. Discusión.....	146
V.1. Revisión sistemática.....	147
V.1.1. Evidencia obtenida en los estudios observacionales.....	149
V.1.2. Heterogeneidad metodológica.....	152
V.1.3. Evidencia obtenida en los estudios de intervención .....	159
V.1.4. Fortalezas y limitaciones .....	162
V.2. Estudio de cohortes: deficiencia de vitamina D y parto prematuro .....	163
V.3. Estudio de cohortes. Vitamina D y metabolitos relacionados .....	165
V.3.1. Fortalezas y limitaciones.....	167
VI. Conclusiones.....	169
VII. Anexo I.....	204

## Abreviaturas

1,25(OH)2D	1,25-dihidroxitamina D
24,25(OH)2D	24,25-dihidroxitamina D
25(OH)	25-hidroxitamina D
3-epi-25(OH)D	3-epi-25-hidroxitamina D
ACOG	Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos
ADA	Asociación Americana de Diabetes
ALT	Alanina Aminotransferasa
aOR	<i>Odds Ratio</i> Ajustado
ASAT	Aspartato-aminotransferasa
ATI-AA	Anticuerpo del Receptor de Angiotensina II
CCNL1	Ciclina L-1
CIR	Crecimiento Intrauterino Retardado
CLIA	Immunoensayo Quimioluminiscente
CMIA	Immunoanálisis Quimioluminiscente de Micropartículas
CYP	Citocromo P450
DBP	Proteína Transportadora de Vitamina D
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
ECLIA	Immunoensayo de Electroquimioluminiscencia
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetraacético
ELISA	Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas
FGF23	Factor de Crecimiento Fibroblástico 23
FIGO	Federación Internacional de Obstetricia y Ginecología
Flt-1	Receptor del Factor de Crecimiento Endotelial 1
G6PD	Glucosa 6-Fosfato Deshidrogenasa
GCK	Enzima Glucoquinasa
GEG	Grande para su Edad Gestacional

hCS	Somatotropina Coriónica Humana
HDL	Lipoproteína de Alta Densidad
HIF	Factor Inducido por la Hipoxia 1
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia
HPLC/MS	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia / Espectrometría de Masas
IADPSG	Asociación Internacional de Grupos de Estudio de la Diabetes y Embarazo
IC	Intervalo de Confianza
IL	Interleucina
IMC	Índice de Masa Corporal
IOM	Instituto Americano de Medicina
ISSHP	Sociedad Internacional para el Estudio de la Hipertensión en el Embarazo
LC-MS	Cromatografía Líquida – Espectrometría de Masas
LDL	Lipoproteína de Baja Densidad
LEKR1	Proteína Rica en Leucina, Glutamato y Lisina 1
MAPK	Proteína Quinasa Activada por Mitógeno
NaPi	Co-transportador Sodio-Potasio
NFκB	Factor Nuclear κB
NICE	Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica del Reino Unido
NK	Célula <i>Natural Killer</i>
NOS	Escala Newcastle-Ottawa
NRF2	Factor Nuclear Eritroide 2
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	<i>Odds Ratio</i>
PAMP	Patrón Molecular Asociado a Patógenos
PEG	Pequeño para su Edad Gestacional
PI3K	Fosfatidilinositol-3-Quinasa
PIGF	Factor de Crecimiento Placentario
PTH	Hormona Paratiroidea

RANK	Receptor Activador del Factor Nuclear $\kappa$ B
RANKL	Ligando del Receptor Activador del Factor Nuclear $\kappa$ B
RIA	Radioinmunoensayo
RR	<i>Relative Risk</i>
RXR	Receptor X Retinoide
sENG	Endoglina Soluble
sFLT-1	Tirosina Quinasa-1 Soluble Similar a FMS
SLC	Transportador de Solutos
STBM	Microvesículas de Membrana del Sincitoblasto
TFG- $\beta$ 3	Factor de Crecimiento Transformante $\beta$
TLR	Receptor Tipo <i>Toll</i>
TNF $\alpha$	Factor de Necrosis Tumoral $\alpha$
TRPV6	Receptor de Potencial Transitorio V6
TSH	Hormona Estimulante del Tiroides
UV	Ultra-violeta
VDR	Receptor de Vitamina D
VEFG	Factor de Crecimiento Vascular Endotelial

## **Listado de tablas**

- Tabla 1.** Criterios para el diagnóstico de preeclampsia
- Tabla 2.** Población susceptible a cribado de DMG
- Tabla 3.** Enfermedades y síndromes causados por deficiencias vitamínicas
- Tabla 4.** Efectos potenciales de la vitamina D en la etiología de la preeclampsia
- Tabla 5.** Estrategia de búsqueda y descriptores empleados
- Tabla 6.** Criterios de la escala de Newcastle-Ottawa para estudios de caso-control
- Tabla 7.** Criterios de la escala de Newcastle-Ottawa para estudios de cohortes
- Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia
- Tabla 9.** Características de los estudios que evaluaron parto prematuro
- Tabla 10.** Características de los estudios que evaluaron parto prematuro y preeclampsia
- Tabla 11.** Escala de Newcastle-Ottawa para estudios de caso-control
- Tabla 12.** Escala de Newcastle-Ottawa para estudios de cohortes
- Tabla 13.** Escala de Newcastle-Ottawa adaptada para estudios transversales
- Tabla 14.** Evaluación de la calidad de los ensayos clínicos aleatorizados
- Tabla 15.** Resumen de los análisis. Preeclampsia y vitamina D
- Tabla 16.** Resumen de los análisis. Prematuridad y vitamina D

- Tabla 17.** Características sociodemográficas de las participantes
- Tabla 18.** Concentración de PTH, calcio y fósforo en base a la deficiencia de vitamina D
- Tabla 19.** Frecuencia de los resultados adversos del embarazo y perinatales comparados con frecuencias estimadas regionales y globales
- Tabla 20.** Asociaciones entre metabolitos y resultados perinatales. Modelos de regresión
- Tabla 21.** Asociación entre combinación de niveles maternos de 25-hidroxivitamina D y el percentil 80 de PTH con resultados perinatales
- Tabla 22.** Análisis de sensibilidad. 25-hidroxivitamina D, percentil 75 de PTH y resultados perinatales
- Tabla 23.** Potenciales factores confusores de la deficiencia de vitamina D

## Listado de figuras

- Figura 1.** Etiología de la preeclampsia
- Figura 2.** Estructura de la vitamina D2 y D3
- Figura 3.** Estructura del 25-hidroxivitamina D3 y 1,25-dihidroxivitamina D3
- Figura 4.** Metabolismo de la vitamina D
- Figura 5.** Reacciones del citocromo P450 en el metabolismo de la vitamina D
- Figura 6.** Inducción de la expresión génica mediada por la activación del receptor VDR
- Figura 7.** Acciones no genómicas de la vitamina D
- Figura 8.** Mecanismos de absorción intestinal de calcio
- Figura 9.** Ejemplos de mecanismos de acción antitumorales de la vitamina D
- Figura 10.** Diagrama de flujo de los estudios
- Figura 11.** Meta-análisis de estudios observacionales. Preeclampsia y vitamina D
- Figura 12.** *Funnel plots* de estudios observacionales. Preeclampsia y vitamina D
- Figura 13.** Análisis subgrupo. Estudios de caso-control y cohortes
- Figura 14.** *Funnel plots* de los estudios de caso-control y cohortes
- Figura 15.** Meta-análisis de estudios de intervención. Vitamina D y preeclampsia
- Figura 16.** Meta-análisis de estudios observaciones. Prematuridad y vitamina D

- Figura 17.** *Funnel plots* de estudios observacionales. Prematuridad y vitamina D
- Figura 18.** Análisis subgrupo. Estudios de caso-control y cohortes
- Figura 19.** *Funnel plots* de los estudios de caso-control y cohortes
- Figura 20.** Meta-análisis de estudios de intervención. Vitamina D y prematuridad
- Figura 21.** *Funnel plots* de los estudios de intervención. Preeclampsia y prematuridad
- Figura 22.** Diagrama de flujo de participantes
- Figura 23.** Gráfico de dispersión. Correlación entre PTH y 25-hidroxivitamina D
- Figura 24.** Evolución del número de publicaciones a lo largo del tiempo

## Resumen

El embarazo constituye un proceso dinámico intrínseco del ser humano condicionado por numerosos cambios fisiológicos a nivel anatómico y metabólico que tienen como principal objetivo permitir el crecimiento y desarrollo fetal. Perturbaciones en dicho proceso pueden desembocar en patologías y alteraciones maternas y perinatales. Entre los resultados adversos maternos más destacables, en base a la gravedad de sus comorbilidades asociadas, se encuentra la preeclampsia. Dicha patología cursa con disfunción útero-placentaria y desequilibrio proinflamatorio sistémico. En relación al periodo perinatal, las complicaciones derivadas del parto prematuro constituyen la principal causa de mortalidad infantil en niños menores de cinco años en todo el mundo. En la actualidad, la principal estrategia para abordar el parto prematuro y la preeclampsia está basada en la prevención. En este sentido, diversos estudios epidemiológicos han apuntado a que la deficiencia de vitamina D podría ser un factor involucrado en la etiología de ambos resultados adversos materno-fetales.

La vitamina D es un secoesteroide liposoluble que juega un papel fundamental en la homeostasis del calcio y fósforo en el ser humano. En años recientes, el interés por las potenciales funciones extraóseas de la vitamina D ha crecido de manera exponencial habiéndose estudiado el papel que dicha vitamina juega en patologías de tan diversa índole como son cáncer, enfermedad autoinmune, diabetes mellitus y desórdenes hipertensivos. En relación al embarazo, la deficiencia de vitamina D es muy prevalente entre la población gestante siendo por ello que se ha relacionado dicha deficiencia con un riesgo incrementado de desarrollar preeclampsia, diabetes mellitus gestacional y resultados adversos perinatales tales como parto prematuro y bajo peso al nacer. Sin embargo, los estudios llevados a cabo hasta la fecha han arrojado resultados

inconcluyentes siendo la metodología de dichos estudios altamente heterogénea. Particularmente, el análisis de otros metabolitos tales como hormona paratiroidea, fósforo y calcio, cuyo metabolismo depende estrechamente del de la vitamina D, podría ser de utilidad a la hora de estudiar el papel que la deficiencia de vitamina D juega en el embarazo.

En el presente Proyecto de Tesis Doctoral con formato clásico se propuso evaluar la evidencia científica actual sobre la asociación entre deficiencia e insuficiencia materna de vitamina D y la prevalencia de preeclampsia y parto prematuro mediante una revisión sistemática y meta-análisis de la literatura científica para después contrastar el efecto que la deficiencia de vitamina D ejerce en la etiología del parto prematuro y bajo peso al nacer en una cohorte de estudio constituida por mujeres embarazadas de la población de Granada, España. Finalmente, se analizó el papel que otros metabolitos relacionados con el metabolismo de la vitamina D juegan en la asociación con dichos resultados adversos perinatales.

Los resultados del análisis de la literatura pusieron de manifiesto que existe una tendencia hacia concentraciones insuficientes y deficientes de vitamina D y un riesgo incrementado de parto prematuro y preeclampsia. Los análisis subgrupo de dichos resultados evidenciaron que dicha asociación depende en gran medida del diseño de los estudios evaluados, así como de los rangos de concentración establecidos para definir la deficiencia e insuficiencia de vitamina D. En relación a la prematuridad, dichos resultados se vieron reflejados en el estudio de cohorte prospectivo observándose una tendencia hacia bajas concentraciones de vitamina D y un riesgo incrementado de sufrir parto prematuro y bajo peso al nacer. Particularmente, las mujeres con concentraciones deficientes de vitamina D en combinación con niveles elevados de hormona paratiroidea presentaban un riesgo incrementado entre cinco y seis veces de padecer parto prematuro. Similarmente, el riesgo de padecer bajo peso al nacer también se incrementaba entre

dichas mujeres, pero su significancia estadística dependencia de la edad gestacional. Finalmente, calcio y fósforo no se asociaron con ninguno de los resultados adversos perinatales estudiados.

En conclusión, los resultados del presente Proyecto de Tesis Doctoral apoyan la hipótesis de que la deficiencia y la insuficiencia de vitamina D constituyen un factor de riesgo para el desarrollo de resultados adversos materno-fetales tales como preeclampsia, parto prematuro y bajo peso al nacer, siendo necesarios nuevos estudios de intervención con suplementación de vitamina D bien diseñados, que armonicen aspectos tales como dosis y posología y que se propongan como objetivo específico evaluar el efecto que la suplementación con vitamina D ejerce en dichos resultados adversos materno fetales. Dichos estudios deben comprender la existente interacción entre las distintas patologías y alteraciones propias del embarazo y han de considerar el complejo metabolismo de la vitamina D analizando otros metabolitos como es la hormona paratiroidea. Finalmente, dichos estudios no están exentos de importantes aspectos éticos a sopesar y deben considerar importantes conceptos inherentes al estudio de nutrientes.

## **Abstract**

Pregnancy is an intrinsic dynamic process of women which is characterized by a number of physiological and anatomical changes that have as a main purpose enabling fetal growth and development. Alterations in this process can lead to maternal and perinatal adverse outcomes. Among the most prominent maternal adverse outcomes of pregnancy, based on its remarkable severity and associated comorbidities, we can highlight preeclampsia. Preeclampsia is characterized by utero-placental dysfunction along with a systemic proinflammatory disorder. Regarding the perinatal period, complications caused by preterm birth constitute the main cause of mortality in children under five years old worldwide. Currently, prevention is the main option to tackle both preeclampsia and preterm birth. In this sense, several epidemiological studies have suggested that vitamin D deficiency could be an underlying factor in the etiology of both maternal and perinatal adverse outcomes.

Vitamin D is a liposoluble secosteroid that play a crucial role in human calcium and phosphorus homeostasis. In recent years, the interest in the potential extra-skeletal functions of vitamin D has grown exponentially and the role that this vitamin D could play in a number of diseases namely cancer, diabetes mellitus, hypertensive and autoimmune disorders have been explored. Regarding pregnancy, vitamin D deficiency is highly prevalent in the pregnant population, thereby having been associated to increased risk of preeclampsia gestational diabetes mellitus and adverse perinatal outcomes such as preterm birth and low birth weight. However, studies conducted to date have yielded non-conclusive results being the methodology of these studies highly heterogeneous. In particular, the analysis of other metabolites such as parathyroid

hormone, phosphorus, and calcium, that are closely related to vitamin D metabolism, might be beneficial to elucidate the role that vitamin D deficiency plays on pregnancy.

In the present classic-format Project of Doctoral Thesis, we aimed to evaluate the existing scientific evidence regarding the association between vitamin D insufficiency and deficiency and the prevalence of preeclampsia and preterm birth. We conducted a systematic review and meta-analysis of the scientific literature on the subject to later contrast the impact that vitamin D deficiency has on preterm birth and low birth weight in a prospective cohort study consisting of pregnant women from Granada, Spain. Finally, we analyzed the role that other vitamin D-related metabolites may play in these perinatal adverse outcomes.

Results obtained through the systematic review and meta-analysis made evident the existing trend towards lower vitamin D concentrations and increased risk of both preterm birth and preeclampsia. Subgroup analyses of these results illustrated that these associations strongly depend on both study design and vitamin D cut-off points used to define vitamin D deficiency and insufficiency. We replicated the results in relation to preterm birth in a prospective cohort study observing a trend towards lower concentrations of vitamin D and higher odds of preterm birth and low birth weight. In particular, women with vitamin D deficiency in combination with elevated levels of parathyroid hormone had between five and six-fold increased odds of preterm birth. Similarly, the risk of having low birth weight was increased in this group of women but the statistical significance depended on gestational age at delivery. Finally, calcium and phosphorus were not associated with any of the studied adverse perinatal outcomes.

In conclusion, the results of the present Project of Doctoral Thesis support the hypothesis that both vitamin D deficiency and insufficiency constitute a risk factor for the development of adverse pregnancy outcomes such as preeclampsia, preterm birth and low birth weight. New

well-designed randomized controlled trials, that harmonize aspects such as dosage and posology and aim to evaluate specific maternal and perinatal outcomes, are required to further elucidate the effect that vitamin D supplementation exerts on adverse pregnancy outcomes. These studies must contemplate the existing correlations between different adverse pregnancy outcomes and consider the complex metabolism of vitamin D by analyzing vitamin D-related metabolites such as parathyroid hormone. Finally, these randomized controlled trials are not exempt from important ethical aspects to thoughtfully evaluate and must consider key concepts that are inherent to nutrients research.



# I. INTRODUCCIÓN



## I.1. Fisiología del embarazo

El embarazo constituye un proceso dinámico intrínseco del ser humano que conlleva numerosos cambios fisiológicos a nivel anatómico y metabólico cuyo objetivo es permitir el crecimiento y desarrollo fetal a la par que se mantiene la homeostasis materna y se predispone a la madre para la posterior lactancia (1).

Los cambios más evidentes producidos durante la gestación acontecen a nivel endocrino. Dichos cambios están bien documentados en la bibliografía científica y son consecuencia de la delicada interacción entre la madre y el feto en desarrollo. Tienen el propósito de adecuar el endometrio para la implantación y preparar el cuerpo materno para el desarrollo fetal. Numerosas hormonas se encuentran involucradas en este proceso. La gonadotropina coriónica es la encargada del mantenimiento del cuerpo lúteo y por tanto participa en el incremento en la secreción de progesterona y estrógenos. El cuerpo lúteo se encarga de la producción de dichos esteroides hasta que su función es reemplazada por la placenta. Estas moléculas son las responsables de la mayor parte de los cambios acontecidos durante la gestación (2).

Con el propósito de esquematizar los cambios fisiológicos que se producen a lo largo de la gestación podemos clasificarlos en cambios: hematológicos, cardiovasculares, respiratorios, renales, gastrointestinales y metabólicos (3).

### *I.1.1. Cambios hematológicos*

Durante la gestación se produce un incremento del volumen sanguíneo total, de plasma y de glóbulos rojos. En relación al volumen sanguíneo, este se ve incrementado durante el embarazo en torno a un 30 – 50% del volumen sanguíneo normal en comparación con mujeres no embarazadas. El recuento de glóbulos rojos se incrementa desde la semana 8 – 10 de

gestación hasta un 30% por encima del de la mujer no embarazada, elevándose a su vez los niveles de eritropoyetina humana hasta un 50% pero disminuyendo ligeramente la esperanza de vida del hematíe (4).

El embarazo fisiológico también suele cursar con anemia moderada debida al incremento del volumen plasmático en relación a los niveles de hemoglobina. Esta desproporción se acentúa de cara al tercer trimestre gestacional (4). En línea con estos cambios, la suplementación con hierro es habitual durante la gestación con objeto de mantener niveles adecuados de dicho mineral.

En relación a la coagulación, el embarazo se considera un estado de protrombosis fisiológica. La gestación se caracteriza por un aumento de los niveles plasmáticos de factores de la coagulación sanguínea VII, VIII, IX, XII y disminución de los factores XI y III (3). Dichos aumentos pueden llegar a ser muy pronunciados y la normalización de estos factores se suele dar en torno a las ocho semanas postparto.

Finalmente, el embarazo se asocia con leucocitosis debida principalmente a un incremento en la concentración de neutrófilos durante la primera mitad de la gestación. No obstante, en cuanto al recuento linfocítico el embarazo cursa sin cambios destacables (4).

Cambios hematológicos del embarazo fisiológico

- ↑↑ Volumen sanguíneo
- ↑↑ Volumen plasmático
- ↑↑ Cantidad de glóbulos rojos
- ↑↑ Anemia
- ↑↑ Factores protrombóticos
- ↓↓ Factores antitrombóticos
- ↑↑ Leucocitosis

*1.1.2. Cambios cardiovasculares*

El embarazo se asocia con notables cambios vasculares sistémicos. La modificación cardiovascular más evidente es el desplazamiento lateral y anterior del corazón debido al reposicionamiento diafragmático causado por el aumento del volumen del útero. Asimismo, durante el primer trimestre de gestación se produce una marcada disminución de la resistencia vascular periférica que se mantiene constante de cara al tercer trimestre gestacional. En base al aumento del volumen sanguíneo, también se incrementa el gasto cardíaco, así como el consumo de oxígeno. El incremento del gasto cardíaco es más pronunciado en el segundo trimestre gestacional y resulta aún mayor en embarazos múltiples (5).

La presión arterial durante la gestación tiende a disminuir ligeramente durante la primera mitad del embarazo en torno a 5 – 10 mm Hg. La tendencia que adoptan los valores de presión sistólica y diastólica durante la gestación es variable en base al tipo de población e IMC, entre otros factores. En lo relativo al ritmo cardíaco, éste aumenta progresivamente hacia el tercer trimestre de gestación alcanzando valores que se incrementan hasta un 25%. Finalmente, la contractilidad cardíaca no parece modificarse durante la gestación (5).

Cambios cardiovasculares del embarazo fisiológico

↓↓	Resistencia vascular periférica
↑↑	Volumen sistólico
↑↑	Gasto cardíaco
↓↓	Presión sistólica
↓↓	Presión diastólica
↑↑	Frecuencia cardíaca
↑↑	Consumo de oxígeno

*1.1.3. Cambios respiratorios*

El cambio en el aparato respiratorio más notable durante la gestación consiste en el incremento de la circunferencia torácica y desplazamiento diafragmático necesarios para acomodar el útero. En relación a las vías respiratorias superiores, la hipersecreción glandular y el consecuente edema conllevan un estado de rinitis muy prevalente durante la gestación (6).

Respecto a la capacidad funcional, el embarazo se caracteriza por una disminución de la capacidad residual funcional y, por tanto, del volumen de reserva espiratorio y volumen residual. También es destacable un incremento en la tasa de ventilación por minuto lo cual implica una reducción de la presión parcial de CO<sub>2</sub> y la consecuente alcalosis respiratoria crónica y compensación del sistema tampón bicarbonato (3,6).

Cambios respiratorios del embarazo fisiológico

↓↓	Volumen de reserva espiratorio
↓↓	Volumen residual
↓↓	Capacidad residual funcional
↑↑	Edema de vías aéreas superiores
↑↑	Ventilación por minuto
↓↓	Presión parcial de CO <sub>2</sub>

*1.1.4. Cambios renales*

El embarazo afecta a la práctica totalidad de los aspectos fisiológicos de la función renal en mayor o menor medida. El volumen de los riñones se incrementa significativamente y el aumento en el volumen sanguíneo conlleva una tasa incrementada de filtración glomerular de en torno al 50%. Esto a su vez conlleva un incremento en la aclaramiento de creatinina que se hace más patente conforme avanza la gestación (7).

Se estima que la hidronefrosis, definida como una dilatación del sistema colector renal, ocurre en más del 40% de las mujeres embarazadas, siendo más prevalente en el tercer trimestre y predominante en el riñón derecho. Durante la gestación el tamaño del riñón se puede expandir entre 1 – 1,5 cm (7). Todos estos cambios implican una mayor susceptibilidad a sufrir infección urinaria durante la gestación (8).

La función renal también se ve desplazada hacia un desequilibrio electrolítico que conlleva proteinuria, glucosuria y reducción de los niveles de sodio plasmáticos. En general, los cambios en la función renal son debidos a los cambios hemodinámicos y hormonales propios de la gestación tales como alteración del sistema renina-angiotensina-aldosterona, disminución de la presión arterial y aumento del volumen sanguíneo.

**Cambios renales del embarazo fisiológico**

- ↑↑ Tamaño de los riñones
- ↑↑ Volumen sanguíneo renal
- ↑↑ Hidronefrosis
- ↑↑ Filtración glomerular
- ↑↑ Aclaración de creatinina
- ↓↓ Osmolaridad
- ↑↑ Hiponatremia

*1.1.5. Cambios gastrointestinales*

El incremento en los niveles de progesterona propio del embarazo conlleva un retraso del vaciamiento gástrico y un incremento del tiempo de tránsito en el intestino delgado de hasta el 50% (8). Estos factores, en conjunto con la compresión propia del útero, implican una mayor predisposición a padecer reflujo gastroesofágico.

Otro signo propio del embarazo son las náuseas. Un 35% de las mujeres embarazadas padecen náuseas y vómitos durante el embarazo. Cuando estas persisten se puede hablar de hiperémesis gravídica que afecta en torno al 0,3 – 1% de los embarazos (9). La causa de las náuseas suele atribuirse a procesos placentarios y suelen ser mucho más prevalentes durante la primera mitad del embarazo. En la misma línea, el estreñimiento es otra consecuencia muy frecuente de la gestación. Lo padecen hasta el 40% de las embarazadas y su causa es multietiológica pudiendo ser debido a una combinación de factores hormonales y mecánicos consecuencia del crecimiento fetal y placentario, así como a cambios dietéticos y de actividad física (10).

Finalmente, la prevalencia de gingivitis y sangrado gingival también se encuentra incrementada durante la gestación. Dicha gingivitis suele ser independiente de la placa bacteriana y remite tras el parto. La inflamación del tejido gingival se asocia a los cambios hormonales propios del embarazo, así como a cambios a nivel inmune y de la microbiota bacteriana bucal (11).

Cambios gastrointestinales del embarazo fisiológico

↑↑	Sangrado gingival
↑↑	Náuseas
↑↑	Vómitos
↑↑	Estreñimiento
↓↓	Velocidad de vaciamiento gástrico
↑↑	Tiempo de tránsito intestinal
↑↑	Reflujo gastroesofágico
↑↑	Hipersalivación

*1.1.6. Cambios metabólicos*

Durante la gestación, numerosas rutas metabólicas se ven modificadas con objeto de cumplir con las demandas nutricionales propias del embarazo. Concretamente, el metabolismo de la glucosa sufre cambios sustanciales a lo largo de los tres trimestres de gestación.

El metabolismo de la glucosa se ve modificado a nivel basal y postprandial y cambia de acuerdo a las demandas de la madre y el feto. La concentración de glucosa plasmática en ayunas tiende a disminuir conforme progresa la gestación en parte debido a la hemodilución, así como a un uso incrementado de dicho sustrato (11). El transporte de glucosa de la madre al feto es el mayor de entre todos los nutrientes.

La gestación se caracteriza por una disminución de la sensibilidad a la insulina. Durante la gestación temprana se estima que dicha disminución es de un 10% siendo más pronunciada en mujeres obesas. Conforme avanza el embarazo, la resistencia periférica a la insulina disminuye de manera pronunciada entre 30 – 80%. Entre los factores que podrían ser responsables de dicho descenso se encuentra la somatotropina coriónica humana (hCS), el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y la concentración de ácidos grasos libres (11). Dicho incremento de la resistencia a la

insulina se traduce frecuentemente en hiperglucemia gestacional la cual, debido a su elevada prevalencia, ha de ser controlada de manera rutinaria en las consultas prenatales de obstetricia. En este sentido, existen varias pruebas diagnósticas para el cribado de la diabetes mellitus gestacional como son la prueba de O'Sullivan y la prueba de sobrecarga oral de glucosa.

Las hormonas tiroideas se encargan de regular el consumo de oxígeno y el metabolismo basal. El embarazo se caracteriza por un incremento en la producción de hormonas tiroideas T3 y T4. Dicho incremento da lugar durante el primer trimestre de gestación principalmente e implica un reajuste de dosis en el tratamiento de las pacientes con hipotiroidismo. El incremento de las hormonas tiroideas conlleva un efecto de *feedback* negativo de la hormona estimulante del tiroides (TSH) cuya concentración disminuye durante la primera mitad de la gestación (8).

En la misma línea, el metabolismo lipídico se modifica sustancialmente durante la gestación. El embarazo conlleva un importante incremento del tejido graso. Dicho incremento puede estar asociado al aumento de la resistencia a la insulina (11). Similarmente, la concentración de triglicéridos puede duplicarse durante el embarazo y la de colesterol total se puede incrementar hasta un 50%. Dicho incremento es mayor en el colesterol de baja densidad (LDL) que en el de alta densidad (HDL). Finalmente, la concentración basal de ácidos grasos libres también se ve incrementada al final de la gestación (11).

El metabolismo proteico también ha de ajustarse a los requerimientos fetales. Durante el comienzo del embarazo no existen cambios notables en dicho metabolismo. No obstante, conforme progresa la gestación, el metabolismo proteico se adapta con el objetivo de incrementar la conservación de nitrógeno, disminuyendo su excreción a nivel urinario en forma de urea, así como la síntesis de esta (1). La concentración plasmática de aminoácidos también

disminuye en favor de un incremento de la síntesis proteica de hasta el 25% durante el tercer trimestre gestacional (12).

El nivel de vitaminas y micronutrientes es muy relevante durante el embarazo. La deficiencia de numerosos micronutrientes tales como hierro, iodo y cinc se ha asociado a alteraciones del embarazo y parto (13). En relación a las vitaminas, es crucial para el bienestar fetal la concentración materna de ácido fólico (vitamina B9) el cual es necesario para la síntesis de ADN y ARN. Los requerimientos de ácido fólico se encuentran incrementados durante la gestación siendo la población embarazada un blanco perfecto para la suplementación rutinaria con dicha vitamina.

Otra vitamina hidrosoluble con una importante función durante el embarazo es la vitamina C. Dicha vitamina promueve la absorción de hierro, mineral que presenta una demanda incrementada durante la gestación. La vitamina C participa en la prevención del daño por estrés oxidativo el cual se ha asociado con limitaciones en el crecimiento fetal (13). Particularmente, una revisión de Cochrane sugirió que la suplementación con vitamina C durante la gestación podría repercutir de manera positiva en la prevención del desprendimiento de placenta y la ruptura prematura de membranas, aunque no se puede concluir una asociación causal (14).

En relación a las vitaminas liposolubles, los requerimientos de vitamina A se encuentran incrementados durante la gestación. Esta vitamina juega un papel fundamental en el desarrollo de los órganos del feto (15). Un exceso de vitamina A puede conllevar efectos teratogénicos. No obstante, se ha comprobado en modelos animales que la deficiencia de vitamina A también conlleva malformaciones particularmente a nivel de desarrollo pulmonar (16).

Finalmente, una vitamina liposoluble a destacar durante el embarazo es la vitamina D. Los requerimientos de calcio propios de la homeostasis ósea se encuentran regulados principalmente por la hormona paratiroidea (PTH), las hormonas esteroideas y la forma activa de la vitamina D denominada “calcitriol” (1,25-dihidroxitriol). La función de dichas hormonas es regular la absorción mineral, así como retirar mineral del esqueleto materno para suplir las necesidades fetales y de lactancia materna (17).

El metabolismo de estas hormonas en la mujer embarazada se adapta con objeto de lograr un ambiente uterino idóneo para el desarrollo fetal. En relación a la vitamina D, existen tres cambios sustanciales durante la gestación: incremento de la síntesis materna de calcitriol, incremento de la disponibilidad materna de calcidiol (25-hidroxitriol) e incremento de la concentración plasmática de la proteína transportadora de vitamina D (DBP) (18). Estos cambios se evidencian tanto a nivel sistémico como placentario. Diversos estudios han demostrado que el calcidiol es capaz de atravesar la placenta humana mientras que el calcitriol no la atraviesa. Asimismo, los niveles de calcidiol en sangre de cordón umbilical son similares a los niveles maternos (>70%) mientras que los de calcitriol son muy inferiores (17).

Otra molécula íntimamente asociada al metabolismo de la vitamina D es la hormona paratiroidea. Dicha hormona participa activamente en la homeostasis del calcio y su concentración es inversamente proporcional a la concentración de calcidiol hasta llegar a un punto de inflexión a partir del cual se mantiene. Dicho punto de inflexión ha sido propuesto por diversos autores como el nivel óptimo de vitamina D. No obstante, el punto de inflexión en el cual la concentración de PTH y vitamina D dejan de tener una relación lineal inversa varía notablemente según el tipo de estudio (19). En relación al embarazo, la concentración de

hormona paratiroidea se ve suprimida durante el primer trimestre gestacional para aumentar hasta niveles normales conforme progresa la gestación.

### Cambios metabólicos del embarazo fisiológico

↓↓	Glucemia en ayunas	--
↑↑	Glucemia postprandial	++
↑↑	Resistencia a la insulina	++
↑↑	Concentración de lípidos	++
↑↑	Síntesis proteica	++
↑↑	Metabolismo tiroideo	++
↑↑	Demanda de micronutrientes (Vitaminas A, B9, C y D, yodo, hierro...)	++

Otros cambios metabólicos propios de la gestación incluyen hipertrofia de la glándula pituitaria, cambios en el metabolismo del cortisol; cambios cutáneos tales como hiperpigmentación, melasma (pigmentación facial), etc. Naturalmente, estos cambios también han de darse a nivel del útero y cérvix con objeto de asegurar el correcto desarrollo fetal y van acompañados a su vez de alteraciones a nivel emocional englobando finalmente la fisiología normal del embarazo humano. Cuando dichos cambios son exacerbados se producen alteraciones del embarazo que pueden desembocar en resultados adversos materno-fetales y perinatales.

Entre los resultados adversos maternos, debido a su elevada prevalencia y comorbilidades asociadas, son destacables los desórdenes hipertensivos y la hiperglucemia gestacional.

### I.2. Resultados adversos maternos

#### *I.2.1. Desórdenes hipertensivos*

Los desórdenes hipertensivos del embarazo se consideran una las principales causas de morbimortalidad materna en países desarrollados y subdesarrollados. Un cuarto de las muertes maternas se asocia a estas alteraciones del embarazo en Sudamérica (20). Un estudio retrospectivo evaluando más de dos millones de partos en Utah, E.E.U.U, entre 1932 y 2021, concluyó que la mortalidad general en las mujeres que padecen desórdenes hipertensivos gestacionales se incrementa 1,65 veces (21). La hipertensión gestacional, definida por cifras de presión sistólica  $\geq 140$  mmHg y diastólica  $\geq 90$  mmHg, puede desembocar en importantes resultados adversos perinatales tales como crecimiento intrauterino retardado y parto pretérmino. Cifras superiores a 170 mmHg / 110 mmHg de presión sanguínea sistólica / diastólica conllevan un riesgo notablemente incrementado de accidente cerebrovascular poniendo en riesgo la vida de la madre y del feto (22), acabando el 10% de los casos de preeclampsia en muerte fetal o neonatal (23).

El embarazo se caracteriza por presentar fluctuaciones de presión arterial sistólica y diastólica de más de 50 mmHg a lo largo del día. En particular, durante el primer trimestre de gestación, la mujer sufre una disminución marcada de la resistencia vascular sistémica que implica una notable caída de presión arterial (22). Estos valores de presión arterial alcanzan un mínimo durante la mitad de la gestación y luego ascienden de forma continua hasta el momento del parto (24).

Existen varias categorías de desórdenes hipertensivos propios de la gestación (25):

- Hipertensión gestacional: se define como episodios hipertensivos *de novo* que aparecen a partir de la semana 20 de gestación, durante el parto o tras las primeras 48 horas del mismo sin la presencia de proteinuria significativa (0.3 g/L).
- Preeclampsia: desarrollo de hipertensión gestacional y proteinuria significativa a partir de la semana 20 de gestación, durante el parto o tras las primeras 48 horas de este.
- Eclampsia: episodio hipertensivo convulsivo producido antes del parto, durante este o inmediatamente tras este.

A esta clasificación hay que sumarle otras categorías de desórdenes hipertensivos que conllevan la complicación o agravamiento de la hipertensión crónica previa al embarazo (hipertensión, preeclampsia o eclampsia superpuesta). Finalmente, existe una complicación poco frecuente de la preeclampsia denominada síndrome de HELLP (*H – Hemolysis, EL – Elevated liver enzymes, LP – Low platelet count*) que implica una seria amenaza para la vida de madre y que cursa con vasoespasmos con disfunción endotelial que terminan en coagulación diseminada sistémica (26).

Entre los desórdenes hipertensivos del embarazo cobra especial relevancia por su gravedad y prevalencia la preeclampsia. En Europa la prevalencia de preeclampsia es de en torno al 5,3% del total de partos (27). Su etiología no se encuentra completamente dilucidada y no existe un tratamiento realmente efectivo. No obstante, la mayoría de los autores coinciden en que se trata de una enfermedad inflamatoria sistémica consecuencia de un desequilibrio de factores pro y antiangiogénicos que cursa con dos fases: una primera fase caracterizada por disfunción placentaria y una segunda fase en la que se manifiestan los efectos a nivel sistémico. Los efectos sistémicos más destacables incluyen edema pulmonar, trombocitopenia, cardiomiopatía y

disfunción renal (28). Entre los factores de riesgo implicados en la preeclampsia se encuentran (22):

- Parto primíparo.
- Historial de preeclampsia previa.
- Embarazo múltiple.
- Patología fetal o placentaria en el anterior embarazo.
- Obesidad.
- Enfermedad renal.
- Diabetes mellitus.
- Hipertensión crónica (preeclampsia superpuesta).
- Enfermedad de los tejidos conectivos.

El diagnóstico de preeclampsia varía en función de los criterios elegidos por diversas asociaciones e instituciones. Tradicionalmente dicho diagnóstico se ha sustentado en la presencia de hipertensión gestacional *de novo* a partir de la semana 20 de gestación en combinación con proteinuria significativa. No obstante, entre 2013 y 2014, dichos criterios fueron modificados y en la actualidad los dos más empleados son los de la Sociedad Internacional para el Estudio de la Hipertensión en el Embarazo (ISSHP) y los del Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG), los cuales quedan recogidos en la tabla 1.

**Tabla 1.** Criterios para el diagnóstico de preeclampsia

Asociación o Institución	Criterios
Sociedad Internacional para el Estudio de la Hipertensión en el Embarazo (ISSHP)	<p>Episodio hipertensivo <i>de novo</i> (presión sanguínea sistólica <math>\geq 140</math> mmHg y diastólica <math>\geq 90</math> mmHg) producido después de la semana 20 de gestación y acompañado de una o más de las siguientes alteraciones:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Proteinuria.</li><li>➤ Disfunción orgánica:<ul style="list-style-type: none"><li>• Insuficiencia renal (creatinina <math>&gt;90</math> <math>\mu\text{mol/L}</math>; 1 mg/dL).</li><li>• Alteración hepática (elevación de transaminasas con o sin cuadrante derecho superior o dolor abdominal epigástrico).</li><li>• Complicaciones neurológicas.</li><li>• Complicaciones hematológicas.</li></ul></li><li>➤ Disfunción uteroplacentaria.</li></ul>
Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG)	<p>Episodio hipertensivo <i>de novo</i> (presión sanguínea sistólica <math>\geq 140</math> mmHg y diastólica <math>\geq 90</math> mmHg) producido después de la semana 20 de gestación en dos ocasiones separadas por al menos 4 horas y acompañadas de una o más de las siguientes alteraciones:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Proteinuria.</li><li>➤ Disfunción orgánica:<ul style="list-style-type: none"><li>• Insuficiencia renal (creatinina <math>\geq 100</math> <math>\mu\text{mol/L}</math>; 1.1 mg/dL).</li><li>• Alteración hepática (Elevación de transaminasas: ALT o ASAT <math>\geq 70</math> U/L).</li><li>• Complicaciones neurológicas o visuales.</li><li>• Trombocitopenia (recuento plaquetario <math>&lt; 100 \times 10^9/\text{L}</math>).</li><li>• Edema pulmonar.</li></ul></li></ul>

---

ALT: Alanina-Aminotransferasa; AST: Aspartato-Aminotransferasa. Adaptado de (29)

Aunque la proteinuria es un signo característico de la preeclampsia, cada vez más instituciones, como son la ISSHP y la Asociación Australiana del Estudio de la Hipertensión en el Embarazo (ASSHP), la descartan como signo de presencia obligatoria en esta patología (22,30). Esto se debe a que un 10% de las mujeres que presentan síntomas característicos de preeclampsia y un 20% de las que desembocan en eclampsia no desarrollan fallo renal ni la consecuente proteinuria (23).

La etiología de la preeclampsia no está completamente dilucidada. La mola hidatiforme también puede cursar con preeclampsia resolviéndose tras alumbrarse la placenta (22). Este hecho evidencia que la placenta juega un importante papel en la etiopatogénesis de la preeclampsia. Aunque la etiología de la desregulación placentaria sigue sin conocerse por completo, algunos factores angiogénicos y antiangiogénicos tales como la tirosina quinasa-1 soluble similar a *fms* (sFlt-1/sVEGFR-1), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEFG) y el factor de crecimiento placentario (PIGF) han demostrado estar claramente implicados (23):

- sFlt-1: el correcto desarrollo fetal requiere de un aporte nutricional y de oxígeno que se consigue a través de las arterias espirales maternas. Para ello es necesario un proceso de angiogénesis vascular que se encuentra promovido por factores tales como VEGF, angiopietinas y efrinas. Cuando la angiogénesis es defectuosa se liberan factores que promueven la patogénesis de la preeclampsia. sFlt1 es la versión soluble de tirosina quinasa-1 similar a *fms* (Flt1) y es capaz de unirse a VEGF y PIGF. Al hacerlo, disminuye la concentración de VEGF y PIGF libre interfiriendo en el proceso de angiogénesis (31). La administración a ratas de adenovirus expresando sFlt-1 induce los síntomas característicos de la preeclampsia (32). Una concentración fisiológica de sFlt-1 permite la estabilización de la célula endotelial, inducción de óxido nítrico, liberación de

prostaciclina y, en definitiva, el correcto desarrollo placentario. Por el contrario, una concentración excesiva de sFlt-1 puede conllevar una disfunción placentaria que desembocase en los síntomas propios de la preeclampsia. En línea con esta teoría, los niveles plasmáticos de sFlt-1 son bajos durante el primer trimestre y aumentan de cara a la segunda mitad del embarazo (23).

- VEGF: el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es una molécula responsable de estabilizar las células endoteliales en vasos sanguíneos principalmente de hígado, riñón y cerebro (23). Esta molécula se ha relacionado con procesos de inhibición de apoptosis y expresión de proteínas antiapoptóticas como *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2) en células del endotelio. Esto ha hecho que VEGF sea una molécula estudiada en el campo del cáncer (33). Su administración *in vivo* induce hipotensión y taquicardia y la inactivación de un solo alelo de VEGF conlleva el desarrollo de anomalías y defectos vasculares embrionarios letales. También se ha postulado que VEGF juega un importante papel en el crecimiento longitudinal óseo en el niño y en la angiogénesis o vascularización ovárica (33).
- PlGF: el factor de crecimiento placentario (PlGF) es una molécula relacionada con el metabolismo de VEGF que suele presentar concentraciones especialmente bajas durante la preeclampsia (34). Al igual que VEGF, el mecanismo de acción de PlGF se debe a su interacción con receptores transmembrana promoviendo la proliferación vascular (35). La ratio sFlt-1 / PlGF es el indicador clínico más empleado para el diagnóstico temprano de la preeclampsia (36).
- Endoglin: la endoglin soluble (sEng) es un correceptor del factor de crecimiento transformante  $\beta$ -1 y  $\beta$ -3 que se expresa en células endoteliales y sincitiotrofoblastos.

Alteraciones de este receptor se asocian con malformaciones de capilares, venas y arteriolas. Se ha observado, que al igual que sFlt-1, Eng también se encuentra incrementada durante la preeclampsia pudiendo contribuir a la patogénesis de la hipertensión y disfunción renal (37). En este sentido, la coadministración de adenovirus expresando sEng y sFlt-1 induce una preeclampsia particularmente grave en roedores, incluyendo crecimiento intrauterino retardado y síndrome de HELLP (32).

Aunque es cada vez más evidente el papel que la disfunción angiogénica juega en la etiología de la preeclampsia, otras causas pueden estar implicadas. Algunos estudios han sugerido que el anticuerpo del receptor de angiotensina II (AT1-AA) podría estar relacionado con la etiopatogénesis de la preeclampsia. Esto se debe a que es capaz de inhibir la invasión trofoblástica *in vitro* y su administración a ratones induce la mayoría de signos propios de la enfermedad. Además, este anticuerpo se encuentra presente en la gran mayoría de casos de preeclampsia en altas concentraciones y ha demostrado ser capaz de inducir la producción de sFlt-1 y sENG *in vivo* e *in vitro* (32). Otra molécula inducida por AT1-AA y sFlt-1 es la endotelina 1 que se cree puede ser la mediadora de la hipertensión producida por estas moléculas (32).

Estudios en animales han observado que el flujo sanguíneo uterino comprometido puede desembocar en hipertensión y convulsiones, lo cual implica que la hipoxia o isquemia placentaria puede inducir a síntomas característicos de la preeclampsia. El factor más asociado a la hipoxia placentaria es el factor inducido por la hipoxia 1 (HIF-1) (23). HIF-1 es un regulador de la tensión de oxígeno y juega un papel especialmente relevante en el desarrollo placentario (32). Esta molécula activa la transcripción de genes responsables de la producción de moléculas tales como el factor de crecimiento transformante  $\beta 3$  (TGF- $\beta 3$ ), capaz de modular la diferenciación

trofoblástica y que se encuentran incrementadas en la preeclampsia (38). Además, se ha observado que HIF-1 también es capaz de estimular la producción de endotelina 1 y sFlt-1 *in vitro* (32).

Finalmente, otra hipótesis respectiva a la etiología de la preeclampsia se basa en su potencial componente inmunológico. Diversos grupos de estudio han sugerido que una incorrecta reacción de tolerancia materna hacia el antígeno paterno puede jugar un papel en el origen de esta alteración (39,40). No obstante, el sistema inmune en la interfaz materno-fetal durante el comienzo de la gestación es complejo y números factores han de considerarse.

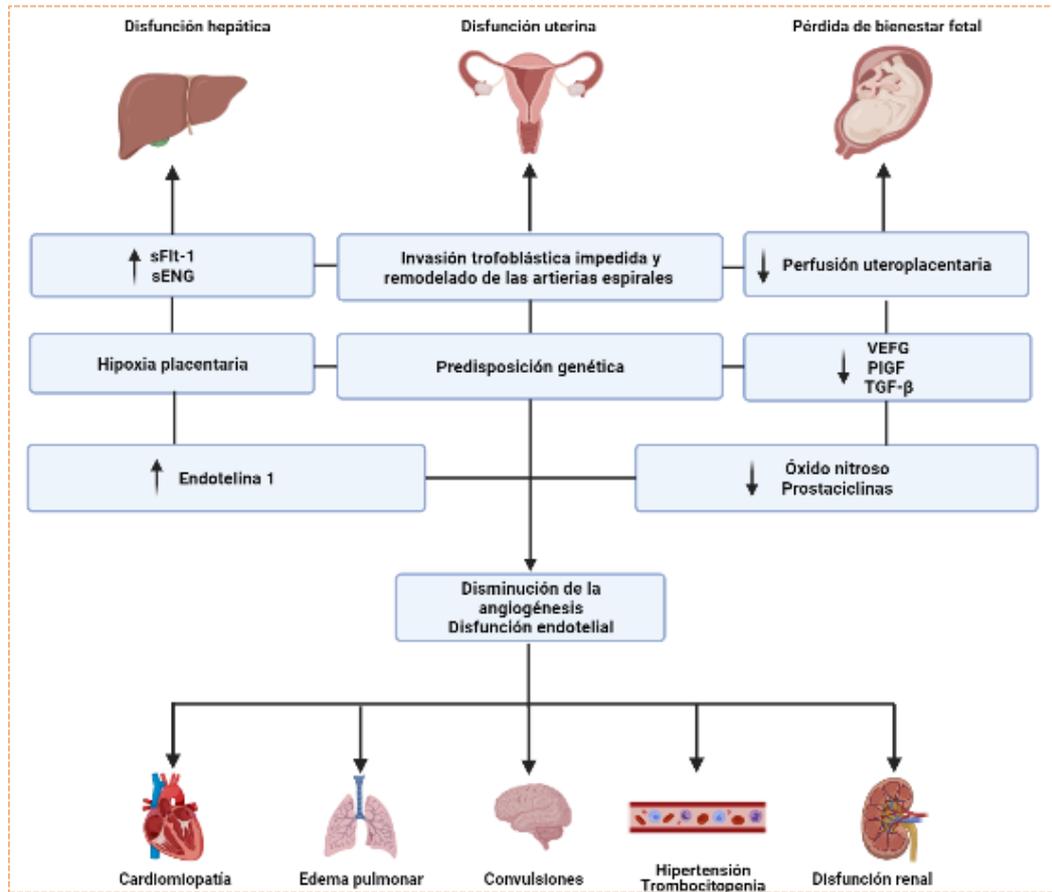
Durante la gestación temprana, se generan productos apoptóticos de la degradación del sincitiotrofoblasto y microvesículas de la membrana de este (STBM). Cuando estos componentes entran en la circulación sistémica son fagocitados por los macrófagos periféricos e inducen una respuesta de carácter proinflamatorio (41). Este hecho puede explicar la excesiva activación de neutrófilos y monocitos en pacientes con preeclampsia observada por numerosos grupos (39). Los embarazos que cursan con preeclampsia tienden a presentar concentraciones incrementadas de estos componentes procedentes del sincitiotrofoblasto (42). De hecho, algunos autores afirman que la propia composición de dichas partículas también difiere entre embarazos sanos y con preeclampsia (43). Otros componentes del sistema inmune innato como son las células *Natural Killer* (NK) y los receptores *toll-like* (TLRs) pueden inducir un desbalance proinflamatorio que dificulte el adecuado desarrollo placentario (39).

En relación a la inmunidad adaptativa, la preeclampsia se ha relacionado con una desproporción en la población de linfocitos T, viéndose disminuidas las poblaciones de linfocitos Th2 y Treg en favor de los linfocitos Th1 y Th17 (44) lo cual conlleva la promoción de un ambiente proinflamatorio. El predominio Th17 está asociado a un mayor rechazo del antígeno

paterno en la interfaz materno-fetal (45). Dichos linfocitos son capaces de expresar el receptor de vitamina D (VDR) y se ha observado que la activación de dicho receptor por el metabolito activo de la vitamina D, el calcitriol, es capaz de restaurar el balance de Treg y Th17 así como disminuir la producción de factores proinflamatorios tales como el TFG- $\beta$ 1, IL-10, IL-12, IL-18 e IL-6 pudiendo jugar un papel en la etiología de la preeclampsia (28,45).

En **resumen**, la preeclampsia puede presentar componentes angiogénicos, isquémicos e inmunológicos. En la figura 1 se recogen las principales vías que podrían estar involucradas en la etiología de dicha patología.

**Figura 1.** Etiología de la preeclampsia



Adaptado de (28)

### 1.2.2. Hiperglucemia gestacional

La diabetes mellitus gestacional (DMG) constituye la alteración más común del embarazo. Tradicionalmente, la hiperglucemia durante el embarazo se ha clasificado como diabetes mellitus gestacional o diabetes mellitus durante la gestación en base al momento de la aparición de esta. Sin embargo, en la actualidad existe una creciente tendencia a incluir otros subtipos más leves de hiperglucemia gestacional puesto que también se han visto asociados con el embarazo de riesgo (46).

Entre los múltiples cambios ya comentados que acontecen durante el embarazo fisiológico destaca por su crucial importancia para la madre y el feto la adaptación del metabolismo de la glucosa con objeto de favorecer el desarrollo fetal. Durante el embarazo temprano, los niveles de glucosa basales disminuyen con motivo de la hemodilución propia del embarazo. Dichos niveles permanecen constantes durante la mitad de la gestación para volver a disminuir de cara al tercer trimestre por el consumo fetal de glucosa (47). Sin embargo, aunque los niveles de glucosa basales disminuyen durante la gestación, los niveles postprandiales se incrementan debido al metabolismo de la insulina alterado y gluconeogénesis hepática (47). Transcurridas 6 – 12 semanas del parto, el metabolismo de la glucosa se restablece a condiciones normales. En algunos casos, la secreción de insulina materna por parte de las células  $\beta$ -pancreáticas puede no ser suficiente para compensar la resistencia a la insulina propia de la gestación. En estos casos se produce un estado de intolerancia a la glucosa que contribuye al desarrollo de DMG. Además de dicha resistencia a la insulina, la DMG también cursa con una disminución de los mecanismos antioxidantes y una reducción de los niveles de oxígeno molecular tanto de la madre como del feto (48).

Debido a la gran heterogeneidad de los puntos de corte empleados para definir la diabetes mellitus gestacional (DMG), la Asociación Americana de Diabetes definió la diabetes mellitus gestacional como “cualquier grado de intolerancia a la glucosa que se diagnostica por primera vez durante el embarazo” (49), siendo ésta la definición más aceptada a día de hoy. Se trata de una patología que muestra una incidencia creciente y que conlleva un riesgo incrementado para la madre y el hijo habiéndose relacionado con una mayor prevalencia de cesárea, macrosomía, hiperglucemia neonatal y distocia (50).

Se estima que hubo 10,7 millones de casos de hiperglucemia gestacional Europa durante 2013 lo cual implica una tasa del 15,2% (51). Dicha cifra puede variar según criterios diagnósticos e incluir casos de diabetes mellitus previa al embarazo no diagnosticados. No obstante, el porcentaje es muy elevado en comparación con otras patologías y alteraciones del embarazo tales como la preeclampsia. El incremento de la prevalencia de DMG se cree es debido al auge de los hábitos de vida poco saludables como son sedentarismo y la inadecuada alimentación, cada vez más prevalentes en los países desarrollados (50).

No existe consenso sobre el método de elección en el cribado inicial de diabetes mellitus gestacional. Las mediciones más empleadas consisten en: glucosa en ayunas, prueba de hemoglobina glicosilada, muestra aleatoria de glucosa plasmática, sobrecarga oral de glucosa y prueba de curva de la glucosa. Los criterios para el diagnóstico de DMG son muy variables y dependen de la población de estudio y la institución de referencia. La asociación Americana de Diabetes recomienda dos pruebas para el diagnóstico de DMG (52,53):

- Cribado mediante Test de O'Sullivan: se realiza entre las semanas 24 – 28 de gestación y consiste en la determinación del nivel de glucosa plasmático tras la ingesta de una dosis de glucosa de 50 gramos independientemente del momento del día o de la ingesta previa de alimentos. Si se observa un valor de glucosa  $\geq 140$  mg/dL se considerará un resultado positivo y se procederá a realizar la prueba de tolerancia oral a la glucosa.
- Diagnóstico mediante la prueba de tolerancia oral a la glucosa: consiste en la administración oral de 100 gramos de glucosa para su posterior determinación en sangre venosa a las 1, 2 y 3 horas en reposo. Si dos o más mediciones son positivas, se diagnosticará finalmente la DMG. Valores positivos se consideran: 105 mg/dL en ayunas, 190 mg/dL a la hora, 165 mg/dL a las 2 horas y 145 mg/dL a las 3 horas.

Respecto a la etiología de la DMG, esta comparte numerosos aspectos propios de la diabetes mellitus tipo II incluyendo características ambientales, genéticas y epigenéticas. Entre los factores de riesgo para la DMG podemos destacar (50):

- Elevado IMC materno.
- Elevada edad materna.
- Sedentarismo.
- Historial de DMG previa.
- Historial obstétrico de bajo peso al nacer.
- Embarazo múltiple.
- Niveles elevados de ácidos biliares durante el primer trimestre de gestación.
- Factores genéticos.

La población de riesgo para el cribado temprano de DMG también varía criterio local o según la población específica. En la tabla 2 se recogen los criterios empleados por algunas de las principales asociaciones nacionales e internacionales.

**Tabla 2.** Población susceptible a cribado de DMG

<b>Institución</b>	<b>Criterios</b>
Asociación Internacional de Grupos de Estudio de la Diabetes y Embarazo (IADPSG)	Cribado aplicable a todas las mujeres o mujeres de riesgo en base a las características de la población local
Organización Mundial de la Salud (OMS)	Cribado aplicable en base a la prevalencia de intolerancia a la glucosa determinada por países o servicios de salud individuales según sus recursos y prioridades.
Asociación Americana de Diabetes (ADA)	Cribado aplicable a mujeres con uno o más factores de riesgo: familiar cercano con diabetes mellitus, raza de alto riesgo, historial de enfermedad cardiovascular, hipertensión o tratamiento antihipertensivo, bajos niveles de HDL y altos niveles de triglicéridos, síndrome de ovario poliquístico, inactividad física, otras patologías asociadas a la resistencia a la insulina.
Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG)	Cribado aplicable a mujeres con sobrepeso u obesidad en combinación con uno o más factores de riesgo: inactividad física, familiar cercano con DMG, raza de alto riesgo, historial de macrosomía, DMG previa, hipertensión o tratamiento antihipertensivo, niveles de HDL y altos niveles de triglicéridos, síndrome de ovario poliquístico, hemoglobina glicosilada inferior a 5,7% o tolerancia a la glucosa alterada mediante otra prueba, otras condiciones clínicas relacionadas a la resistencia a la insulina, historial de enfermedad cardiovascular.
Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica del Reino Unido (NICE)	Cribado aplicable a mujeres con uno o más factores de riesgo: IMC superior a 30kg/m <sup>2</sup> , historial de macrosomía (>4,5 kg), DMG previa, familiar cercano con diabetes mellitus, antecedentes familiares de hiperglucemia.

*DMG: Diabetes Mellitus Gestacional; HDL: Lipoproteína de Alta Densidad; IMC: Índice de Masa Corporal. Adaptado de (52)*

### I.3. Resultados adversos perinatales

El embarazo es el tiempo comprendido entre la concepción y el nacimiento y su duración en humanos es de entre 38 – 42 semanas. Un recién nacido con normopeso pesa entre 2.500 gramos y 4.000 gramos en el momento del parto. Cualquier desviación de estos parámetros normales se considera un resultado adverso del parto o perinatal y en función de su severidad puede conllevar comorbilidades asociadas y/o consecuencias en el desarrollo infantil.

#### *1.3.1. Parto pretérmino y postérmino*

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el embarazo a término es aquel cuyo parto se produce entre las semanas 37 y 42 de gestación (completas). Esto son 259 – 293 días de gestación (54). Embarazos con menos de 37 semanas completas de gestación son embarazos pretérmino o prematuros mientras que partos producidos tras las 42 semanas completas de gestación implican embarazos postérmino (54).

Tanto el parto pretérmino como el postérmino presentan una incidencia similar. Aproximadamente un 10% de los embarazos finaliza en parto postérmino y ha de someterse a inducción. El parto postérmino se asocia con una mayor morbimortalidad perinatal. En caso que el embarazo sea considerado de alto riesgo es habitual la inducción del parto en la semana 38 de gestación para evitar dichos riesgos (54).

En contraposición con el parto postérmino, las complicaciones derivadas del parto prematuro fueron la principal causa mundial de mortalidad infantil en niños menores de 5 años en 2016 conllevando aproximadamente el 35% de todas las muertes producidas en recién nacidos (55). Además de tener un gran impacto en la mortalidad, el parto prematuro conlleva morbilidades a corto y largo plazo tales como síndrome de distrés respiratorio, displasia

broncopulmonar, enterocolitis necrotizante, sepsis, leucomalacia periventricular, convulsiones, hemorragia intraventricular, parálisis cerebral, infecciones, dificultad para alimentarse, isquemia hipóxica, encefalopatía y desórdenes visuales y auditivos (55).

En Europa, la prevalencia de parto prematuro se estima es del 8,7% del total de partos (55). Según datos del Instituto Nacional de Estadística (INE), en España hubo 22.858 casos de parto prematuro en 2019 de un total de 360.617 nacimientos. Esto implica una prevalencia del 6,34%.

No existen datos nacionales del coste económico que implican los partos prematuros en España. Otros países de Europa como Austria han estimado unos costes de 26.200 euros por parto pretérmino mientras que Alemania calcula que cada parto prematuro cuesta 10.550 euros más que un parto a término. Esto se debe en parte a que, además del ingreso hospitalario al nacer, más del 25% de los casos de prematuridad requieren de un reingreso hospitalario (56).

Los factores obstétricos responsables del parto prematuro son (57):

- Inducción médica del parto (30-35%).
- Parto prematuro espontáneo con membranas intactas (40-45%)
- Parto prematuro provocado por rotura de membranas (25-30%).

La tasa de parto prematuro ha aumentado alarmantemente durante las últimas décadas y las causas del mismo no están completamente dilucidadas. Entre los factores que contribuyen al mismo encontramos un aumento en la edad materna durante el periodo gestacional, uso de técnicas de reproducción asistida, incremento en el número de embarazos múltiples y mayor tasa de partos inducidos y cesáreas (58).

El parto prematuro se considera un resultado clínico con etiología múltiple y los mecanismos biológicos subyacentes son numerosos y presentan diferencias interindividuales. Además, la controvertida clasificación del parto prematuro en prematuro espontáneo y prematuro inducido dificulta la identificación de dichos factores (58). Otras clasificaciones han surgido basadas en características fenotípicas (59). Este sistema se basaría en el origen de las alteraciones que van a desembocar en dicho parto prematuro pudiendo ser estas maternas (infección intrauterina, corioamnionitis...), fetales (crecimiento intrauterino retardado, polihidramnios...), placentarias (placenta previa, placenta abrupta...), de iniciación del parto (ruptura de membranas, contracciones...) y del desarrollo natural del parto (parto prematuro espontáneo) (59). Tras aplicar este sistema de clasificación a grandes cohortes de estudio se puede observar que entre las características más comunes presentes en los casos de parto prematuro podemos encontrar patologías hipertensivas del embarazo (preeclampsia y eclampsia), embarazos múltiples, infección extrauterina, corioamnionitis, sangrado uterino, crecimiento fetal retardado, sepsis y anomalías congénitas, muerte fetal, estrés fetal y patologías maternas (60).

El parto prematuro también puede clasificarse en prematuro (<37 semanas de gestación completas) y muy prematuro (<32 semanas de gestación completas). Los bebés nacidos antes de las 32 semanas de gestación presentan un riesgo superior de padecer secuelas y desórdenes neurológicos, complicaciones médicas y muerte (61). Entre los factores obstétricos más frecuentes de parto muy prematuro destacan la ruptura prematura de membranas, patologías maternas y el parto espontáneo (61). Otras definiciones de parto prematuro más antiguas incluyen categorías de peso al nacer, pero en la actualidad se opta por diferenciar peso y prematuridad debido a la falta de estandarización de la medida del peso al nacer y la alta

precisión de los ultrasonidos (o en su defecto, del último periodo menstrual) para evaluar la edad gestacional (62).

En **resumen**, el parto prematuro es una alteración grave del embarazo con etiología múltiple que puede comprometer el posterior desarrollo del recién nacido.

### *1.3.2. Bajo peso al nacer y macrosomía.*

La Organización Mundial de la Salud, en la última edición de la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (ICD-10), define el bajo peso al nacer como peso al nacer comprendido entre los 1.000 y los 2.499 gramos mientras que el extremo bajo peso al nacer se define como peso al nacer igual o inferior a 999 gramos (63). En términos generales, se define al bebé con bajo peso al nacer como aquel recién nacido con peso inferior a 2.500 gramos en el momento del parto.

Los bebés nacidos con bajo peso experimentan severos impedimentos que conllevan una mayor estancia hospitalaria y costes derivados (64). Los bebés con bajo peso tienen una mayor morbilidad y mortalidad perinatal siendo la segunda causa de muerte infantil durante el periodo perinatal tras el parto prematuro. La tasa de mortalidad en los bebés a término con peso al nacer inferior a 1.500 gramos se incrementa hasta 70-100 veces la de bebés a término con normo-peso (65). Además, el peso al nacer inferior a 2.500 gramos se ha relacionado con una mayor prevalencia de secuelas neurológicas, menor coeficiente intelectual y riesgo incrementado de padecer patologías hipertensivas en la etapa adulta (65).

Otra forma de clasificar el bajo peso al nacer es el bebé “pequeño para su edad gestacional” (PEG) el cual la OMS define como peso al nacer inferior al percentil 10 para su edad gestacional (66). Esta clasificación depende la población de referencia del percentil 10. Al

clasificar a los bebés como PEG se anula el parto prematuro como factor de riesgo del bajo peso al nacer pudiendo realizar un análisis más riguroso de los factores relacionados con el mismo. Es este el motivo por el que el PEG es la variable clínica más frecuentemente empleada en la actualidad para referirse al peso al nacer.

Finalmente, otro factor obstétrico caracterizado por el peso es el crecimiento intrauterino retardado (CIR) el cual refiere a cualquier proceso que pueda limitar el crecimiento del feto en el útero materno y que suele derivar en bajo peso al nacer. En muchos contextos, CIR y PEG son conceptos empleados de manera intercambiable pero no necesariamente deben significar lo mismo. Algunos bebés nacen con normopeso pese a presentar signos de crecimiento retardado fetal mientras que lo opuesto también puede suceder, bebés perfectamente sanos que nacen con un peso inferior al percentil 10 pese a no proceder aparentemente de un medio uterino que impida su crecimiento (65,67).

Numerosos factores relacionados con el bajo peso al nacer han sido identificados. Se pueden clasificar según su procedencia en factores fetales, maternos y placentarios. Los principales factores responsables del bajo peso al nacer son:

- Factores genéticos: 4 de cada 10 casos de bajo peso al nacer tienen un componente hereditario. Esto se constata al observar que las mujeres con bajo peso tienden a tener bebés más pequeños. Ciertas anomalías genéticas como el síndrome de Turner y el síndrome de Down implican crecimiento fetal retardado (65).

Otros genes responsables del metabolismo de la glucosa se han visto implicados en el crecimiento fetal restringido. Entre estos genes destaca la mutación en el gen de la glucoquinasa (GCK) y el *cluster* genético constituido por el gen de la ciclina L-1 (CCNL1) y de la proteína rica en leucina, glutamato y lisina 1 (LEKR1).

- Edad materna extrema: en el caso de las edades tempranas, esta asociación se ve a su vez influenciada por factores culturales propios de la edad tales como el estatus socio-económico y educativo, así como una mayor incidencia de tabaquismo y consumo de otras sustancias nocivas. Por el contrario, edades más avanzadas se relacionan con un incremento de patologías maternas tales como hipertensión y diabetes que podrían ser los responsables de la asociación. (65).
- Raza materna: las mujeres de raza negra presentan un mayor riesgo de tener bebés con bajo peso. Las diferencias en factores sociodemográficos se creen pueden ser los condicionantes de esta asociación. Esto se constata al observar que las personas de origen afro-americano y latino presentan la prevalencia de bajo peso al nacer más elevada de Estados Unidos (68).
- Determinantes sociales: Tanto el estado civil como el nivel económico y educativo pueden influenciar el bajo peso al nacer, así como a otros resultados adversos como el parto prematuro y la propia edad materna en el momento del embarazo (65). Dentro de los determinantes sociales podemos incluir factores ambientales y de comportamiento que pueden generar estrés tales como tipo de trabajo, exposición a tóxicos, etc.
- Antecedentes médicos maternos: Algunos autores han observado que la hipertensión arterial materna se asocia con el crecimiento intrauterino retardado (69,70). No obstante, otros autores no han podido reproducir dicha asociación (71). Un posible mecanismo de acción implicado sería el aumento de la resistencia de la arteria uterina y un incremento de tromboxano y prostaciclina que desemboca finalmente en un flujo sanguíneo uteroplacentario disminuido (65). La relación entre patología hipertensiva durante el

embarazo (en particular la preeclampsia) con el crecimiento intrauterino retardado está bastante aceptada en la clínica.

Otras enfermedades sistémicas maternas que podrían disminuir el aporte de sangre y oxígeno fetal son la patología renal crónica, la hiperinsulinemia, enfermedad respiratoria crónica, anomalías genitourinas y desórdenes autoinmunes tales como el lupus (65).

- Factores obstétricos: las alteraciones a nivel placentario como placenta previa o abrupta y las anomalías en la inserción del cordón umbilical también están asociadas a un riesgo aumentado de crecimiento fetal retardado. Otros factores tales como la anemia materna, infección intrauterina o el embarazo múltiple podrían estar implicados (65).

Al igual que el bajo peso al nacer, la prevalencia de macrosomía, definida como bebé nacido con un peso superior a 4.000 gramos, se encuentra en aumento. La macrosomía también se relaciona con un incremento de complicaciones materno-fetales incluyendo una mayor tasa de inducción del parto y parto operatorio (72). En este sentido, son muy habituales los procedimientos de laceración y episiotomía vaginal en los partos de bebés macrosómicos. En relación al recién nacido también existen complicaciones derivadas de la macrostomia fetal incluyendo distocia. Se estima que los bebés con peso al nacer superior a 4.500 gramos presentan seis veces más probabilidad de padecer distocia que un bebé normopeso (73). Otras complicaciones fetales o neonatales asociadas a la macrosomía del recién nacido incluyen ictericia neonatal, anomalías congénitas y síndrome metabólico durante la infancia y adolescencia (73).

En la misma línea que sucede con los recién nacidos PEG, existe otra forma de clasificar el alto peso al nacer siendo considerados bebés grandes para su edad gestacional (GEG) aquellos con un peso al nacer superior al percentil 90 para su edad gestacional.

El principal factor asociado a la macrosomía fetal es una diabetes mellitus gestacional. Se estima que entre un 15 – 45% de los bebés nacidos de madres diabéticas desarrollan macrosomía lo cual conlleva un incremento del 300% en relación a mujeres sanas. Asimismo, la hiperinsulinemia propia de esta alteración del embarazo repercute en un riesgo incrementado de hipoglucemia neonatal implicando una comorbilidad adicional a las ya comentadas (73). Otros factores asociados a la macrosomía fetal incluyen dieta materna, actividad física materna y factores genéticos.

### *1.3.3. Aborto espontáneo, aborto retenido y muerte fetal*

La OMS definió aborto en 1970 como la terminación del embarazo antes de que el feto sea viable (74). Tradicionalmente se ha considerado un feto viable a aquel con 28 semanas o más de gestación. Esta viabilidad no solo ha progresado con los avances médicos si no que presenta una elevada variabilidad en función del país de referencia. Unos años más tarde, la definición de aborto fue modificada a “expulsión o extracción de un feto o embrión de su madre con un peso igual o inferior a 500 gramos o menos de 22 semanas completas de gestación, así como la expulsión o extracción de cualquier otro producto de la gestación de cualquier peso, independientemente de su estado gestacional, evidencia de vida o naturaleza espontánea o inducida del aborto”. Si por el contrario el aborto se produce en un feto que pesa más de 500 gramos se considera aborto retenido (*stillbirth*) (54). Dado que la definición de aborto no alude a la ausencia o no de provocación del mismo es susceptible a variabilidad en distintos contextos, países y jurisdicción. A lo largo de este texto, siempre nos referiremos al aborto como interrupción involuntaria del embarazo.

El aborto espontáneo es la complicación más frecuente del embarazo. Suele ocurrir antes de la semana 12 de gestación. De hecho, un gran porcentaje de los abortos pasan desapercibidos

en la estadística debido a procesos defectuosos de implantación embrionaria siendo estos casos considerados “pérdida de embarazo subclínica” (75). Entre las causas más comunes de pérdida de embarazo podemos encontrar:

- Anomalía fetal: se estima que más de un tercio de los fetos abortados diagnosticados presentan anomalías genéticas tales como trisomías, monosomías, triploidías y tetraploidías (75).
- Defectos en la implantación: el fallo en la implantación se define como la imposibilidad de alcanzar un estado de implantación reconocible mediante ultrasonografía pélvica. Existen numerosas causas asociadas a este proceso como son la calidad del embrión, fase de desarrollo, edad materna, anomalía uterina, hidrosalpinx, factores inmunológicos y trombolíticos, etc. (75)
- Factores endocrinos: los defectos en la fase lútea son una causa conocida del aborto espontáneo. Este desorden se caracteriza por bajos niveles de progesterona y un menor espesor de la capa endometrial. La progesterona ayuda a generar cambios en el endometrio que promueven un ambiente propicio para el desarrollo embrionario. La progesterona incrementa la proliferación y diferenciación de las células estomáticas y regula la producción de citoquinas y factores de crecimiento en la interfaz materno-fetal siendo de gran relevancia para el desarrollo de feto (76,77).
- Enfermedad materna: diversas enfermedades maternas se asocian al aborto espontáneo siendo especialmente relevante la enfermedad de Wilson (caracterizada por defectos en el metabolismo del cobre) desórdenes tiroideos, infecciones y diabetes mellitus no controlada (75).

### I.4. Vitamina D y embarazo

Tal y como se ha comentado, las demandas de diversos micronutrientes maternos se encuentran incrementadas durante la gestación. Durante los últimos años, ha ganado especial atención en la comunidad científica el caso de la vitamina D.

La vitamina D es un micronutriente que juega un papel crucial en el metabolismo óseo y mineral siendo esta su principal función descrita en la literatura científica. No obstante, el receptor de la vitamina D (VDR) presenta carácter pleiotrópico encontrándose distribuido por la práctica totalidad del cuerpo humano. Es por dicha razón que en los últimos años se ha desarrollado un extenso cuerpo de literatura en torno a las funciones extraóseas en las que la vitamina D y su receptor pueden estar involucrados.

Otro hecho que ha promovido la investigación de la vitamina D es la elevada prevalencia de su deficiencia en la población a nivel mundial. En este sentido, la deficiencia de vitamina D es considerada por algunos autores como una pandemia (78). En Europa, se estima que la prevalencia de la deficiencia de vitamina D es de en torno al 40% de la población (79). El hecho de que la deficiencia e insuficiencia de vitamina D se encuentren tan extendidas a lo largo de la población ha llevado a numerosos autores a cuestionar los puntos de corte empleados para definir el estado óptimo de dicha vitamina.

El metabolito normalmente empleado para evaluar la concentración de vitamina D es el calcidiol. La mayoría de los autores consideran concentraciones de calcidiol inferiores a 20 ng/ml representativos de la deficiencia de este micronutriente mientras que concentraciones inferiores a 30 ng/mL representarían la insuficiencia. En cambio, el Instituto Americano de Medicina (IOM), en su más reciente guía de consenso, define como “concentraciones

inadecuadas” de vitamina D aquellas inferiores a 20 ng/mL mientras que la deficiencia vendría definida por concentraciones inferiores a 12 ng/mL (80). Es debido a estas discrepancias que la prevalencia de la insuficiencia y la deficiencia de vitamina D varía notablemente en base a los valores de referencia.

Tradicionalmente, la deficiencia e insuficiencia de vitamina D han sido definidas en base a su capacidad para sustentar la homeostasis ósea y prevenir patologías derivadas tales como raquitismo y osteomalacia (78). No obstante, si bien estas concentraciones pueden resultar óptimas de cara al metabolismo óseo y mineral, no contemplan otros efectos ajenos a dicho metabolismo. Además, los datos representativos de colectivos que podrían tener requerimientos específicos (niños, población embarazada...) son escasos (81).

La síntesis de la vitamina D se encuentra mediada por la acción de la radiación ultravioleta (UV). Por lo tanto, es de esperar que países con elevada exposición a la luz solar se beneficien de una menor prevalencia de deficiencia de vitamina D. No obstante, España, un país caracterizado por una elevada tasa de exposición a la luz solar, presenta una prevalencia de deficiencia de vitamina D muy elevada, superior incluso a la de países situados en latitudes superiores. De hecho, países de la zona mediterráneo como Italia o Grecia tienen una prevalencia estimada de entorno al 40% de deficiencia y 90% de insuficiencia de vitamina D (82). Este hecho ha sido denominado por algunos autores como la “paradoja del mediterráneo” (83).

Durante el embarazo hay una demanda incrementada de calcio la cual se sustenta principalmente mediante un incremento a nivel de absorción intestinal de hasta el 60% al final de la gestación (84). El calcitriol de origen placentario participaría en dicho incremento de la absorción de calcio siendo este un motivo por el cual la deficiencia de vitamina D durante la gestación puede ser especialmente perjudicial para el desarrollo fetal. Pese a ello, la

suplementación con vitamina D no se encuentra establecida de manera rutinaria en los servicios de salud. Esto se debe a que la evidencia proporcionada por los ensayos clínicos llevados a cabo hasta la fecha no es concluyente. Dichos ensayos clínicos no contemplan factores confusores necesarios, emplean diferentes puntos de cohorte y deben afrontar importantes aspectos éticos (29).

La gran prevalencia de la deficiencia de vitamina D entre las gestantes ha hecho que numerosos autores hayan estudiado el posible papel que la vitamina D juega en la etiología de distintas patologías y alteraciones del embarazo como son la preeclampsia, diabetes mellitus gestacional, parto prematuro y crecimiento intrauterino retardado. En relación a esto, a la vitamina D, mediante un mecanismo de acción genético, se le han atribuido propiedades antiinflamatorias, antioxidantes e inmunomoduladoras que podrían explicar su papel en la etiología de dichos resultados adversos materno-fetales y perinatales (85).

### I.5. Historia de las vitaminas

El concepto de “vitamina” tiene su origen en los primeros compases de la investigación acerca de los nutrientes en el ser humano. Durante el siglo XIX, surgió en Francia el interés por la alimentación humana con objeto de encontrar alimentos que pudieran paliar las necesidades nutricionales básicas de la población gravemente empobrecida. Con este propósito, François Magendie llevó a cabo experimentos en perros a los cuales alimentó únicamente a base de azúcar. Los perros desarrollaban ulceraciones oculares y morían en cuestión de semanas. Estos experimentos ponían de manifiesto que no todo alimento era capaz de sustentar la vida (86). Posteriormente, Lunin y cols., empleando modelos animales más sostenibles, observaron que los

ratones alimentados a base de elementos nutricionales purificados, siendo estos proteínas, azúcares, grasas y sales minerales, perecían al cabo de un mes. Fue solo tras añadir leche como ingrediente a sus dietas que pudieron los ratones vivir más de 2 meses (87). En base a estos experimentos, diversos autores tales como Hopkins, Osborne y Mendel postularon que debían existir “factores accesorios” ajenos a los nutrientes básicos y presentes en la leche, entre otros alimentos complejos, que resultaban imprescindibles para el crecimiento y desarrollo de los animales (88).

En esta misma línea, otros autores apuntaron a que la existencia de los llamados “factores accesorios” podía dar respuesta a enfermedades asociadas a la alimentación tales como beri-beri, escorbuto, raquitismo y pelagra. Casimir Funk observó que estas enfermedades tenían características en común que le llevaron a clasificarlas en un mismo grupo al que denominó “deficiencias” (*deficiency diseases*) (89). Funk apodó a estas sustancias indispensables “vitaminas”, nombre constituido por “vital” y “amina”, en base a que Funk pensaba que esta debía ser su naturaleza química (90). Fue McCollum quien, en línea con la investigación de Funk, denominó “factor liposoluble A” a la sustancia cuyo déficit consideró responsable de un tipo de xeroftalmia y “factor hidro-soluble B” a aquella sustancia cuya deficiencia era la causa del beri-beri (91). Años después, el denominado “factor lipo-soluble A” pasó a ser conocido como vitamina A mientras que el “factor hidro-soluble B” fue posteriormente identificado como vitamina B1 o tiamina (92), sirviéndole su descubrimiento a Christiaan Eijkman para ser galardonado con el premio Nobel de fisiología en 1929. Paulatinamente, el concepto de vitamina comenzó a ganar aceptación en la comunidad científica. En la tabla 3 quedan recogidas enfermedades causadas por deficiencias vitamínicas.

**Tabla 3.** Enfermedades y síndromes causados por deficiencias vitamínicas

<b>Enfermedad o Síndrome</b>	<b>Deficiencia</b>
Queratomalacia y Xeroftalmia	Vitamina A (retinoides)
Beri-Beri y Síndrome de Korsakoff	Vitamina B1 (tiamina)
Ariboflavinosis	Vitamina B2 (riboflavina)
Pelagra	Vitamina B3 (niacina)
Espina Bífida	Vitamina B9 (ácido fólico)
Anemia Megaloblástica	Vitamina B12 (cianocobalamina)
Escorbuto	Vitamina C (ácido ascórbico)
Raquitismo y Osteomalacia	Vitamina D (Colecalciferol y ergocalciferol)

---

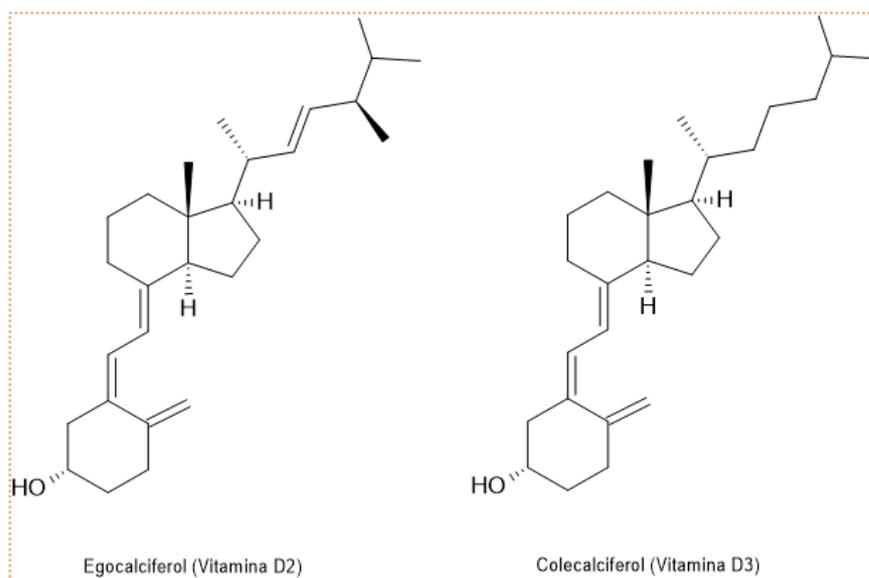
#### I.6. Descubrimiento de la vitamina D

La identificación de la vitamina D tiene también su origen en una deficiencia, el raquitismo. El principal signo del raquitismo es la falta de mineralización o calcificación del osteoide de la matriz ósea (93). En el siglo XIX se observó que el consumo de aceite de hígado de bacalao no solo era una medida eficaz para prevenir y curar la xeroftalmia, sino que también lo era para raquitismo (92). Esto llevó a autores como McCollum a estudiar si esta propiedad del aceite de hígado de bacalao era debida a la vitamina A. Mediante la inyección de oxígeno en el aceite de hígado de bacalao se conseguía destruir la vitamina A. Como resultado, el aceite ya no era capaz de paliar la xeroftalmia consecuencia del déficit de esta vitamina. Sin embargo, aún era eficaz frente al raquitismo (92). Esto llevó a McCollum a pensar que debía existir otro “factor accesorio” por descubrir cuyo déficit era responsable del raquitismo.

Tras la primera guerra mundial, diversos autores apuntaron a que la exposición a la luz UV, ya fuera por medio natural o mediante irradiación artificial, era beneficiosa para prevenir y

curar el raquitismo. En los años posteriores, numerosos autores se afanaron por encontrar el vínculo entre dos variables tan diferentes como eran el aceite de hígado de bacalao y la exposición a la luz UV (94). Se llevaron a cabo múltiples experimentos con ratas con el propósito de evaluar el efecto protector de la radiación UV. Sorprendentemente, se observó que cuando se irradiaba una jaula y después se introducía al ratón, se obtenía un efector protector contra el raquitismo similar a la irradiación directa del roedor. Tras números experimentos, este hecho se asoció al efecto de la luz UV sobre los restos de serrín presentes en dicha jaula que posteriormente sería ingeridos por los ratones (94). Años más tarde, Hess y Weinstock demostraron que la administración de aceites vegetales previamente irradiados con luz UV ejercía un efecto antirraquítico en ratones no expuestos confirmando que el “factor antirraquítico” podía presentar síntesis *in vitro* ajena al organismo administrado (95). Los avances de la química aplicada al colesterol permitieron que en 1932 se identificase finalmente la molécula vegetal responsable del efecto antirraquítico aislándose finalmente la vitamina D2 y en 1937 su homólogo de origen animal, la vitamina D3 (92). En la figura 2 se representan las estructuras de dichas moléculas.

Figura 2. Estructura de la vitamina D2 y D3



*Elaboración propia*

### I.7. Carácter prohormonal de la vitamina D

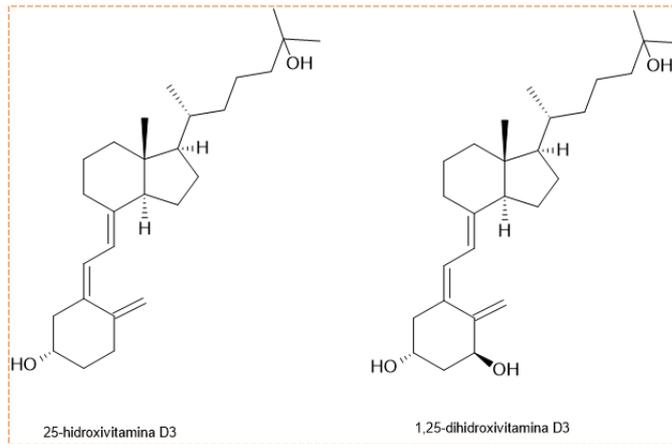
El descubrimiento de la vitamina D dio lugar a que el raquitismo dejase de ser una enfermedad con alta prevalencia en los países desarrollados. No obstante, el entendimiento acerca del mecanismo de acción de esta vitamina sobre el metabolismo óseo era limitado. Entre 1923 y 1932 diversos autores tales como Steenbock y Kletzien apuntaron a la vitamina D jugaba un papel importante en la utilización del calcio (96). Estos autores razonaban que dicha vitamina debía de ejercer un efecto directo a nivel óseo. Por otro lado, Nicolaysen y cols., razonaron que la vitamina D, lejos de ejercer un efecto directo, modulaba la absorción de calcio y fósforo a nivel intestinal. Es más, postularon que otro metabolito endógeno debía ser el responsable principal de “informar” al intestino de los requerimientos metabólicos de calcio (97). Nicolaysen

y *cols.*, habían iniciado por tanto las bases del posterior descubrimiento de los metabolitos activos de la vitamina D.

En la década de los 50, pese a los grandes avances producidos en el campo de la radioquímica, se seguía creyendo que la vitamina D<sub>3</sub> era la forma activa de la vitamina D (92). En 1968, DeLuca y *cols.*, observaron un pico cromatográfico cuyo espectro correspondía al metabolito 25-hidroxivitamina D el cual parecía tener una actividad superior a la de la propia vitamina D<sub>3</sub> (98). En esta misma línea, varios metabolitos distintos derivados de la estructura de la vitamina D fueron descritos, pero ninguno presentaba tal actividad.

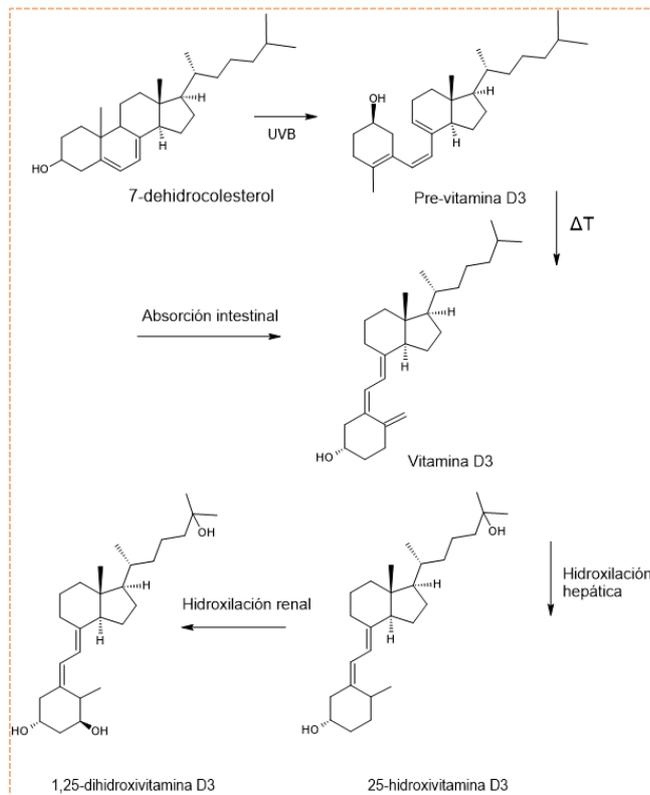
Qué órganos participaban en el metabolismo de la vitamina D también era objeto de debate. Algunos autores observaron que las personas con función hepática comprometida presentaban alteraciones en la función de la vitamina D. De hecho, se demostró que el aislamiento del hígado de ratas conllevaba la imposibilidad por parte estas de generar 25-hidroxivitamina D evidenciando el papel que el hígado jugaba en la síntesis de metabolitos biológicamente activos (99). En base a estos resultados, otros autores exploraron la función que otros órganos podrían jugar en el metabolismo de dicha vitamina. En 1970, Kodiceck E. y *cols.*, tras experimentar con ratas y gallinas nefrectomizadas, postularon que la vitamina D debía sufrir una biotransformación a nivel renal que implicase la síntesis de un metabolito activo (100). Un año después, se pudo aislar finalmente la molécula de calcitriol (1,25-hidroxivitamina D) (101) siendo este un metabolito extremadamente activo, pero con un tiempo de semivida plasmático muy corto. Es gracias a las hidroxilaciones a nivel hepático y renal que la vitamina D es capaz de incrementar la absorción de calcio en las células intestinales confirmándose por tanto su carácter prohormonal. En las figuras 3 y 4 se recoge la estructura del calcidiol y del calcitriol y se resume el metabolismo de la vitamina D.

**Figura 3.** Estructura del 25-hidroxivitamina D3 y 1,25-dihidroxivitamina D3



*Elaboración propia*

**Figura 4.** Metabolismo de la vitamina D



*Elaboración propia*

### I.8. Metabolismo de la vitamina D

En la actualidad, se conoce que la vitamina D es un secosteroide liposoluble con carácter prohormonal que juega un papel crucial en el metabolismo del calcio y del fósforo. Se encuentra presente en dos formas: vitamina D2 (ergocalciferol) y vitamina D3 (colecalfiferol) y su obtención está mediada por una vía exógena y una vía endógena. La principal fuente exógena de vitamina D3 es la dieta mediante el consumo de alimentos ricos en grasa tales como pescado azul (atún, salmón, anguila...) y, en menor medida, hígado, queso y huevo (101). Por otro lado, los alimentos fúngicos como los champiñones constituyen la principal fuente exógena de vitamina D2 puesto que son capaces de sintetizarla a partir del ergosterol gracias a la acción de la radiación UVB (101).

Numerosos países presentan políticas de fortificación de alimentos con vitamina D3 siendo alimentos frecuentemente fortificados la leche y la margarina (17). También existen alimentos fortificados con vitamina D2 siendo particularmente relevantes los champiñones expuestos a luz ultravioleta artificial (102). No obstante, la fortificación con vitamina D3 resulta más interesante en el ser humano puesto que se ha demostrado que la vitamina D3 presenta una mayor eficacia a la hora de incrementar los niveles plasmáticos de 25-hidroxivitamina D total que su homólogo de origen fúngico (103).

En el ser humano, la principal fuente de obtención de vitamina D3 es la síntesis endógena. Cuando la radiación UVB a 282-310 nanómetros incide sobre la piel el 7-dehidrocolesterol la absorbe siendo fotoisomerizado a pre-vitamina D la cual se encuentra en equilibrio térmico con la vitamina D3 (104). Una temperatura cercana a los 37°C es necesaria para la transformación de su precursor en vitamina D3. Exposición constante a la radiación

ultravioleta o temperaturas no idóneas favorecen la transformación en metabolitos no activos como el lumisterol siendo este un proceso reversible (104).

Tras su síntesis endógena o tras su absorción intestinal, la vitamina D<sub>3</sub> se une a su proteína transportadora para alcanzar el hígado donde continuará su circuito metabólico. La proteína transportada de vitamina D (DBP) es una proteína ampliamente distribuida en el organismo. Se puede encontrar en plasma, líquido cerebro-raquídeo, semen, saliva y leche materna. La DBP tiene capacidad para unirse tanto a la vitamina D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> como a la 25-hidroxitamina D y 1,25-dihidroxitamina D (105). Debido a su extendida presencia en el cuerpo humano, la DBP también posee importantes funciones ajenas al transporte de vitamina D y sus metabolitos, tales como transporte de ácido grasos, quimiotaxis, activación de macrófagos y transporte de actina (105). En la práctica clínica, la DBP supone un desafío añadido a la medición de 25-hidroxitamina D puesto que muchos métodos analíticos son incapaces de desplazar totalmente la DBP de sus metabolitos e incluso pueden presentar reactividad cruzada con el complejo formado por la DBP y estos. Asimismo, la concentración plasmática de DBP ha demostrado estar influenciada por la raza (el alelo DBP1F es más frecuente en personas negras y tiene mayor afinidad y eficiencia en el transporte de vitamina D) y la gestación (la síntesis hepática de DBP es estrógeno-dependiente y se incrementa durante el embarazo) (105). En población no gestante, la 25-hidroxitamina D se encuentra unida a la DBP en un 85%, unida a albumina en un 15% y libre solo en el 0,03% (104). Por estos motivos, la DBP y sus genotipos son factores a tener en cuenta a la hora de analizar la biodisponibilidad de los metabolitos de vitamina D, particularmente cuando se considera el efecto que ejercen la raza y el embarazo sobre esta (106).

Las principales reacciones implicadas en el metabolismo de la vitamina D están mediadas por oxidasas del citocromo P450 (CYP), particularmente CYP2R1, CYP27A1, CYP27B1 y CYP24A1 (104). Algunos de estos componentes son microsomales y otros mitocondriales, pero todos intervienen en el metabolismo de esta vitamina. Cuando la vitamina D unida a su proteína transportadora alcanza el hígado se internaliza en la célula hepática. El mecanismo mediante el cual lo hace sigue sin estar completamente dilucidado existiendo dos hipótesis principales. Una hipótesis consiste en que la vitamina D es capaz de acceder a compartimento celular en su forma libre no unida a DBP, mientras que la otra afirma que el principal mecanismo de internalización es la interacción con proteínas transmembrana como es la megalina la cual se expresa en riñón, así como en otros órganos y tejidos tales como placenta, glándula tiroidea y glándula mamaria (107,108).

Una vez en el interior de la célula hepática, la molécula de vitamina D libre es hidroxilada en el carbono en posición 25 mediante la enzima CYP2R1. Si esta hidroxilasa es la única responsable de la formación de 25-hidroxivitamina es aún tema de debate en la actualidad. Ratones deficientes en CYP2R1 son aún capaces de sintetizar 25-hidroxivitamina D indicando por tanto que otras enzimas participan en la actividad 25-hidroxilasa (109). Una enzima a la que se le atribuye capacidad 25-hidroxilasa es la CYP27A1. No obstante, al contrario que CYP2R1, CYP27A1 no es capaz de hidroxilar la posición 25 de la vitamina D<sub>2</sub> (109). Si la capacidad 25-hidroxilasa de CYP27A1 es clínicamente relevante no está claro. Finalmente, la enzima CYP3A1, involucrada en una gran cantidad de reacciones del metabolismo de los xenobióticos, es inducida por 1,25-dihidroxivitamina D en el intestino y presenta actividad 25-hidroxilasa. Esta actividad es más selectiva hacia la vitamina D<sub>2</sub> que hacia la vitamina D<sub>3</sub>. Aunque tenga

actividad 25-hidroxilasa, el papel más notable que juega el CYP3A1 consiste en la inactivación de metabolitos de vitamina D a altas concentraciones (109).

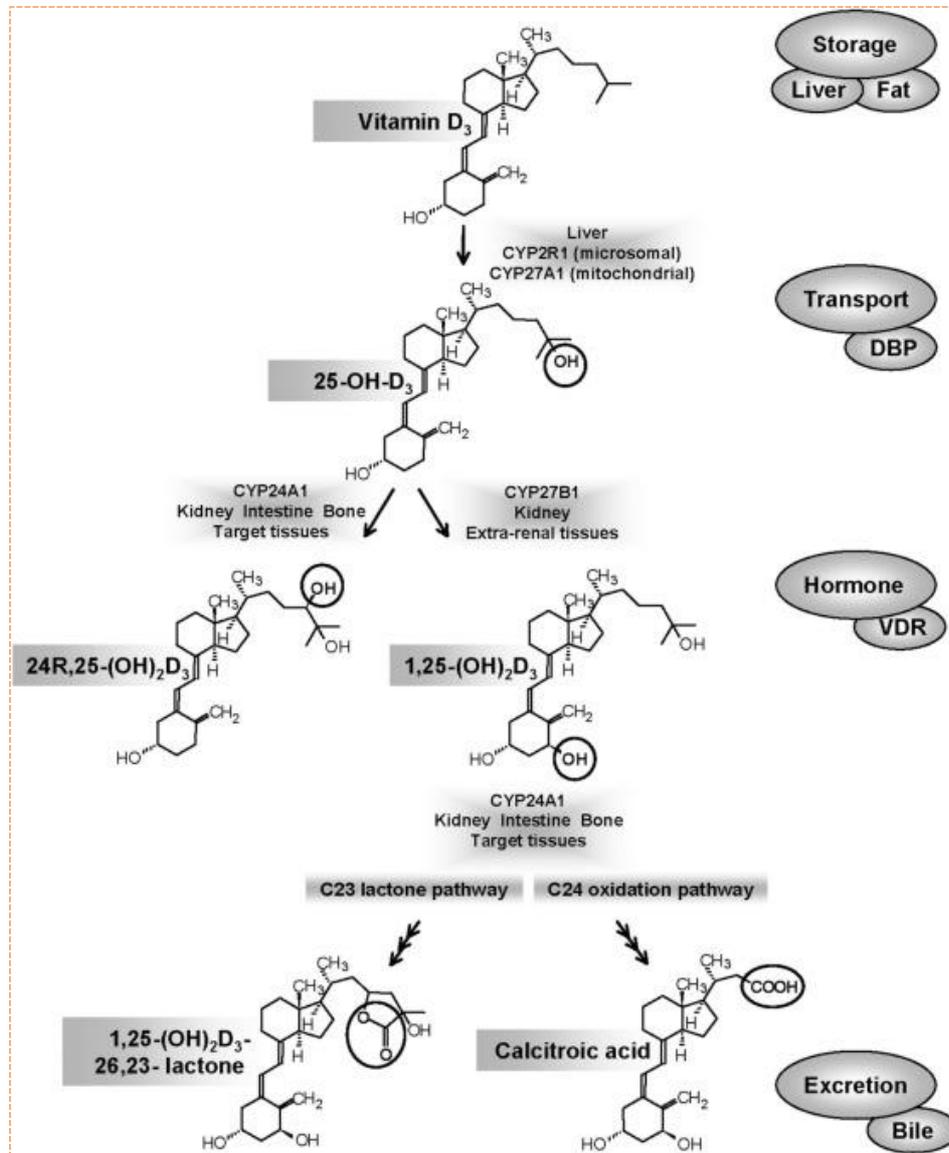
Cuando el complejo 25-hidroxivitamina D – DBP alcanza el riñón, la 25-hidroxivitamina D entra en el túbulo proximal donde se va a llevar a cabo la hidroxilación en posición 1-alfa. El mecanismo por el que penetra la 25-hidroxivitamina D en el riñón está sujeto a las dos hipótesis también aplicables al hígado. La proteína CYP27B1 es la única responsable de la hidroxilación en posición 1-alfa de la 25-hidroxivitamina D. Esta proteína se localiza principalmente en el túbulo proximal renal. No obstante, también se encuentra en otros órganos y tejidos tales como placenta, queratinocito y células inmunes (110). Es particularmente interesante el caso de la placenta puesto que es el único órgano (además del riñón) capaz de sintetizar grandes concentraciones de 1,25-dihidroxivitamina D. Algunos autores afirman que esta síntesis no está relacionada en su totalidad con la demanda de calcio y fósforo fetal, sino que la 1,25-dihidroxivitamina D actuaría como una citoquina inmunomoduladora que ejercería un efecto centrado en evitar el rechazo fetal y promover la respuesta inmune frente a patógenos microbianos durante el embarazo (110).

Finalmente, cuando el calcitriol unido a su proteína transportadora (DBP) alcanza su biofase, se une al receptor nuclear de vitamina (VDR) cuya expresión conlleva inhibición y expresión proteica. No obstante, el CYP24A1 no solo es responsable de la activación del receptor de vitamina D y por tanto de los efectos a nivel óseo y extraóseo, sino que también es responsable de la regulación de su propio metabolismo mediante un sistema de *feedback* negativo (17). La principal acción de esta enzima mitocondrial es la hidroxilación en el carbono en posición 24 del calcidiol y del calcitriol. Estos metabolitos hidroxilados de vitamina D2 y D3 forman parte de una vía catabólica con varias hidroxilaciones en cadenas laterales que culmina

con la formación de catabolitos biliares tales como la 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-26,23-lactona y el ácido calcitroico. Estos metabolitos hidrosolubles son posteriormente eliminados en bilis y orina (111). No obstante, el 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-26,23-lactona es capaz de antagonizar la actividad del calcitriol siendo por tanto un metabolito muy interesante a la hora de buscar antagonistas de vitamina D (112). Los antagonistas de vitamina D son de interés en el tratamiento de la enfermedad de Paget siendo esta el desorden óseo más frecuente tras la osteoporosis (113).

En **resumen**, la vitamina D es una prohormona que deriva de un precursor cutáneo y que, mediante la unión a la proteína transportadora DBP, se traslada a hígado y riñón principalmente donde va a sufrir hidroxilaciones mediante oxidasas del citocromo P450 con objeto de alcanzar su forma activa. En la figura 5 se pueden observar los metabolitos de la vitamina D sintetizados mediante la acción de las distintas enzimas del citocromo P450.

Figura 5. Reacciones del citocromo P450 en el metabolismo de la vitamina D



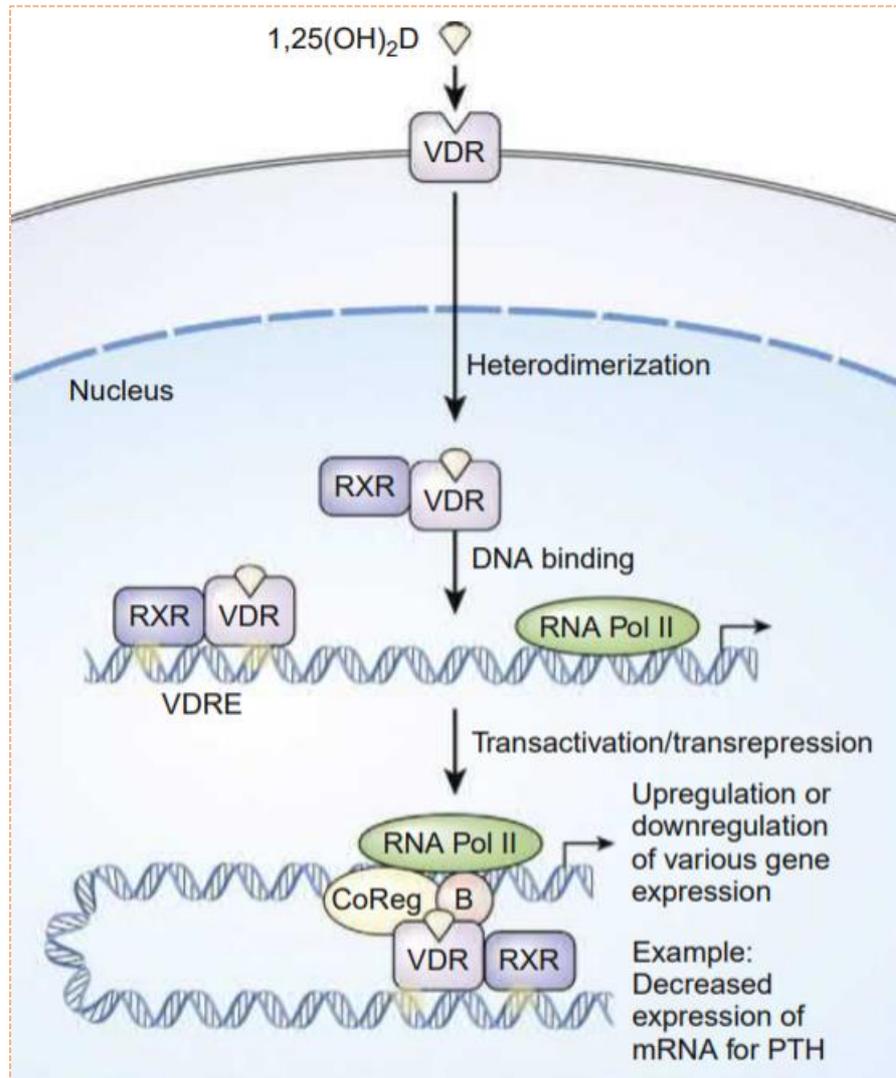
Adaptado de (114)

I.9. Mecanismo de acción de la vitamina D

El mecanismo de acción de la vitamina D está mediado por la activación del receptor nuclear VDR. El descubrimiento de este receptor tuvo lugar en 1969 y su primera clonación en 1987 (17). El carácter pleiotrópico de la vitamina D es en parte debido a la amplia distribución de su receptor por el organismo pudiendo localizarse en tejidos del sistema gastrointestinal, renal, cardiovascular, endocrino, exocrino, reproductivo, inmune, respiratorio, musculoesquelético, sistema nervioso central, así como en piel y tejidos conectivos (17). Este receptor se localiza tanto en el citoplasma (particularmente en las invaginaciones conocidas como caveolas) como en el núcleo celular y su activación conlleva inhibición o expresión de síntesis proteica.

Cuando el calcitriol es liberado de su proteína transportadora y alcanza el citoplasma se une al receptor nuclear VDR. La interacción con su receptor conlleva la activación del mismo la cual facilita la formación de un heterodímero con el receptor de ácido retinoico / receptor de retinoide X (RXR). Dicho heterodímero interacciona con los elementos de respuesta a vitamina (VDREs) en el interior nuclear regulando finalmente la expresión génica. En la figura 5 queda ilustrado dicho proceso.

**Figura 6.** Inducción de la expresión génica mediada por la activación del receptor VDR.



*Adaptado de (115)*

Es de destacar que la acción del calcitriol sobre el receptor VDR se encuentra modulada por numerosos factores tales como proteínas de unión intracelulares, actividad de CYP24A1, unión del calcitriol a DBP, polimorfismos de receptor, etc. Esto implica que una simple relación concentración-actividad puede no ser suficiente para delimitar la acción de la vitamina D. A esto hay que sumarle que la unión del calcitriol al receptor VDR induce cambios conformacionales en él que conllevan un efecto fisiológico concreto. Sin embargo, la unión de análogos de calcitriol

conlleva diferentes conformaciones con efectos fisiológicos muy diversos lo cual dificulta la creación de fármacos análogos a la vitamina D y complica el estudio de dicha vitamina (116,117).

Ciertos peces tales como la lamprea *Entosphenus japonicus* expresan el receptor VDR pese a no poseer esqueleto óseo o mandíbula ósea. Algunos autores afirman que esto se debe a que el receptor VDR presentaba una función primigenia muy anterior a la regulación de la homeostasis del metabolismo óseo. Dicha función estaría relacionada con el metabolismo de xenobióticos (118), respuesta a endobióticos tales como las sales biliares (17) o con la respuesta inmune (119). Por otro lado, los ratones *knockout* en VDR y las personas con raquitismo hipocalcémico hereditario tipo II (enfermedad autosómica recesiva rara caracterizada por un defecto en el receptor VDR) presentan manifestaciones esqueléticas similares a las causadas por el raquitismo, pero además padecen alopecia lo cual indica que el receptor VDR, independientemente de su unión a la 1,25-dihidroxitamina D, juega un papel crucial en el desarrollo del folículo piloso (120). De hecho, la dieta de rescate en calcio mejora todos los síntomas salvo la alopecia en estos ratones.

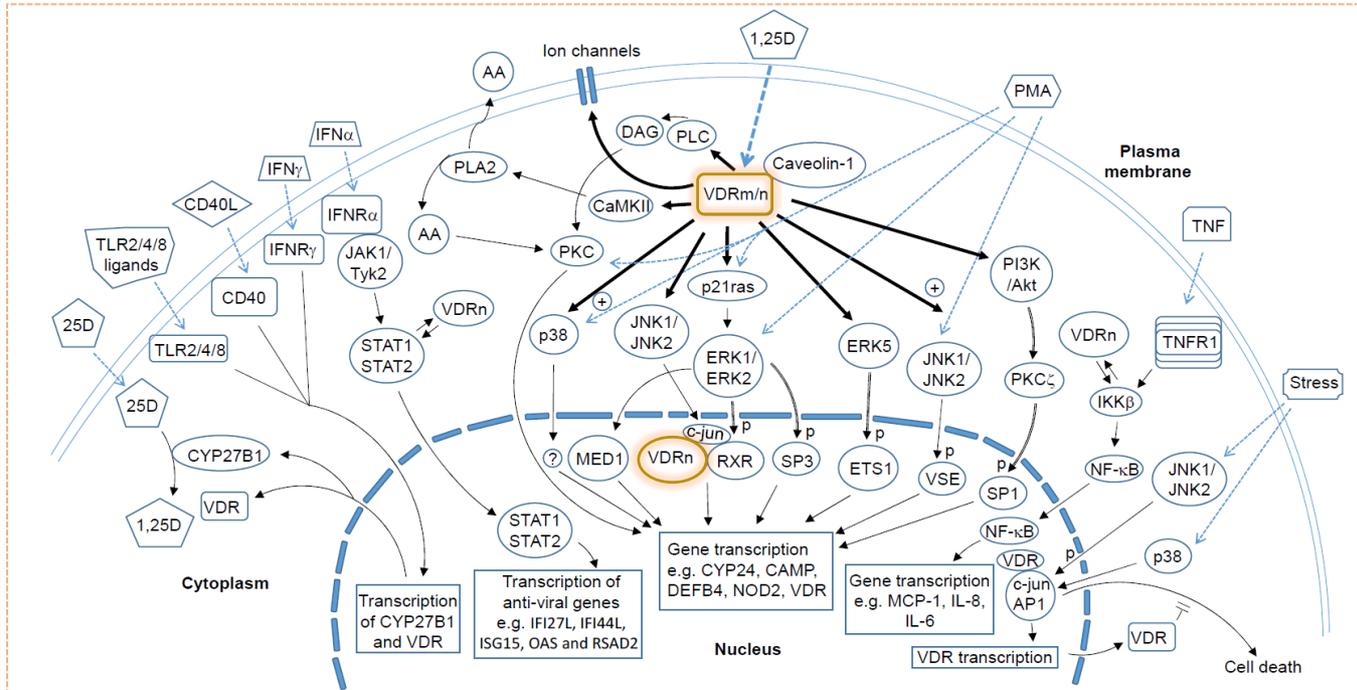
La acción del heterodímero VDR-RXR sobre el VDRE inicia o suprime la maquinaria de transcripción celular para los genes de respuesta a 1,25-hidrodivitamina D. Los elementos de respuesta a vitamina D se localizan en genes muy variados cuya expresión se ve modulada por la acción del calcitriol y probablemente por la acción de otros ligandos del receptor VDR. Estos elementos de respuesta incluyen genes implicados en el metabolismo óseo, homeostasis mineral, detoxificación de xenobióticos y del propio calcitriol, ciclos de control celular de apoptosis y proliferación, angiogénesis, inmunidad y distintas rutas metabólicas (17). En torno al 3% del

genoma humano se encuentra regulado de manera directa o indirecta por la acción del calcitriol (121).

Además de sus acciones a nivel de expresión génica, el calcitriol es capaz de ejercer numerosas acciones no genómicas activando moléculas de señalización como fosfolipasas C y A2, fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), p21ras y permitiendo la generación de segundos mensajeros celulares mediante la activación de canales de  $\text{Ca}^{+2}$ , generación de AMP cíclico, ácido grasos y derivados del fosfatidilinositol entre otros (122). Tal y como se ha demostrado en células MC3T3-E1 de osteoblasto, muchas de estas acciones son también mediadas por el receptor VDR a nivel citoplasmático y son responsables en última instancia de efectos transcripcionales derivados de estas acciones no genómicas. Factores tales como la caveolina-1 entre otros podrían mediar estos efectos (122).

En **resumen**, el mecanismo de la acción de los metabolitos activos de la vitamina D se encuentra mediado por la activación de su receptor nuclear VDR el cual también puede ejercer acciones no genómicas a nivel citoplasmático. En la figura 6 queda representada la compleja relación de efectos no genómicos derivadas de la acción del calcitriol.

Figura 7. Acciones no genómicas de la vitamina D



Adaptado de (122)

I.10. Efectos de la vitamina D en la homeostasis ósea y mineral

*I.10.1. Absorción intestinal de calcio*

En el intestino, la absorción de calcio da lugar mediante dos procesos: un proceso activo mediado por la acción de la vitamina D que se da mayoritariamente en duodeno y yeyuno y un proceso paracelular pasivo a favor del gradiente de concentración a lo largo de todo el intestino en el que participan proteínas de la zona de oclusión o claudinas de cuya síntesis también participa la vitamina D (123,124). A bajas ingestas de calcio predominará el proceso activo mientras que altas ingestas de calcio favorecen el proceso pasivo. El mecanismo transcelular activo de absorción de calcio implica tres etapas (123):

➤ *Acceso al epitelio intestinal mediado por CaT1 (Receptor de potencial transitorio V6).*

El transporte de calcio al interior del enterocito debe realizarse sin alterar el flujo de calcio libre intracelular siendo por ello por lo que está íntimamente regulado por la vitamina D la cual es capaz de inducir la expresión de la proteína de transporte CaT1 (Receptor de potencial transitorio V6 o TRPV6) en enterocito (125,126). Otros transportadores podrían estar involucrados.

➤ *Difusión intracelular mediante la unión a calbindina.*

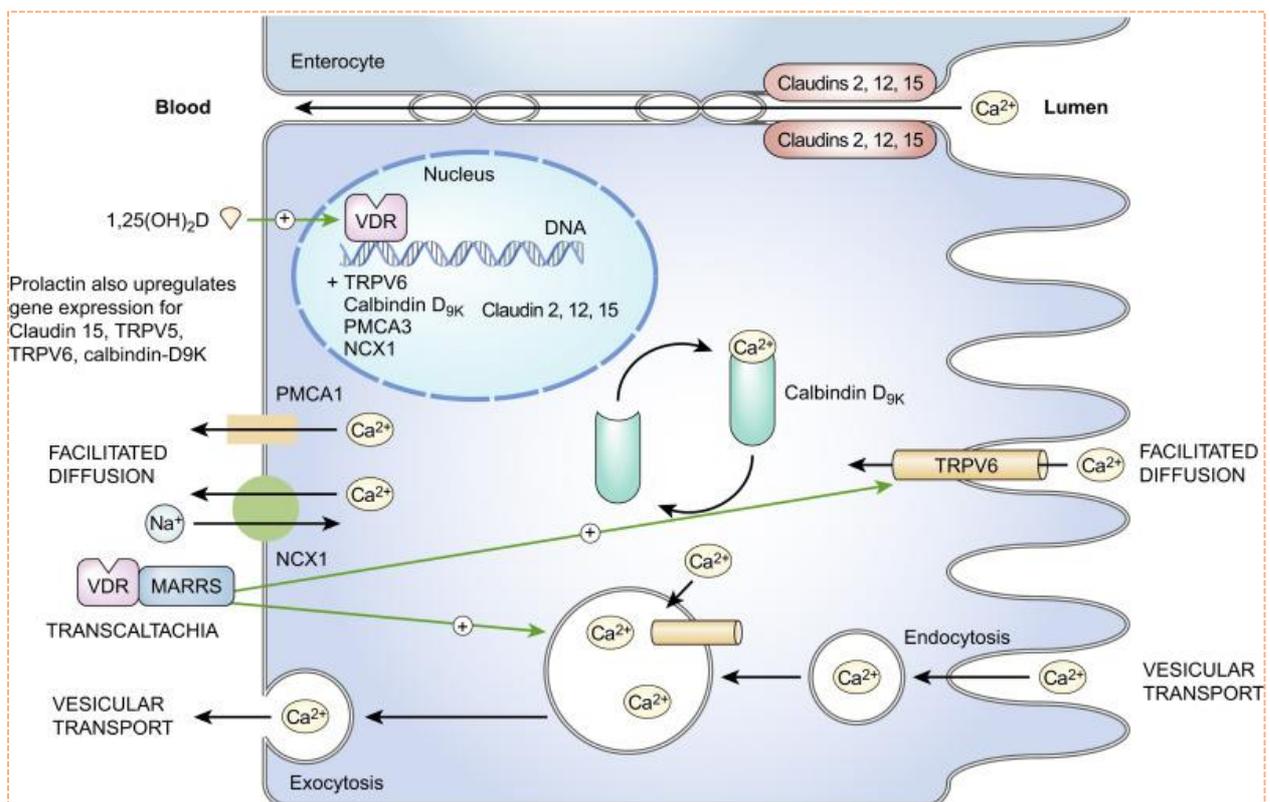
La calbindina-28 kDa es una proteína encargada del transporte intracelular de calcio mediante su unión directa. Su expresión en las células de la mucosa intestinal y en el túbulo distal del riñón también se encuentra regulada por vitamina D. Esta proteína de transporte podría servir para evitar sobredosis de calcio (126).

➤ *Extrusión de calcio celular por transporte activo mediado por bomba de calcio.*

Ciertos estudios apuntan a que la vitamina D es capaz de promover la síntesis de las bombas PMCA1B y PMCA2C favoreciendo por tanto la salida de calcio desde el medio intracelular (126,127).

En base a este mecanismo se constata que la vitamina D es crucial en todas las fases involucradas en la absorción de calcio desde el lumen intestinal. Estos procesos quedan representados en la figura 8.

**Figura 8.** Mecanismos de absorción intestinal de calcio



Adaptado de (115)

### 1.10.2. Reabsorción renal de calcio y fósforo

La principal acción de la vitamina D en el riñón es modular la absorción de fósforo mediante su sistema de *feedback* con la hormona paratiroidea y FGF23. Este último es un factor hipofosfatémico cuya acción involucra la inhibición de la transcripción de transportadores renales de fósforo sodio-dependientes” NaPi 2a” y “NaPi 2c” lo cual conlleva una marcada reducción de la reabsorción renal de este mineral. En torno al 80% del fosforo filtrado es reabsorbido en el riñón y está mediada por transportadores de sodio NaPi y SLC cuya expresión está modulada por FGF-23 y por tanto por la vitamina D (17). Es particularmente relevante en el raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante (ADHR), enfermedad hereditaria caracterizada por una hipofosfatemia persistente (128). Finalmente, la hormona paratiroidea es un importante regulador de la reabsorción de fósforo renal y su interacción con FGF-23, de por sí compleja, es modulada por la propia acción de la vitamina D sobre el metabolismo de la parathormona (128).

En relación al calcio, este se reabsorbe de manera activa en el túbulo renal distal mediante un proceso similar al empleado para su absorción en el enterocito mediado por la unión del calcitriol a su receptor VDR (127). La activación del VDR en la nefrona distal conlleva la expresión de TRPV5 a través de la proteína de membrana *klotho* (Wolf M.T.F – 2014). El mecanismo de transporte intracelular y la extrusión al torrente sanguíneo están mediados por procesos análogos al enterocito según los cuales el calcio se uniría a la calbindina en el interior celular y sería expulsado mediante bombas de transporte activo, todo ello influenciado por la unión del calcitriol a su receptor VDR y por la PTH (127).

### 1.10.3. Homeostasis ósea

La activación del receptor VDR ejerce un efecto directo en el remodelado óseo que depende del balance de calcio en el organismo y del estado de maduración de los osteoblastos. Si las reservas de calcio son insuficientes, la activación del VDR conllevará un incremento de la resorción ósea mediante activación del sistema RANK-RANKL (129) e inhibición de la mineralización de la matriz ósea con objeto de mantener niveles de calcio séricos en un rango fisiológico (130). En cambio, si los niveles de calcio son normales, la acción del VDR sobre el remodelado óseo no es esencial y el efecto del calcitriol sobre el metabolismo mineral se limita a la absorción intestinal.

La señalización de VDR en osteocitos también conlleva un efecto en la homeostasis del calcio y fósforo estimulando la producción de factor de crecimiento fibroblástico (FGF-23) y participa en el mantenimiento de las células madre hematopoyéticas (130). FGF-23 también ejerce un efecto de *feedback* negativo reprimiendo CYP27B1 responsable de la síntesis de calcitriol e induciendo CYP24A1 responsable de su catabolismo (131). De hecho, FGF-23 interacciona con el calcitriol y la hormona paratiroidea (PTH) en un sistema complejo de *feedback* que se desarrolla en varios tejidos del organismo y que tiene como objetivo mantener los niveles de fosforo y calcio plasmático.

Respecto a su efecto en los condrocitos, la deficiencia de vitamina D y/o la depleción del receptor VDR producen una disminución de la apoptosis de los condrocitos debido a los bajos niveles de fósforo mediada por casp-9 que resulta en un ensanchamiento de la fisis cartilaginosa y defectos en su remodelado propios del raquitismo infantil (132). La expresión de VDR induce la síntesis de factores paracrinos tales como el factor de crecimiento vascular y el receptor

activador de factor nuclear  $\kappa$ -B (NF $\kappa$ B). Por tanto, la ausencia del receptor VDR conlleva la disminución de la invasión vascular y del número de osteoclastos en la metáfisis ósea (133).

En **resumen**, la vitamina D juega un importante papel en todos los procesos que median la absorción intestinal de calcio, así como en gran parte de aquellos procesos involucrados en la reabsorción renal de calcio y fósforo. Las complejas acciones de la vitamina D en el metabolismo óseo dependen de la concentración sérica de calcio y se encuentran en un delicado equilibrio.

### I.11. Efectos extraóseos de la vitamina D

Multitud de estudios observacionales han evidenciado que altas concentraciones de vitamina D otorgan un efecto protector frente a patologías de muy diversa índole incluyendo enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus y cáncer colorrectal (134). Asimismo, existe evidencia de que el calcitriol está involucrado en la detoxificación de xenobióticos del organismo, así como en numerosos efectos a nivel inmune, inflamatorio y cardiovascular. Todo esto es debido a que el receptor VDR se localiza en casi la totalidad de los tipos celulares del cuerpo humano (134).

Una de las primeras observaciones de los efectos extracelulares de la vitamina D fue la detección del receptor VDR en células leucémicas. Una vez expuestas estas células al calcitriol su actividad proliferativa disminuía notablemente. Estos resultados se replicaron posteriormente en otras líneas celulares de cáncer distintas (134). En la actualidad, los efectos extracelulares conocidos de la vitamina D engloban diversas categorías entre las que se encuentran reproducción celular y cáncer, musculatura, inmunidad y autoinmunidad, sistema cardiovascular

y enfermedad cardiovascular, obesidad y síndrome metabólico, envejecimiento y muerte, diabetes y resultados del embarazo y parto (121,135).

### *1.11.1. Vitamina D y Cáncer*

El receptor VDR se encuentra en una amplia cantidad de líneas celulares cancerígenas, aunque no en todas. Asimismo, CYP27B1 también se expresa en números tipos de cáncer a niveles mayores que en tejidos periféricos (121). Pese a que numerosos esfuerzos se han destinado a encontrar análogos de vitamina D con efecto antiproliferativo en cáncer, muchos de estos cánceres son total o parcialmente inmunes a dicho efecto antiproliferativo de la activación de VDR (121). El mecanismo mediante el cual la vitamina D modularía el ciclo celular estaría mediado por una gran cantidad de genes (al menos 200) cuya expresión dependería de la unión del calcitriol al receptor VDR. La vitamina D incrementa la expresión de genes inhibidores celulares como p27 y p21. Dichos genes participan en la expresión de inhibidores de quinasas dependientes de ciclina responsables del control del ciclo celular (136). Otros muchos factores estarían involucrados en este proceso que conlleva un mantenimiento del ciclo celular en la fase G1/S y el fomento de la estabilización y unión intercelular, impidiendo por tanto síntesis de ADN y proliferación. Entre dichos factores se encuentra la producción incrementada de moléculas de adhesión celular como cadherina E y la inhibición de la síntesis de otras como la cadherina-17 involucrada en cáncer de colon metastásico (135,137).

El calcitriol es también capaz de incrementar la expresión de moléculas proapoptóticas como MEKK-1 e inhibir la expresión de Akt, gen responsable de la síntesis de la proteína quinasa B (PKB), la cual es una quinasa capaz de regular el ciclo de supervivencia celular (136). Otros mecanismos de carácter indirecto pueden consistir en la inducción de la apoptosis

mediante la activación del receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina (IGF-1) y la expresión del factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) (136).

Otras rutas por las que el calcitriol podría estar implicado en la menor incidencia de cáncer consistirían en su papel antiinflamatorio y antioxidante que promovería el proceso de reparación del ADN (138). Con respecto a su efecto antiinflamatorio, el calcitriol es capaz de inhibir la expresión de prostaglandinas proinflamatorias e inhibir la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX-2). Asimismo, la inhibición de las proteína-quinasas activadas por mitógeno (MAPKs) y del factor nuclear NF $\kappa$ B también pueden estar involucradas en dicho mecanismo de acción antiinflamatorio (138).

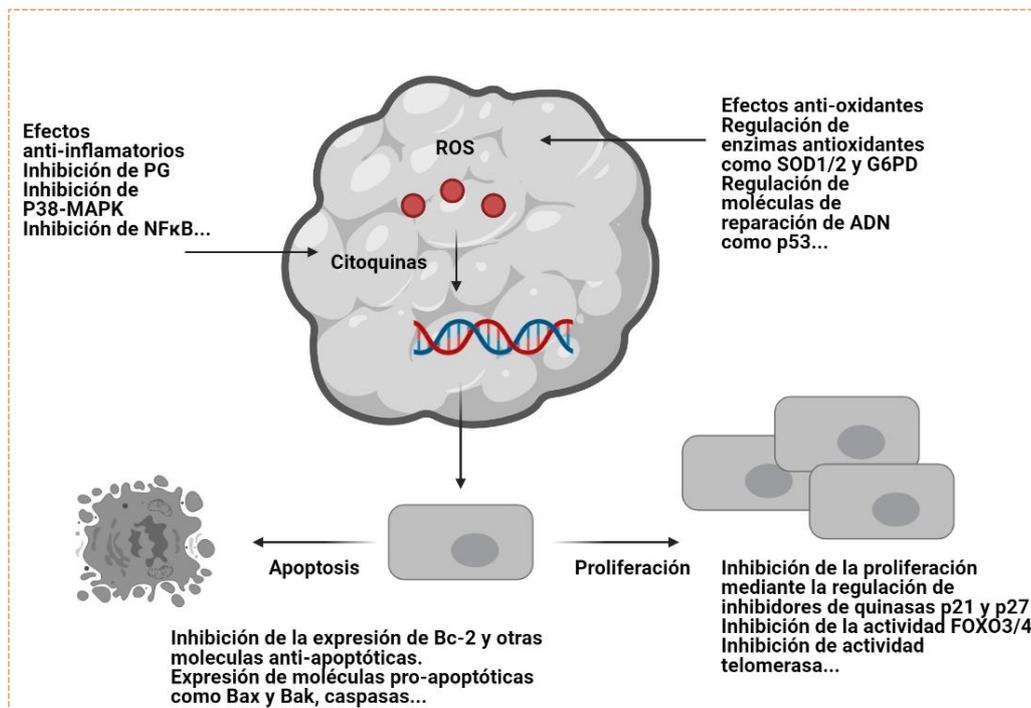
Con respecto a sus propiedades antioxidantes, el calcitriol puede inducir la expresión del superóxido dismutasa 1 y 2 en células de epitelio de próstata entre otras moléculas implicadas en una menor incidencia de cáncer de próstata y mama como las enzimas glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y factor nuclear eritroide 2 (NRF2) (138) etc.

En estudios *in vivo* se ha observado que el calcitriol es capaz de inhibir la metástasis de cáncer de próstata y pulmón en modelos de ratón (136). La mayoría de los estudios observacionales llevados a cabo en humanos sugieren una relación entre deficiencia de vitamina D y una mayor prevalencia de ciertos cánceres como el de colon, mama y próstata (139). En esta misma línea, algunos autores apuntan a una menor agresividad de estos tipos de cáncer en verano en relación al invierno. Finalmente, el polimorfismo en determinados genes que codifican proteínas del metabolismo de la vitamina D también podría estar implicado en ciertos tipos de cáncer (136).

La asociación entre latitud e incidencia y mortalidad de cáncer ha sido constatada en numerosas ocasiones. Pese a que el exceso de exposición a la luz UVB también se asocia a patologías como el melanoma, se ha estimado que, en términos económicos, la insuficiencia o deficiencia de vitamina resulta mucho más perjudicial debido a la incidencia incrementada otros tipos de cánceres incluyendo también el melanoma (140). No obstante, la administración de vitamina D o sus análogos para la prevención o tratamiento de ciertos cánceres como leucemia o cáncer de próstata no siempre ha arrojado resultados clínicos concluyentes (136,141).

Como se ha mencionado, los mecanismos mediante los cuales la vitamina D podría reducir la incidencia de cáncer son múltiples y numerosos genes estarían implicados. En la figura 9 se resumen brevemente algunas de las posibles vías hasta ahora expuestas. Dichas vías involucran efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antiapoptóticos y antiproliferativos.

**Figura 9.** Ejemplos de mecanismos de acción antitumorales de la vitamina D



Adaptado de (138)

### *1.11.2. Vitamina D e Inmunidad*

La relación entre la vitamina D y el sistema inmune ha sido objeto de debate durante décadas. La creciente disponibilidad de datos epidemiológicos a gran escala ha permitido que dicha relación gane peso en los últimos años. En este sentido, la deficiencia de vitamina D se ha relacionado no solo con infecciones sino también con enfermedades autoinmunes (142).

#### 1.11.2.1. Vitamina D e inmunidad innata

En 1900, Niel Finsen descubrió que la irradiación con luz ultravioleta era un método eficaz para mejorar los síntomas cutáneos propios de la tuberculosis, enfermedad históricamente relacionada con el raquitismo. Este descubrimiento le sirvió para conseguir el premio Nobel en 1903 (143). No fue hasta años más recientes que el mecanismo de acción subyacente a dicho tratamiento se ha comenzado a dilucidar.

Los seres humanos, al igual que muchos otros organismos complejos, somos capaces de generar péptidos antimicrobianos que ejercen un efecto inespecífico y que forma parte de nuestra inmunidad innata. Los más estudiados son las defensinas y las catelicidinas (143). Los genes involucrados en la expresión de estas proteínas pueden ser modulados por la activación de VDR y esta activación permite una mayor expresión de dichas sustancias defensivas en neutrófilos, monocitos y *natural killers*.

Las catelicidinas son moléculas muy eficaces contra infecciones bacterianas y fúngicas provocadas por una gran variedad de patógenos nosocomiales. En el ser humano solo existe una conocida, la catelicidina LL-37. Precisamente, niveles bajos de vitamina D se han asociado con una incidencia incrementada de enfermedades nosocomiales (144). En esta misma línea, las

defensinas como son la defensina  $\beta$ -2 y  $\beta$ -3 juegan un importante papel en la infección por *Staphylococcus aureus* entre otras patologías cutáneas (144).

En el caso de *mycobacterium tuberculosis* son la catelicidina LL-37 y las defensinas  $\beta$  las principales responsables de la actividad antimicrobiana del calcitriol. No obstante, los ensayos clínicos diseñados para evaluar el efecto de la vitamina D en el tratamiento de la tuberculosis se enfrentan a problemas éticos que dificultan la obtención de conclusiones sólidas (145).

La inmunidad innata constituye la primera barrera de nuestro organismo ante agentes patógenos externos. El reconocimiento de dichos patógenos se consigue mediante la detección de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Estos son reconocidos por receptores de reconocimiento de patógenos filogenéticamente conservados tales como los receptores tipo *Toll* (TLRs) que son expresados en monocitos entre otros muchos tipos de células (145). La activación de los TLRs conlleva síntesis de interferón y citoquinas proinflamatorias, incremento de la diferenciación dendrítica e incluso activación del sistema inmune adaptativo (146). En este sentido, el calcitriol presenta propiedades en ocasiones contradictorias.

La activación del VDR es capaz de inhibir la síntesis de TLR-2 y TLR-4 de manera dosis-dependiente, lo cual implica una respuesta inmune disminuida frente a los componentes de la pared bacteriana (147). Esta respuesta de inmunotolerancia podría jugar un papel importante en enfermedades autoinmunes (148). Por otro lado, se ha observado que TLR1,2 y 4 pueden inducir la síntesis de CYP27B1 y VDR, que posterior van a participar en la síntesis de catelicidina y defensinas ejerciendo un efecto protector contra infecciones (149). La compleja interacción entre TLR y la vitamina D es objeto de amplio debate y se cree podría jugar un papel fundamental en la modulación de la respuesta inmune materna durante el embarazo (148).

No solo se ha relacionado la vitamina D con la tuberculosis. Existe evidencia de que la exposición solar y el *status* de vitamina D se asocian con una menor prevalencia de otras patologías de carácter respiratorio tales como neumonía, bronquitis y faringitis, así como infecciones tales como otitis y sinusitis entre otras (150). Es particularmente interesante el papel que la vitamina D juega en la patología respiratoria COVID-19. En este sentido, la vitamina D podría actuar mediante distintos mecanismos en la prevención y tratamiento de dicha enfermedad pudiendo modular la “tormenta de citoquinas” que caracteriza la infección, modular la actividad de los neutrófilos, contribuir en el mantenimiento del epitelio pulmonar y estimular la reparación de dicho epitelio (151). La mayoría de los meta-análisis llevados a cabo hasta la fecha concluyen que existe una tendencia entre deficiencia de vitamina D y una mayor prevalencia y severidad de COVID-19. No obstante, dicha relación no siempre resulta ser estadísticamente significativa (151,152).

### I.11.2.2. Vitamina D e inmunidad adaptativa

La respuesta de la vitamina D frente a patógenos tales como *Mycobacterium tuberculosis* no se debe a una simple expresión incrementada de LL-37 o defensinas  $\beta$ , si no que otros apartados de la respuesta inmune también se ven involucrados en una respuesta compleja. Citoquinas producidas por linfocitos pueden estimular la respuesta inmune innata y esta a su vez puede conllevar una respuesta adaptativa recíproca (142).

Una primera asociación evidente entre calcitriol e inmunidad adaptativa se encuentra en el hecho que los linfocitos B y T expresan el receptor VDR (142). La vitamina D ejerce un efecto protector frente infecciones promoviendo la inmunidad innata. Sin embargo, el calcitriol ejerce un efecto eminentemente supresor de la inmunidad adaptativa. Dicho efecto está mediado por la inhibición de los linfocitos Th1 responsables de la producción de citoquinas proinflamatorias,

principalmente interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e interleucina 2 (IL-2). A su vez, también se ha observado que el calcitriol favorece la polarización hacia los linfocitos Th2 lo que podría implicar un papel para la vitamina D en el curso de las enfermedades autoinmunes favoreciendo un predominio humoral frente a la respuesta inmune celular (153). La vitamina D también inhibe la expresión de un tercer tipo de linfocito, el TH17, responsable de la producción de interleucina 17 (IL-17).

El efecto de la vitamina D disminuyendo la proliferación de Th1 y Th17 en favor de Th2 podría resultar beneficioso en enfermedades autoinmunes comunes como la tiroiditis de Hashimoto (154). Otras enfermedades autoinmunes que se han asociado con la vitamina D son la diabetes tipo I, esclerosis múltiple y lupus eritematoso sistémico (155).

Finalmente, algunos autores han observado que la vitamina D es capaz de incrementar la apoptosis de linfocitos B y reducir la activación de los mismos lo cual también podría jugar un papel en ciertas enfermedades autoinmunes (155).

En **resumen**, el calcitriol es capaz de modular notablemente el sistema inmune inhibiendo la cascada inflamatoria y la inmunidad adaptativa en beneficio del sistema inmunitario innato. Esto conlleva importantes implicaciones en la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas y autoinmunes (155). En relación a la gestación, la función inmunosupresora de la vitamina D durante la gestación temprana podría favorecer un menor rechazo del antígeno paterno y una mejor implantación. La producción de vitamina D por parte de la decidua permite la modulación de células *natural killers* uterinas, células dendríticas, macrófagos y linfocitos T que conlleva un ambiente inmunotolerogénico, el cual sería necesario para evitar un inicio temprano del parto o la sobreexpresión de citoquinas proinflamatorias propia de la preeclampsia (156).

I.12. Vitamina D y sistema cardiovascular

Bastantes células del sistema cardiovascular son capaces de expresar CYP27B1 permitiendo la síntesis local de calcitriol. Esto sumando a la amplia distribución del receptor VDR en estas células sugiere una posible implicación de la vitamina D en el correcto funcionamiento del sistema cardiovascular.

La inflamación es una propiedad característica de la enfermedad cardiovascular. Como se ha comentado anteriormente, el calcitriol disminuye dicha respuesta inflamatoria inhibiendo la producción de citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-2, IL6 e IL,23 así como TNF $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , inhibiendo la activación del TLR y promoviendo la síntesis de citoquinas antiinflamatorias como IL-4 e IL-10 (155). Todo esto conlleva de por sí un relevante papel en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. El ambiente tolerogénico de las células dendríticas y los linfocitos T reguladores también es favorable en la patogénesis de la aterosclerosis y tromboembolismo.

El estrés producido como consecuencia de la disfunción endotelial puede ejercer un efecto de *feedback* positivo en el receptor VDR incrementando la síntesis de CYP27B1 permitiendo la producción local de calcitriol. Esto permitiría una modulación temprana de la disfunción endotelial mediante un efecto autocrino de tal forma que el calcitriol podría inhibir la estimulación de las células endoteliales y disminuir la proliferación de las células del músculo liso vascular (155).

Diversos estudios epidemiológicos han sugerido que existe una relación entre bajos niveles de vitamina D y riesgo incrementado de infarto miocárdico y fallo cardiaco. Sin embargo, un meta-análisis reciente incluyendo más de 81.000 participantes en estudios con suplementación de vitamina D no encontró ninguna asociación con el riesgo de distintas

enfermedades de origen cardiovascular (157). Esto se puede explicar en base a que las dosis empleadas no son suficientemente altas para observar dicho efecto protector.

### *1.12.1. Vitamina D y desórdenes hipertensivos gestacionales.*

El incremento de la demanda de calcio durante el tercer trimestre de gestación presenta una relación directa con la concentración materna de calcitriol. Asimismo, la hipocalciuria gestacional se ha relacionado con un riesgo incrementado de desarrollar preeclampsia siendo empleado habitualmente como predictor temprano de la patología (157). En este sentido, la suplementación con calcio durante la gestación también se ha relacionado con un riesgo disminuido de desarrollar hipertensión gestacional y preeclampsia (158). Finalmente, el calcitriol se sintetiza en decidua y placenta y podría facilitar el transporte de calcio placentario para favorecer el crecimiento fetal (159). Todo ello lleva a pensar que la deficiencia de calcitriol puede jugar un papel en la etiología de los desórdenes hipertensivos del embarazo mediante un mecanismo dependiente de calcio. Sin embargo, son muy pocos los estudios llevados a cabo hasta la fecha que hayan complementado el análisis sanguíneo de calcidiol o calcitriol con el de otros marcadores afines al metabolismo de la vitamina D como son calcio y hormona paratiroidea lo cual podría ayudar a diluir dicho mecanismo de acción.

En contraposición al mecanismo mediado por calcio descrito, en la actualidad ha ganado relevancia la hipótesis de que la vitamina D podría jugar un papel protector frente a la preeclampsia mediante sus funciones inmunomoduladoras y antiinflamatorias. El principal mecanismo mediante el cual la deficiencia de vitamina D promovería el desarrollo de preeclampsia lo constituiría el desbalance hacia linfocitos Th1 que conllevaría el predominio de un ambiente proinflamatorio (160). No obstante, múltiples mecanismos de respuesta inmune innata y adaptativa contribuirían en dicho proceso dando lugar a una respuesta compleja. En este

sentido, la preeclampsia suele cursar con concentraciones incrementadas de citoquinas proinflamatorias TNF- $\alpha$  e IL-6 así como concentraciones disminuidas de citoquinas antiinflamatorias tales como IL-10 (161). Dado que la vitamina D es capaz de disminuir la concentración de TNF- $\alpha$  e IL-6 en beneficio de la concentración de citoquinas antiinflamatorias podría ejercer un mecanismo protector frente a la preeclampsia a nivel inmune.

A nivel de la disfunción endotelial, el calcitriol es capaz de estimular la proliferación de los vasos sanguíneos promoviendo la expresión de VEGF siendo este uno de los principales biomarcadores empleados en el diagnóstico de la preeclampsia (162).

En la preeclampsia, existe una disminución de los niveles plasmáticos de angiotensina I, II y aldosterona. Asimismo, el calcitriol presenta una relación inversa con la actividad de la renina plasmática. Por lo tanto, los metabolitos de la vitamina D podrían prevenir en parte la desregulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona propia de la preeclampsia responsable del incremento de la tensión arterial (162).

Finalmente, el estrés oxidativo es consecuencia del metabolismo placentario y se potencia durante la preeclampsia. En este sentido, la vitamina D presenta propiedades antioxidantes en células endoteliales. Se ha observado que el calcitriol es capaz de regular el glutatión peroxidasa y la superóxido dismutasa reduciendo la producción de especies reactivas de oxígeno (163).

La preeclampsia se considera un desorden hipertensivo que cursa con dos fases: implantación placentaria defectuosa y respuesta inflamatoria materna (162). En la tabla 4 se resumen los posibles mecanismos de acción de la vitamina D en la etiología de la preeclampsia en base a dichas fases.

**Tabla 4.** Efectos potenciales de la vitamina D en la etiología de la preeclampsia

Fases de la preeclampsia	Características de la preeclampsia	Efectos de la vitamina D
<b>Fase I</b>	Implantación placentaria defectuosa asociada a la inflamación	Menor predisposición a la respuesta inflamatoria Regulación de genes asociados a la invasión placentaria y la implantación normal
<b>Fase II</b>	Disfunción vascular endotelial	Aumento de la elasticidad vascular y espesor del complejo intima media.  Disminución de la presión sanguínea mediante regulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona Disminución del estrés oxidativo
	Proteinuria	Aumento de la proliferación celular vascular y aumento de la expresión de VEGF

*Adaptado de (162)*

### I.13. Vitamina D y homeostasis de la glucosa

Diversos estudios han observado que concentraciones suficientes de vitamina D se asocian a una normalización de la homeostasis de la glucosa y una resistencia fisiológica a la insulina (164). Estudios observacionales han propuesto que los niveles plasmáticos disminuidos de calcidiol se podrían relacionar con un riesgo incrementado de la progresión de prediabetes a diabetes mellitus (165). No obstante, el mecanismo exacto mediante el cual la vitamina D influiría en los niveles de glucosa plasmáticos no está claro. En este sentido, la secreción de insulina es dependiente de calcio y los niveles de hormona paratiroidea plasmática suelen mantener una relación inversa con la sensibilidad a la insulina. Asimismo, ensayos preclínicos han observado un efecto protector de la vitamina D en la destrucción de las células  $\beta$

pancreáticas (164,166). Aunque el mecanismo exacto no estaría definido, se trataría de una combinación de factores incluyendo: protección de las células  $\beta$  pancreáticas, regulación intracelular de calcio y atenuación de la inflamación sistémica (167). Estos datos abren la puerta a un posible papel de la vitamina D en las distintas formas de la diabetes mellitus. Sin embargo, los ensayos clínicos llevados a cabo hasta la fecha no han arrojado resultados concluyentes y se alejan en gran medida de los resultados obtenidos por estudios observacionales (165).

### *1.13.1. Vitamina D y diabetes mellitus gestacional*

Numerosos autores han relacionado la deficiencia de vitamina D y la prevalencia de diabetes mellitus gestacional. No obstante, es habitual encontrar conflictos entre los resultados reportados por estudios observacionales y ensayos clínicos. Normalmente dichas discrepancias se atribuyen a la heterogeneidad en términos de factores confusores considerados en el diseño de dichos estudios (167).

El mecanismo de acción mediante el cual la vitamina D podría proteger ante el desarrollo de diabetes mellitus gestacional sería similar a aquellos comentados en relación a la homeostasis de la glucosa destacando por tanto la protección de las células  $\beta$  pancreáticas, regulación del calcio intracelular y prevención de la inflamación asociada a la resistencia a la insulina (167). Pese a que el papel protector de la vitamina D frente a la DMG presenta una base teórica son muy pocos los estudios que han evaluado como el metabolismo de la vitamina D, y en especial las concentraciones incrementadas de calcitriol durante la gestación debido a su síntesis placentaria, puede influir en la etiología de dicha alteración del embarazo (168).

Una reciente revisión de Cochrane meta-analizó los resultados de cuatro estudios de intervención que evaluaron el efecto de la suplementación con vitamina D en la prevalencia de

DMG. Los resultados pusieron de manifiesto que la vitamina D probablemente reduce el riesgo de DMG. No obstante, el nivel de evidencia fue moderado y el número de estudios bajo (169).

### I.14. Vitamina D y resultados adversos perinatales

Durante el embarazo, la vitamina D se ha relacionado con multitud de resultados maternos, obstétricos y perinatales. Es tal la variedad de resultados adversos a los que se ha asociado la vitamina D que algunos autores consideran su deficiencia sencillamente como un marcador de salud materna empobrecida (170). No es por tanto sorprendente que la relación entre concentración materna de calcidiol y la duración del embarazo hayan sido también objeto de estudio.

Tal y como se ha comentado, el calcitriol presenta importantes funciones inmunomoduladoras las cuales pueden cobrar especial relevancia durante la gestación. El embarazo requiere de un delicado equilibrio inmunotolerogénico y proinflamatorio con objeto de adecuar las distintas fases del mismo. El comienzo del embarazo se caracteriza por un proceso proinflamatorio de carácter local mediante el cual se favorece la implantación fetal. Conforme progresa el embarazo se establece un estado de tolerancia hacia el antígeno paterno y disrupciones en dicho estado pueden conllevar pérdida de bienestar fetal y aborto espontáneo. Este estado de tolerancia inmunológica debe mantenerse hasta el tercer trimestre gestacional en el cual ha de generarse un cambio proinflamatorio que desencadene el proceso del parto (171).

Entre las causas etiológicas principales del parto prematuro se encuentra la infección y la consecuente inflamación. Los microorganismos causantes de dicha infección mediante la activación de los receptores tipo *Toll* incrementan la expresión de citoquinas proinflamatorias IL-

1, IL6 y TN- $\alpha$  lo que puede desembocar en un incremento de la contractilidad uterina, remodelado de la matriz extracelular y ruptura de la estructura cérvix-fetal. Todo ello puede desembocar en ruptura de membranas y parto prematuro (172).

Como se ha comentado, el calcitriol reduce la expresión de citoquinas proinflamatorias e induce la síntesis de catelicidina y defensinas promoviendo la inmunidad innata pudiendo ejercer un efecto protector en el parto prematuro mediado por procesos infecciosos. En este sentido, un estudio retrospectivo llevado a cabo en 82.213 parto únicos observó que la incidencia de parto prematuro dependía significativamente de la estacionalidad siendo más habitual en los meses de invierno y primavera, meses en los cuales la incidencia solar y, por tanto, la síntesis materna de vitamina D es menor (173). Asimismo, en países como E.E.U.U, la incidencia de parto prematuro en mujeres afro-americanas casi dobla la incidencia en mujeres de raza blanca. Si bien dicha relación podría deberse a factores sociodemográficos, es razonable pensar que la concentración cutánea de melanina y su consecuente impacto en la concentración materna de vitamina D podría jugar un papel relevante (174).

En relación al crecimiento fetal, son diversos los estudios que han observado una tendencia hacia concentraciones reducidas de vitamina D durante la gestación y una mayor prevalencia de crecimiento intrauterino retardado y PEG. No obstante, los resultados son en ocasiones discrepantes variando incluso entre distintos meta-análisis (175). Dicha asociación depende en gran medida de factores sociodemográficos como raza/etnicidad, paridad, estacionalidad, IMC y estado socioeconómico (176).

El calcitriol mediante la activación de su receptor VDR podría jugar un papel en el desarrollo fetal a nivel de regulación genética. En este sentido, distintos polimorfismos de un nucleótido del receptor VDR se han asociado con un riesgo incrementado de PEG en poblaciones

de raza negra (177). Dichos polimorfismos podrían influir en la homeostasis del calcio y en la expresión de enzimas reguladoras de procesos de diferenciación e invasión celular. Entre estos polimorfismos destaca FokI que se ha relacionado con una mayor prevalencia de PEG y parto prematuro (178) así como con un riesgo incrementado de diabetes mellitus gestacional (179).

La relación entre vitamina D y resultados perinatales suele describirse de manera aislada sin considerarse otros metabolitos relacionados con el metabolismo de la vitamina D como son la hormona paratiroidea, el calcio o el fósforo. En este sentido, algunos autores han descrito el concepto de hiperparatiroidismo secundario resultado de la elevación de PTH debido a una disminución en los niveles plasmáticos de calcidiol o la ingesta reducida de calcio el cual desembocar en un estrés metabólico de calcio que podría conllevar un crecimiento fetal disminuido (180,181). No obstante, este concepto ha sido poco explorado en la literatura actual.

### En resumen

La vitamina D, y en particular su metabolito más activo, el calcitriol, mediante la activación del receptor VDR no solo regula la homeostasis del fósforo y el calcio jugando un papel crucial en el metabolismo óseo, sino que también participa en gran medida en el correcto funcionamiento del sistema inmune y en el equilibrio inflamatorio pudiendo estar su deficiencia relacionada con enfermedades de diversa índole.

Durante el embarazo, la concentración plasmática de calcitriol se incrementa notablemente debido en gran medida a su síntesis placentaria. Sin embargo, estos niveles no se corresponden directamente con los niveles de calcio u hormona paratiroidea maternos lo cual sugiere un papel secundario para la vitamina D durante el embarazo. Ensayos *in vitro* e *in vivo* han observado que la vitamina D promueve un equilibrio inmune protolerogénico disminuyendo la expresión de linfocitos Th1 y Th17 hacia un predominio Th2 y promueve la inmunidad innata favoreciendo la síntesis y expresión de catelicidina humana y defensinas  $\beta$ . Todo ello podría tener una importante repercusión en el delicado equilibrio inmunológico que acontece durante el embarazo pudiendo repercutir la deficiencia de vitamina D en el desarrollo de crecimiento fetal restringido y parto prematuro. Asimismo, la inhibición de la expresión de factores proinflamatorios tales como TFG- $\beta$ 1 e interleucina-6 en conjunto con las propiedades antioxidantes de la vitamina D podrían ejercer un efecto preventivo en la etiología de algunos resultados adversos maternos durante el embarazo destacando por su especial gravedad la preeclampsia.

Los estudios llevados a cabo hasta la fecha han observado una relación entre la deficiencia materna de vitamina D durante el embarazo y una mayor prevalencia de resultados adversos materno-fetales tales como diabetes mellitus gestacional, preeclampsia, parto

pretérmino y crecimiento intrauterino retardado. Nos obstante, los resultados de los estudios observacionales no son consistentes y los ensayos clínicos realizados hasta la fecha no han arrojado resultados concluyentes. Diversos factores confusores tales como la etnicidad, edad gestacional en el momento del muestreo, latitud y exposición solar, obesidad y tabaquismo podrían influenciar en gran medida dicha asociación pudiendo incrementar la heterogeneidad metodológica de los estudios.

La vitamina D es una prohormona que presenta un metabolismo complejo. La mera medición de calcidiol durante la gestación podría ser un marcador insuficiente para evaluar el estado de la vitamina D en la madre. Sin embargo, son muy escasos los estudios que han evaluado otros metabolitos de interés como son calcio, fósforo y hormona paratiroidea. Aunque la concentración plasmática de calcitriol no se relaciona con la hormona paratiroidea durante la gestación, la concentración de calcidiol mantiene una relación inversa. En particular, diversos autores han sugerido que la vitamina D podría influenciar los resultados del parto mediante un mecanismo ligado al estrés metabólico del calcio como consecuencia de hipoparatiroidismo secundario. El análisis en conjunto de calcidiol, calcio, fósforo y hormona paratiroidea sería de utilidad para dilucidar dicho mecanismo.

## II. OBJETIVOS



II.1. Objetivos generales

*II.1.1. Evaluar la evidencia científica actual sobre la asociación entre deficiencia e insuficiencia materna de vitamina D y la prevalencia de preeclampsia y parto prematuro.*

*II.1.2. Contrastar la relación entre deficiencia materna de vitamina D y la prevalencia de parto prematuro durante el embarazo temprano en una cohorte de estudio de la población de Granada.*

*II.1.3. Analizar el papel que otros metabolitos relacionados con el metabolismo de la vitamina D tales como hormona paratiroidea, calcio y fósforo juegan en su asociación con los resultados adversos perinatales siendo estos parto prematuro, bajo peso al nacer y pequeño para su edad gestacional.*

II.2. Objetivos específicos

*II.2.1. Sintetizar la literatura científica más actual sobre la deficiencia e insuficiencia de vitamina D durante la gestación y su relación con el parto prematuro y la preeclampsia mediante una revisión sistemática de estudios de intervención y observacionales.*

*II.2.2. Meta-analizar los resultados obtenidos por los estudios recogidos en la revisión sistemática en base a los diseños de dichos estudios y los puntos de corte empleados para definir la deficiencia e insuficiencia materna de vitamina D.*

- II.2.3. Analizar la asociación entre deficiencia materna de vitamina D durante el primer trimestre gestacional y la prevalencia de parto prematuro en una cohorte de estudio representativa con seguimiento prospectivo.*
- II.2.4. Evaluar el impacto que la deficiencia materna de vitamina D durante el primer trimestre de gestación ejerce en la prevalencia de bajo peso al nacer.*
- II.2.5. Estudiar el papel que la hormona paratiroidea, el calcio y el fósforo pueden jugar en la prevalencia de dichos resultados adversos perinatales en relación a la concentración materna de vitamina D durante el primer trimestre de gestación.*

# III. METODOLOGÍA



El presente Proyecto de Tesis Doctoral con formato clásico está compuesto de dos modelos de estudio: una revisión sistemática con meta-análisis siguiendo las recomendaciones de la declaración PRISMA y un estudio de cohortes prospectivo desarrollado en el hospital Virgen de las Nieves de Granada, España.

### III.1. Revisión sistemática y meta-análisis

Se llevó a cabo una revisión sistemática siguiendo las recomendaciones de la declaración PRISMA. La declaración PRISMA consiste en una serie de criterios y recomendaciones creadas con el propósito de optimizar la interpretación de los resultados de las revisiones sistemáticas y meta-análisis, mejorando su calidad y claridad (182). La presente revisión sistemática se registró en el Registro Internacional Prospectivo de Revisiones Sistemática (PROSPERO) bajo el número de registro: “CRD42019136318”.

#### *III.1.1. Estrategia de búsqueda*

Se efectuó una búsqueda automatizada en las bases de datos de PubMed (Medline) y Web of Science y se exploró la plataforma de búsqueda ScienceDirect. El rango temporal se restringió a enero de 2013 – febrero de 2019 con objeto de abarcar únicamente los estudios más recientes. El idioma fue restringido al inglés y los términos de búsqueda empleados fueron definidos según los descriptores de ciencias de la salud (MeSh), de acuerdo a las características de la base de datos consultada y en base los PICOS seleccionados para el estudio (*Participants, Interventions, Comparisons, Outcomes, Study Design*) La estrategia de búsqueda para la presente revisión sistemática queda recogida en la tabla 5.

**Tabla 5.** Estrategia de búsqueda y descriptores empleados

Búsqueda	Base de Datos	Resultados
“Vitamin D” OR “25-hidroxyvitamin D” OR “25(OH)D” OR “Cholecalciferol” AND “Preterm birth” OR “Prematurity” OR “PTB”	PubMed	10,172
“Vitamin D” OR “25-hidroxyvitamin D” OR “25(OH)D” OR “Cholecalciferol” AND “Preeclampsia” OR “Pre-Eclampsia” OR “Pre eclampsia” OR “Maternal hypertension” OR “Gestational hypertension” OR “Hypertensive disorder of pregnancy”	PubMed	8,942
("Vitamin D"[Mesh]) AND "Pre-Eclampsia"[Mesh]	PubMed	91
("Vitamin D"[Mesh]) AND "Premature Birth"[Mesh]	PubMed	11
"Vitamin D" AND "preeclampsia"	SCIENCEDIRECT	870
“Vitamin D” AND “prematurity”	SCIENCEDIRECT	4,399
"Vitamin D" AND "preterm birth"	SCIENCEDIRECT	679
“Vitamin D” AND “preeclampsia”	Web of Science	534
“Vitamin D” AND “prematurity”	Web of Science	391
“Vitamin D” AND “preterm birth”	Web of Science	259

### III.1.2. Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron en la presente revisión estudios observacionales y de intervención, publicados en inglés, entre 2013 y 2019, que aporten cifras de prevalencia de preeclampsia y/o prematuridad y que hayan administrado suplementos de vitamina D y/o analizado vitamina D en forma de 25-hidroxivitamina D2, D3 o total. Los PICOS seleccionados fueron los siguientes:

- Población: mujeres embarazadas independientemente de su edad gestacional.
- Intervención o exposición: suplementación con vitamina D2 o D3 independientemente de la dosis, vehículo de administración, vía de administración o coadministración con calcio.

Deficiencia o insuficiencia materna de vitamina D definida como concentraciones maternas de 25-hidroxivitamina D inferiores a 20 ng/mL o 30 ng/mL respectivamente. Otros puntos de corte fueron considerados para su discusión.

- Comparación: comparación con grupo placebo o control en estudio de intervención independientemente del cegamiento o proceso de aleatorización. Comparación con mujeres sanas en estudios observacionales.
- Resultado: preeclampsia y prematuridad (<37 semanas de gestación). Otras categorías tales como parto muy prematuro (<32 semanas de gestación), preeclampsia severa y preeclampsia de inicio temprano fueron consideradas para su discusión.
- Diseño del estudio: estudios observacionales (cohortes, caso-control, caso-cohorte, transversal) y estudios de intervención controlados (ciego, doble ciego, sin cegamiento, y aleatorizados).

Los criterios de exclusión seleccionados para el presente estudio fueron: estudios que incluyeron únicamente mujeres embarazadas con patologías o alteraciones específicas previas (p.ej. mujeres con diabetes mellitus gestacional), estudios basados en análisis genéticos (p.ej. análisis genético del receptor VDR), estudios en modelos animales.

### *III.1.3. Extracción de datos*

Los datos de los artículos incluidos en la presente revisión fueron extraídos conforme a una plantilla previamente creada para tal propósito que incluía los siguientes apartados: fecha de realización del estudio, fecha de publicación, objetivo del estudio, diseño del estudio, características de la intervención (si corresponde), características de los grupos de estudio, tipo de muestra biológica, periodo y frecuencia de muestreo, metabolitos de vitamina D analizados y método analítico empleado, resultados estadísticos (razón de momios o intervalo de confianza

del 95%), factores confusores considerados, ajuste estadístico realizado, conclusiones del autor y coordenadas obtenidas mediante el software Google Earth Engine™.

### *III.1.4. Evaluación de calidad*

La revisión de la calidad metodológica de los artículos incluidos en la revisión fue analizada empleado la herramienta de riesgo de sesgo de Cochrane para ensayos clínicos controlados aleatorizados (183) y mediante la herramienta de Newcastle-Ottawa (NOS) para estudios observacionales de cohortes y caso-control (184). Finalmente, se empleó una escala modificada para estudios transversales con ocho estrellas de calificación máxima (184). Una puntuación de siete estrellas en la escala de NOS fue considera “alta calidad metodológica” o “bajo riesgo de sesgo” para estudios longitudinales siendo seis estrellas su equivalente en la escala modificada para estudios transversales. Los criterios seleccionados para la escala de NOS de estudios longitudinales quedan recogidos en las tablas 6 y 7.

**Tabla 6.** Criterios de la escala de Newcastle-Ottawa para estudios de caso-control.

Selección	Acceptable
¿Es la definición de caso adecuada?	Los casos se obtuvieron del historial médico, diagnosticados por el equipo del hospital o por validación independiente.
¿Son los casos representativos?	Los casos son representativos de la mujer embarazada promedio de la comunidad (estudios basados en poblaciones con patologías específicas previas no fueron incluidos en la revisión).
Selección de los controles	Los controles fueron reclutados en el mismo entorno que los casos.
Definición de los controles	Los participantes no tenían historial previo de la alteración o enfermedad.
Comparabilidad	Acceptable
Los casos y los controles eran comparables de acuerdo al diseño o tipo de análisis incluido en el estudio.	Tanto los casos como los controles fueron emparejados o el resultado fue ajustado a 2-3 factores confusores seleccionados (1 estrella). Tanto los casos como los controles fueron emparejados o el resultado fue ajustado a 4 o más factores confusores seleccionados (2 estrellas). <b>Factores confusores:</b> Edad materna, índice de masa corporal, etnicidad o raza, paridad, estacionalidad y suplementación con vitamina D previa.
Exposición	Acceptable
¿Se midió correctamente la exposición?	El análisis de 25-hidroxivitamina D y/o de sus metabolitos se realizó mediante un método validado (p.ej. LC-MS, ELISA, CLIA, RIA etc.)
¿Se empleó el mismo método para casos y controles?	Si.
Tasa de no respuesta	Misma tasa para ambos grupos.

*CLIA: Cromatografía Líquida en Tándem con Espectrometría de Masas; ELISA: Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas; LC-MS: Cromatografía Líquida – Espectrometría de Masas; RIA: Radioinmunoensayo.*

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 7.** Criterios de la escala de Newcastle-Ottawa para estudios de cohortes.

Selección	Aceptable
Representatividad de la cohorte expuesta	La cohorte es representativa de la mujer embarazada promedio en la comunidad.
Selección de la cohorte no expuesta	La cohorte no expuesta fue obtenida del mismo entorno que la cohorte expuesta.
Evaluación de la exposición	El análisis de 25-hidroxivitamina D y/o de sus metabolitos se realizó mediante un método validado (p.ej. LC-MS, ELISA, CLIA, RIA etc.)
Demostración de que el resultado objeto de estudio no estaba presente al comienzo del estudio	Los estudios centrados en la preeclampsia con un periodo de reclutamiento superior a las 20 semanas de gestación debían mencionar que los participantes no presentaban signos propios de dicha alteración del embarazo.
Comparabilidad	Aceptable
Comparabilidad de las cohortes en base al diseño de estudio o análisis	Tanto los casos como los controles fueron emparejados o el resultado fue ajustado a 2-3 factores confusores seleccionados (1 estrella). Tanto los casos como los controles fueron emparejados o el resultado fue ajustado a 4 o más factores confusores seleccionados (2 estrellas). <b>Factores confusores:</b> Edad materna, índice de masa corporal, etnicidad o raza, paridad, estacionalidad y suplementación con vitamina D previa.
Resultado	Aceptable
¿Se midió correctamente el resultado?	Los resultados fueron obtenidos del historial médico, mediante validación independiente o diagnosticados por el equipo del hospital.
¿Fue el seguimiento suficientemente largo para dar lugar a los resultados?	Seguimiento hasta el momento del parto.
Seguimiento de la cohorte de estudio	Las pérdidas de seguimiento fueron inferiores al 20% de la cohorte original de estudio.

CLIA: Cromatografía Líquida en Tándem con Espectrometría de Masas; ELISA: Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas; LC-MS: Cromatografía Líquida – Espectrometría de Masas; RIA: Radioinmunoensayo.

### III.1.5. Síntesis de datos

De los estudios incluidos en la revisión sistemática, solo aquellos con diseño longitudinal y que proporcionaron datos suficientes para el cálculo de *odds ratios* (ORs), fueron incluidos en la síntesis de datos cuantitativa (meta-análisis). Se empleó esta estrategia con objeto de minimizar el sesgo debido a la heterogeneidad metodológica de los estudios incluidos.

El análisis estadístico fue llevado a cabo empleando el software Review Manager en su versión 5.3 (RevMan<sup>TM</sup>. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014). Se crearon tablas 2x2 con objeto de comparar los resultados relativos a la asociación entre concentraciones de vitamina D <50 nmol/L (20 ng/mL) y <75 nmol/L (30 ng/mL) con la prevalencia de preeclampsia y prematuridad. Los resultados del meta-análisis se reportaron como OR agrupado (*pooled OR*) junto con su intervalo de confianza del 95% y su peso estimado empleando *forest plots*.

Los datos relativos a los resultados de cada estudio fueron combinados empleando el método de Mantel-Haenszel. Se emplearon modelos de efectos fijos y aleatorios y sus respectivos resultados fueron comparados. Esta estrategia se seleccionó con objeto de evaluar si la heterogeneidad metodológica de los estudios podría influenciar notablemente las asociaciones resultantes (185). La heterogeneidad en los resultados obtenidos por los estudios se evaluó empleando las pruebas de  $I^2$  y  $\chi^2$ . Valores de  $I^2$  <25%, 25%–49%, 50%–75% y > 75% fueron considerados como heterogeneidad baja, moderada, alta y muy alta respectivamente. Con objeto de evitar una infravaloración de la heterogeneidad en los análisis con bajo número de estudios o pequeños tamaños muestrales, p-valores de  $\chi^2$  <0.10 se consideraron estadísticamente significativos (186). Se llevaron a cabo análisis subgrupo en base al diseño de estudio en aquellos casos en los que la heterogeneidad fuese superior al 50%. De esta forma se analizaron

independientemente estudios de cohortes, de caso control y de intervención. Finalmente, el sesgo de publicación fue evaluado visualmente mediante la creación de *funnel plots*.

### III.2. Estudio de cohortes prospectivo

Se llevó a cabo un estudio de cohortes prospectivo en el Complejo Hospitalario Virgen de las Nieves de Granada, España, en el cual se asistieron un total de 2.956 partos en 2019. Las mujeres fueron reclutadas entre 2018 y 2019 y se llevó a cabo un seguimiento prospectivo desde las semanas 10-12 de gestación hasta un mes postparto.

El presente estudio contó con la aprobación del comité de ética de la Universidad de Granada, número 72-2015 y fue ejecutado de acuerdo a los principios de la Declaración de Helsinki, revisados en Fortaleza, Brasil, en 2003. Con objeto de reportar los resultados del presente estudio de cohortes se siguieron las directrices de la declaración STROBE para estudios de cohortes (187).

#### III.2.1. Datos de las participantes

Las mujeres participantes en el estudio fueron captadas durante su primera visita rutinaria prenatal en las consultas de obstetricia y ginecología del hospital Virgen de las Nieves. Los criterios de inclusión para participar en el presente estudio fueron:

- Mujeres embarazadas mayores de 16 años.
- Capacidad para entender y hablar español.
- Capacidad para firmar el consentimiento informado.
- Encontrarse entre la semana 10 y 12 de gestación determinada mediante ultrasonografía.

El único criterio de exclusión para la participación en el estudio consistió en tener intención de dar a luz en un hospital privado o en otra provincia. En relación al análisis de datos, fueron excluidas de este aquellas mujeres que se sometieron a interrupción voluntaria del embarazo, que presentaban embarazo múltiple o que sufrieron aborto o muerte fetal.

El tamaño muestral se calculó en base a los resultados obtenidos por un estudio previo desarrollado por Pérez-Ferre y cols., quienes observaron una prevalencia de parto prematuro en mujeres con deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL) del 22.9% y una prevalencia de parto prematuro en mujeres con suficiencia de vitamina D (>20 ng/mL) del 8.25%. Estas cifras conllevan una ratio suficiencia/deficiencia de 0.69 (187). Con objeto de obtener una potencia del 80% para detectar diferencias en la hipótesis nula “ $H_0: p_1 = p_2$ ”, usando la prueba de  $\chi^2$  con un intervalo de confianza del 95%, estimamos un tamaño muestral necesario de 203 participantes. Dado el diseño prospectivo del estudio, consideramos un 20% de posibles pérdidas de seguimiento. Finalmente, el tamaño muestral mínimo calculado para el presente estudio fue de 244 participantes.

Las características sociodemográficas de las participantes se recogieron durante el reclutamiento por medio de la entrevista personal y del historial clínico. Las variables consideradas fueron edad materna, índice de masa corporal pregestacional (IMC), tabaquismo durante la gestación (categorizado como más de un cigarrillo al día o ninguno), paridad y gravidez, historial de embarazos previos; resultados adversos perinatales, preeclampsia, diabetes mellitus gestacional, casos de aborto espontáneo y aborto retenido, etnicidad y estacionalidad del muestreo.

Los resultados adversos perinatales estudiados fueron: bajo peso al nacer, bebé pequeño para su edad gestacional y parto prematuro. Valores de IMC superiores a 30 fueron considerados

obesidad. Los datos relativos a la suplementación con vitamina D durante el primer trimestre de gestación no fueron recogidos en base a que, en España, debido a la ausencia de política de suplementación prenatal con vitamina D, dicha suplementación es poco habitual y no debería alterar los resultados del estudio (188).

### *III.2.2. Variables clínicas y bioquímicas*

Las muestras de sangre materna fueron obtenidas durante la semana del reclutamiento. El muestreo se realizó mediante venopunción y se conservaron en tubos con anticoagulante (EDTA) para luego ser inmediatamente transportadas al laboratorio para su análisis bioquímico.

Calcidiol y hormona paratiroidea intacta 1-84 (PTH) se analizaron mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia (CMIA) usando el analizador Alinity I® (Abbot, Wiesbaden, Alemania). El análisis mediante CMIA se basa en el uso de micropartículas paramagnéticas envueltas con anticuerpos. En relación a la 25-hdroxivitamina D, en primer lugar, se separa la proteína transportadora de vitamina D (DBP) para ser posteriormente mezclada con las partículas envueltas de anticuerpo para la vitamina D. El complejo se marca posteriormente con acridinio y el conjugado es incubado para ser posteriormente eludido. La relación entre luz de quimioluminiscencia medida en unidades de luz relativas (RLU) y la concentración de 25-hdroxivitamina D o, en su caso PTH, es calculada. El límite de detección para el ensayo de 25-hdroxivitamina D es 3,5 ng/mL y su coeficiente de variación intra-ensayo es de 3,6% a 39,8 ng/mL. En el caso de la PTH, el límite de detección del ensayo es de 0,5 pg/mL y su coeficiencia de variación intra-ensayo es del 2,6% a los 63,8 pg/mL.

El calcio y el fosforo se midieron usando un analizador Alinity C® (Abbott, Wiesbaden, Alemania). El calcio se analizó mediante ensayo colorimétrico por arsenazo-III con absorbancia

a 660 nm. En cambio, el fósforo se analizó mediante ensayo por fosfomolibdato midiendo absorbancia a 340 nm.

La deficiencia de vitamina D se definió como concentraciones séricas de 25-hidroxivitamina D  $<20$  ng/mL mientras que la insuficiencia se definió como concentraciones séricas de 25-hidroxivitamina D  $<30$  ng/mL. En relación a la PTH, no existe consenso sobre los puntos de corte que definen elevadas concentraciones durante la gestación. Por este motivo, se consideraron elevadas concentraciones de PTH a concentraciones plasmáticas  $\geq 31,9$  pg/mL en base al percentil 80 de la población de estudio.

Durante el seguimiento prospectivo, se diagnosticaron los casos de preeclampsia de acuerdo a los criterios del ISSHP, siendo estos los más ampliamente aceptados en la actualidad (189). Dicho diagnóstico se realizó empleando medidas repetitivas y tensiómetros automáticos validados. Valores de presión sistólica/diastólica *de novo*  $>140/90$  mmHg fueron considerados episodio hipertensivo gestacional y se evaluó la presencia de proteinuria u otros signos de la preeclampsia. Se definió como proteinuria significativa a una ratio proteína-creatinina superior a 0,3 mg/mg. La cantidad de proteínas en orina se analizó mediante turbidimetría con cloruro de bencetonio mientras que la concentración de creatinina se determinó mediante ensayo colorimétrico con picrato alcalino. Los casos de diabetes mellitus gestacional fueron detectados en base a los valores resultantes de la prueba de O'Sullivan y de tolerancia oral a la glucosa entre las semanas 24 y 28 de gestación (53). El análisis de glucosa plasmática se realizó empleando la prueba de la hexoquinasa/gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa.

Los datos relativos a los casos de aborto espontáneo, aborto retenido y muerte fetal fueron recogidos del historial clínico de las participantes a través del programa DIRAYA del hospital Virgen de las Nieves. Bajo peso al nacer se consideró a aquellos recién nacidos vivos

con menos de 2.500 gramos de peso en el momento del parto mientras que parto prematuro se consideraron a aquellos recién nacidos vivos con menos de 37 semanas completas de gestación. En esta misma línea, los casos de pequeño para su edad gestacional se definieron como recién nacidos vivos con peso al nacer inferior al percentil 10 para su edad. Dichos percentiles se calcularon en base a los valores de referencia para la población española según tipo de parto, género y paridad, obtenidos en 2010-2014 por Terán y cols., (190).

### *III.2.3. Análisis estadístico*

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo empleando el software SPSS en su versión 25 (IBM corp®, Armonk NY, USA). La normalidad de las variables continuas se examinó usando la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables categóricas se reportaron como porcentajes mientras que las variables continuas se reportaron como media  $\pm$  desviación estándar o mediana y rango intercuartílico en base a los resultados de la prueba de normalidad. Las diferencias entre las participantes en base a los puntos de corte de vitamina D elegidos para el presente estudio fueron analizados empleando la prueba de chi-cuadrado de Pearson ( $\chi^2$ ) en el caso de las variables categóricas y empleando la prueba U de Mann-Whitney en el caso de las variables continuas. El coeficiente de correlación de Spearman se empleó para evaluar la fuerza de la asociación entre la concentración sérica de vitamina D y la concentración de PTH, calcio y fósforo en el primer trimestre de gestación. Para cada resultado del estudio se aplicaron análisis bivalente y multivalente con objeto de evaluar la influencia de posibles factores confusores seleccionados en base a la literatura. Las variables con p-valor  $<0,20$  en el análisis bivalente fueron seleccionadas para su ajuste en el modelo multivalente. Dicho punto de corte se seleccionó en base a la literatura científica (191,192). Otras variables que pudiesen influir en la asociación y que estuviesen claramente respaldadas por la literatura científica fueron

consideradas cuando fue necesario. *Odds ratios* con su intervalo de confianza del 95% fueron calculados para cada resultado y biomarcador empleando modelos de regresión logística bivariante y multivariante. En dichos modelos de regresión logística la hormona paratiroidea, calcio y fósforo fueron analizados como variables continuas mientras que la deficiencia de vitamina D fue analizada como variable dicotómica ( $<20$  ng/mL /  $\geq$  ng/mL).

Finalmente, se llevaron a cabo modelos ajustados y no ajustados de regresión logística binaria con objeto de examinar las distintas asociaciones entre concentraciones de vitamina D maternas  $<20$  ng/mL y  $<30$  ng/mL a lo largo del percentil 80 de PTH con la prevalencia de parto prematuro, bajo peso al nacer y pequeño para su edad gestacional en la cohorte de estudio. Se empleó un análisis de sensibilidad para evaluar la consistencia de los resultados empleando el percentil 75 de PTH.

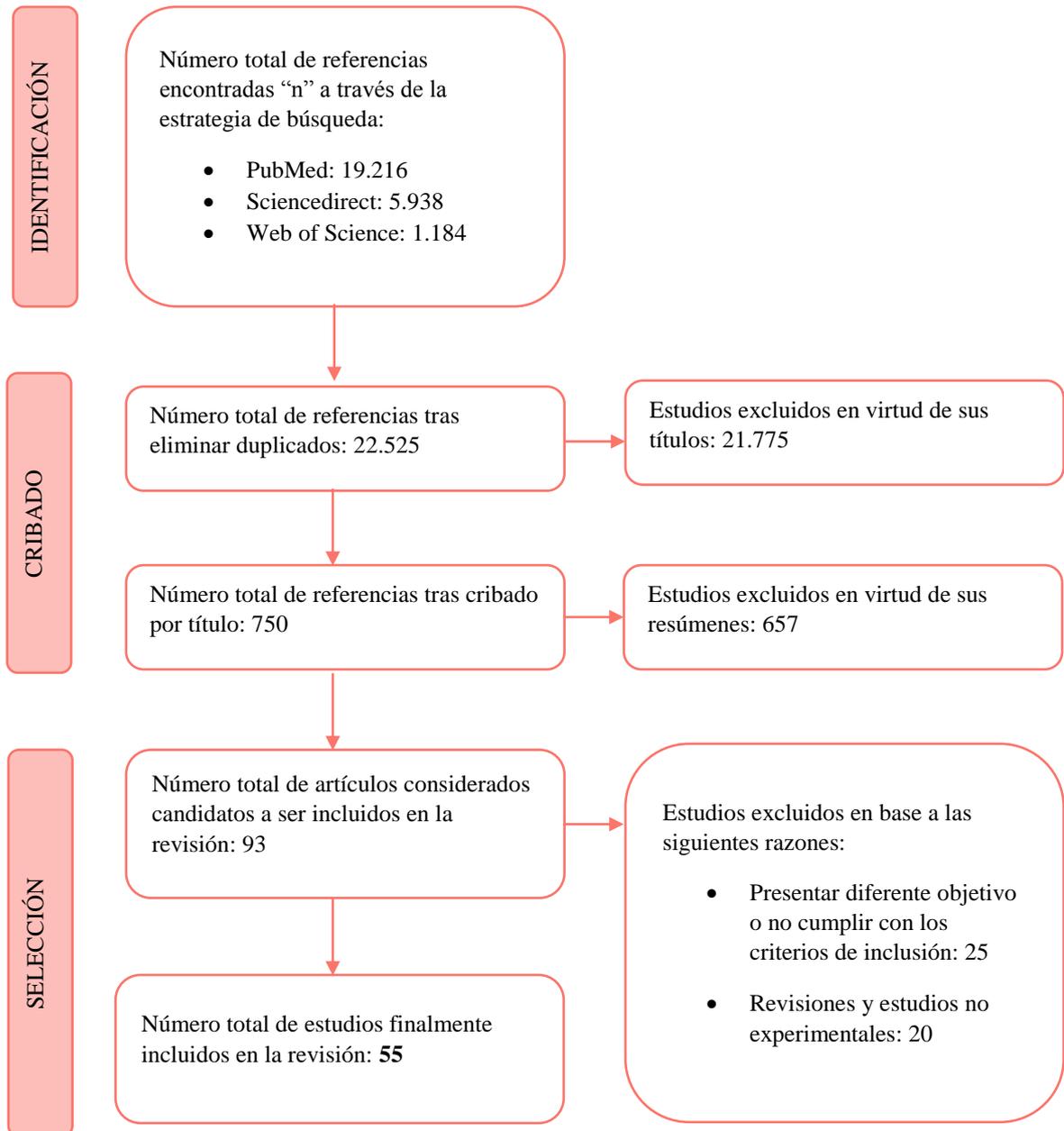
# IV. RESULTADOS



### IV.1. Resultados de la revisión sistemática

A partir de la búsqueda automatizada se identificaron 19.216 referencias en PubMed, 5.948 en Sciencedirect y 1.184 en Web of Science. Tras eliminar los duplicados empleando la herramienta automatizada del *software* Mendeley se recogieron un total de 22.525 referencias para su posterior cribado en base a su título. Tras dicho cribado, 750 artículos fueron filtrados en virtud de su resumen dejando un total de 93 artículos candidatos a ser incluidos en la revisión. Durante el proceso de selección, 25 artículos fueron excluidos por centrarse en un objetivo distinto o no cumplir con los criterios de inclusión y otros 20 artículos fueron excluidos por poseer un diseño de estudio diferente (revisión, estudio cuasiexperimental, etc.). Finalmente, 55 estudios fueron incluidos en la revisión sistemática. El proceso de selección de los artículos queda reflejado en la figura 10.

Figura 10. Diagrama de flujo de los estudios



Adaptado del Diagrama de Flujo de PRISMA (182)

### *IV.1.1. Características de los estudios*

Las características de los estudios incluidos en la revisión quedan recogidas en las Tablas 8, 9 y 10. **Los estudios han sido citados del uno al 55** para facilitar su identificación. Las referencias de cada estudio se recogen en el **anexo I**.

Los casos se seleccionaron de acuerdo al diseño del estudio. Los casos de preeclampsia moderada y severa, con o sin aparición temprana de la enfermedad, fueron combinados representando los casos totales de preeclampsia. En relación a los partos prematuros, el total de casos de parto pretérmino se constituyó por la suma de los casos de parto prematuro (<37 semanas de gestación) más los casos de parto muy prematuro (<32 o <34 semanas de gestación). Los casos de parto prematuro se recogieron independientemente de si fueron espontáneos o producidos por indicación médica. Finalmente, aquellos estudios que se centraron en un único subtipo de la patología fueron especificados en sus respectivas tablas.

Un total de **31 estudios** evaluaron la asociación entre vitamina D y preeclampsia ya sea como objetivo principal del estudio o proporcionando datos acerca de dicha asociación. Dichos estudios englobaron un total de **25.963 participantes** entre los cuales se incluyeron **4.075 casos de preeclampsia**. Nueves estudios (29%) diferenciaron entre casos de preeclampsia severa y moderada <sup>(2,3,8,10,11,17,19-21)</sup> mientras que cinco estudios (16%) tuvieron en cuenta el momento de aparición de la patología diferenciando entre preeclampsia temprana y tardía <sup>(3,7,9,25,30)</sup>. Los autores de 20 de los estudios concluyeron que existía una asociación directa entre la deficiencia de vitamina D durante la gestación y la prevalencia de preeclampsia <sup>(1-6,8,13-16,18,20-21,23-25,27-28,30)</sup>. En cambio, autores de cinco estudios (16%) concluyeron una ausencia de asociación entre deficiencia de vitamina D y preeclampsia <sup>(7,11-12,19,26)</sup> y otros seis estudios (19%) concluyeron

una asociación parcial que fue atribuida al trimestre de gestación en que se produjo el muestreo <sup>(9,29,31)</sup>, subtipo clínico de la patología <sup>(10,17)</sup> o metabolito analizado <sup>(29)</sup>.

En relación a la prematuridad, **13 estudios** evaluaron directamente la asociación entre bajas concentraciones maternas de vitamina D y la prevalencia de parto prematuro o aportaron datos relativos a dicha asociación. Estos estudios incluyeron un total de **20.922 participantes** entre los que figuraron **2.697 partos prematuros**. Ocho de dichos estudios (62%) diferenciaron entre parto prematuro (<37 semanas de gestación) y muy prematuro (<32 o <34 semanas de gestación) <sup>(32-34,38-39,41-42,44)</sup>, mientras que seis estudios (46%) consideraron de manera independiente parto prematuro espontáneo e inducido medicamente <sup>(33-34,39,41,43)</sup>. Respecto a las conclusiones de los autores, cinco estudios concluyeron que existía una asociación directa entre deficiencia de vitamina D durante la gestación y riesgo incrementado de prematuridad <sup>(34,37,41,42,44)</sup>. Por el contrario, otros cinco estudios encontraron una asociación negativa o ausencia de asociación <sup>(35,36,38-40)</sup> y los tres restantes concluyeron que la asociación era parcial y se debía bien al subtipo clínico de alteración considerada <sup>(32)</sup>, metabolito analizado <sup>(33)</sup> o subgrupo poblacional incluido <sup>(43)</sup>.

Finalmente, **11 estudios** evaluaron o aportaron datos sobre deficiencia de vitamina D durante la gestación y la prevalencia tanto de parto prematuro como de preeclampsia. Estos estudios comprendieron **19.606 mujeres embarazadas** incluyendo **1.294 casos de parto prematuro y 613 casos de preeclampsia**. Solamente dos de estos estudios consideraron parto prematuro extremo como subtipo clínico de parto pretérmino (<32 o <34 semanas de gestación) <sup>(47,49)</sup>, mientras que otros tres estudios (27%) diferenciaron entre parto prematuro inducido medicamente o parto prematuro espontáneo <sup>(49,52,54)</sup>. En relación a la preeclampsia, tres estudios evaluaron preeclampsia severa como subtipo clínico <sup>(46,47,49)</sup> y otros tres tuvieron en cuenta el

inicio temprano de la patología <sup>(46,49,54)</sup>. En general, escasa evidencia se encontró en favor de una asociación entre deficiencia materna de vitamina D y preeclampsia o prematuridad entre estos estudios con un único autor (9%) concluyendo que existía una relación significativa entre deficiencia de vitamina D materna y preeclampsia <sup>(55)</sup>, un estudio encontrando una asociación parcial en base al subtipo clínico de preeclampsia <sup>(54)</sup> y, finalmente, otro estudio concluyendo una relación positiva respecto al parto pretérmino <sup>(50)</sup>.

El periodo de muestreo empleado para el análisis del calcidiol y/u otros metabolitos de la vitamina D fue completamente heterogéneo a lo largo de los estudios incluidos. Similarmente, los trimestres gestacionales tampoco se definieron claramente en la mayoría de los estudios incluidos.

La latitud geográfica en la cual tienen lugar los estudios es relevante de cara al análisis de la exposición solar. Un total de 48 de los 55 estudios incluidos en la revisión (87%), fueron desarrollados en localidades situadas en el norte del trópico de Cáncer <sup>(1,3-19,21-29,31-45,47,49-55)</sup>. En relación a los siete estudios restantes, cuatro de ellos (7% del total) se desarrollaron en latitudes localizadas al sur del trópico de Cáncer <sup>(1,3-19,21-29,31-45,47,49-55)</sup>, un solo estudio (2%) al norte del trópico de Capricornio <sup>(47)</sup> y otro estudio al sur de dicho trópico <sup>(46)</sup>. Los trópicos son los círculos geográficos que se ubican paralelamente al ecuador terrestre siendo el trópico de Cáncer el septentrional y el trópico de Capricornio el meridional. Un último estudio no especificó la localización donde el estudio fue llevado a cabo <sup>(20)</sup>. En líneas generales, los estudios incluidos en la revisión no indicaron si los participantes residían en el área donde el estudio fue llevado a cabo ni recolectaron datos relativos a la actividad física u ocupación lo cual podría implicar una omisión relevante dado que estos aspectos se relacionan con la exposición solar.

En relación al tipo de muestra analizada, la mayoría de los estudios emplearon sangre materna periférica en los análisis (93%) <sup>(1-13,15-31,33-37,39-51,53-55)</sup>. No obstante, ocho estudios (15%) analizaron muestras de sangre de cordón umbilical ya sea exclusivamente o de forma adicional al análisis de sangre materna periférica <sup>(2,14,23,32,37-38,45,50)</sup>. Otros dos estudios emplearon como muestras analíticas homogeneizados de placenta o decidua <sup>(2,29)</sup>.

El principal metabolito analizado a lo largo de los estudios fue 25-hidroxitamina D. No obstante, no todos los estudios especificaron si el método empleado permitía la detección de 25-hidroxitamina-D total o solo de vitamina D3 o sus metabolitos, lo cual es relevante en aquellos casos en que las mujeres se puedan encontrar suplementadas con vitamina D2. Cuatro estudios (7%) midieron específicamente colecalciferol (vitamina D3) <sup>(2,5,29,36)</sup>, 24 estudios (44%) midieron específicamente vitamina D total como la suma de ergocalciferol (vitamina D2) y colecalciferol <sup>(3-4,6-9,11,16,18,19,21-23,25,30,32-35,37,42,47,49,55)</sup> y otros 26 estudios (47%) no especificaron si el método empleado permitía el análisis de la concentración total o si la concentración de 25-hidroxitamina D era concentración total o parcial <sup>(1,10,12-15,17,20,24,26-28,31,38-41,43-46,48,50-51,53-54)</sup>. Entre todos los estudios, solo siete (13%) analizaron uno o más metabolitos de vitamina D <sup>(2,12-13,23,25,29,33)</sup>. En particular, un estudio de intervención no analizó ningún metabolito de vitamina D no pudiendo por tanto evaluar el efecto de la suplementación en los niveles maternos de dicha vitamina <sup>(52)</sup>.

La mayoría de los estudios emplearon métodos válidos para el análisis de calcidiol. 16 estudios (29%) usaron cromatografía líquida con espectrometría de masas (LC-MS) <sup>(7,10,14,21-22,23,25,27,29,30,34,35,37,41,43,47)</sup>, 14 estudios (25%) emplearon ensayo de quimioluminiscencia (CLIA) <sup>(6,9,11,12,16,18,19,32,33,38,40,45,46,54)</sup>, 11 estudios (20%) emplearon enzoinmunoensayo (ELISA) <sup>(8,13,15,20,24,26,39,49-51,53)</sup>, seis estudios (11%) usaron radioinmunoensayo (RIA) <sup>(1,3,11,31,42,44)</sup>, cuatro

estudios usaron cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) <sup>(2,4,17,36)</sup> y otros cuatro emplearon otras técnicas <sup>(5,28,48,55)</sup>.

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia

Autor y año de publicación	Metodología y población de estudio	Participantes	Casos de preeclampsia	Muestra analítica	Periodo de muestreo	Metabolito y método de análisis	Co
<b>Bener A y cols., 2013<sup>(1)</sup></b>	Estudio de cohortes. Arabia Saudí (Latitud: 25°17'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 1.873	n = 129	Sangre materna	>24 semanas de gestación	25(OH)D mediante RIA <sup>c</sup>	La du co pre
<b>Halhali A y cols., 2013<sup>(2)</sup></b>	Estudio transversal. México (Latitud: 19° 26'N. Sur del trópico de Cáncer)	n = 16	n = 8	Sangre materna Sangre de cordón umbilical Homogeneizado de placenta	En el momento del parto	25(OH)D3 & 1,25(OH)2D3 mediante HPLC	Lo pla dis pre
<b>Robinson C.J y cols., 2013<sup>(3)</sup></b>	Estudio de caso-control. E.E.U.U (Latitud: 32°47'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 80	n = 40 <sup>a</sup>	Sangre materna	27 – 31 semanas de gestación	25(OH)D total mediante RIA	Ba du rel de
<b>Scholl T.O y cols., 2013<sup>(4)</sup></b>	Estudio de cohortes. E.E.U.U (Latitud: 59°. Norte del trópico de Cáncer)	n = 1.141	n = 69	Sangre materna	13,7 semanas de gestación de media	25(OH)D total mediante HPLC	La ins ter hip ase pa

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia (continuación)

<b>Ullah M.I y cols., 2013<sup>(5)</sup></b>	Estudio de caso-control. Bangladesh (Latitud: 23°43'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 188	n = 33	Sangre materna	1 semana antes del parto	25(OH)D3 mediante ECLIA	La vit inc
<b>Wei S.Q y cols., 2013a<sup>(6)</sup></b>	Estudio de cohortes. Canadá (Latitud: 45°30'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 697	n = 32	Sangre materna	12 – 18 semanas de gestación 24 – 26 semanas de gestación <sup>b</sup>	25(OH)D total mediante CLIA	La du co pre
<b>Yu C y cols., 2013<sup>(7)</sup></b>	Estudio de caso-control anidado. Reino Unido. (Latitud: 51°28'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 1.090	n = 90	Sangre materna	11 – 13 semanas de gestación	25(OH)D total mediante LC-MS	Lo du ge en co
<b>Abedi P y cols., 2014<sup>(8)</sup></b>	Estudio de caso-control. Irán (Latitud: 31°19'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 118	n = 59	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D total mediante ELISA	La vit sig inc
<b>Álvarez-Fernández I y cols., 2014<sup>(9)</sup></b>	Estudio de cohortes. España (Latitud: 43°19'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 257	n = 74	Sangre materna	9 – 12 semanas de gestación 20 – 41 semanas de gestación <sup>b</sup>	25(OH)D total mediante CLIA	Ba mu so ini rie

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia (continuación)

<b>Bodnar L.M y cols., 2014<sup>(10)</sup></b>	Estudio de caso-cohorte. E.E.U.U (Latitud: 40°26'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 3.703	n = 717	Sangre materna	< 26 semanas de gestación	25(OH)D mediante LC-MS <sup>c</sup>	La vit inc pro me
<b>Burris H.H y cols., 2014a<sup>(11)</sup></b>	Estudio de cohortes. E.E.U.U (Latitud: 47°32'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 1.591	n = 56	Sangre materna	16.4 – 36.9 semanas de gestación	25(OH)D total mediante RIA & CLIA	Al du rel de
<b>Dalmar A y cols., 2014<sup>(12)</sup></b>	Estudio de caso-control. E.E.U.U (Latitud: 43°01'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 98	n = 44	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D mediante CLIA <sup>c</sup> 1,25(OH)2D mediante RIA	Lo D sig en co ad
<b>Lechtermann C y cols., 2014<sup>(13)</sup></b>	Estudio de caso-control anidado. Alemania (Latitud: 51°25'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 63	n = 20	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D & 1,25(OH)2D mediante ELISA <sup>c</sup>	La vit en qu

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia (continuación)

<b>Reeves I.V y cols., 2014<sup>(14)</sup></b>	Estudio de cohortes. E.E.U.U (Latitud: 38°55'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 47	n = 10	Sangre de cordón umbilical	En el momento del parto	25(OH)D mediante LC-MS <sup>c</sup>	La vit de mu
<b>Xu L y cols., 2014<sup>(15)</sup></b>	Estudio de caso-control. E.E.U.U (Latitud: 40°26'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 200	n = 100	Sangre materna	>24 semanas de gestación	25(OH)D mediante ELISA <sup>c</sup>	La vit trin ase un pre
<b>Achkar M y cols., 2015<sup>(16)</sup></b>	Estudio de caso-control anidado. Canadá (Latitudes: 44°38'N & 46°48'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 2.144	n = 169	Sangre materna	<20 semanas de gestación	25(OH)D total mediante CLIA	Ni po co im pre
<b>Arisoy R y cols., 2015<sup>(17)</sup></b>	Estudio de cohortes. Turquía (Latitud: 41°00'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 257	n = 77	Sangre materna	26 – 38 semanas de gestación	25(OH)D mediante HPLC <sup>c</sup>	Lo vit sig inc sev
<b>Bakacak M y cols., 2015<sup>(18)</sup></b>	Estudio de caso-control. Turquía (Latitud: 37°35'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 155	n = 83	Sangre materna	Sin especificar	25(OH)D total mediante CLIA	Lo du im de

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia (continuación)

<b>Gidlöf S y cols., 2015<sup>(19)</sup></b>	Estudio de caso-control anidado. Suecia (Latitud: 55°37'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 159	39	Sangre materna	12 semanas de gestación	25(OH)D mediante CLIA	La du ge rie pre
<b>Singla R y cols., 2015<sup>(20)</sup></b>	Estudio de caso-control. India (Latitud sin especificar)	n = 174	n = 74	Sangre materna	Sin especificar	“Vitamina D” mediante ELISA <sup>c</sup>	Lo má em co
<b>Baca K.M y cols., 2016<sup>(21)</sup></b>	Estudio de caso-cohorte. E.E.U.U (Latitud: 40°26'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 2.327	n = 650	Sangre materna	<20 semanas de gestación	25(OH)D total mediante LC-MS	La vit de mo
<b>Bärebring L y cols., 2016<sup>(22)</sup></b>	Estudio de cohortes. Suecia (Latitud: 57°N-58°N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 2.000	n = 80	Sangre materna	<16 semanas de gestación >31 semanas de gestación <sup>b</sup>	25(OH)D mediante LC-MS	Ni du est inc pre inc niv pri

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia (continuación)

<b>Djekic-Ivankovic M y cols., 2016<sup>(23)</sup></b>	Estudio transversal. Serbia (Latitud: 44°47'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 60	n = 30	Sangre maternal Sangre de cordón umbilical	En el momento del parto	25(OH)D total, 3-epi-25(OH)D3 & 24,25(OH)2D3 mediante LC-MS 1,25(OH)2D mediante ELISA	La tuv ba co
<b>Domaracki P y cols., 2016<sup>(24)</sup></b>	Estudio de caso-control. Polonia (Latitud: 53°07'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 207	n = 23	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D mediante ELISA <sup>c</sup>	Lo D de co la vit pre
<b>Kiely M.E y cols., 2016<sup>(25)</sup></b>	Estudio de cohortes. Irlanda (Latitud: 51°53'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 1.768	n = 68	Sangre materna	14 – 16 semanas de gestación	25(OH)D total & 3-epi-25(OH)D3 mediante LC-MS	Lo D est rec ute po cre ret pre

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia (continuación)

<b>Van Weert B y cols., 2016a</b> <sup>(26)</sup>	Estudio de cohortes. Países bajos (Latitud: 52°N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 2.074	n = 83	Sangre materna	11.7 – 13.9 semanas de gestación	25(OH)D mediante ELISA <sup>c</sup>	No fue vitri hip mu
<b>Mirzakhani H y cols., 2017</b> <sup>(27)</sup>	Ensayo clínico aleatorizado de doble ciego. E.E.U.U (Latitudes: 38°38'N, 42°20'N, 32°N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 816	n = 67	Sangre materna	10 – 18 semanas de gestación	25(OH)D mediante LC-MS <sup>c</sup>	Ba du co de ve pre niv ase de
<b>Behjat Sasan S.B y cols., 2017</b> <sup>(28)</sup>	Ensayo clínico aleatorizado de doble ciego. Irán. (Latitud: 35°18'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 142	n = 33	Sangre materna	Sin especificar	25(OH)D mediante Liebermann–Burchard <sup>c</sup>	La D pre his
<b>Tamblyn J.A y cols., 2017</b> <sup>(29)</sup>	Estudio transversal. United Kingdom (Latitud: 52°27'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 88	n = 22	Sangre materna Homogeneizado de decidua y placenta	8 – 13 semanas de gestación En el momento del parto	25(OH)D3, 1,25(OH)D3, 24,25(OH)2D3 & 3-epi-25(OH)D3 mediante LC-MS	La un pla alt niv var est

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 8.** Características de los estudios que evaluaron preeclampsia (continuación)

<b>Serrano N.C y cols., 2018<sup>(30)</sup></b>	Estudio de caso-control Colombia (Latitud: 4°57' Sur del trópico de Cáncer)	n = 2.028	n = 1.013	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D total mediante LC-MS	Ba vit rie asc co
<b>Benachi A y cols., 2019<sup>(31)</sup></b>	Estudio de caso-control anidado. Suecia (Latitudes: 50°83'N, 48°86'N, 47°22'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 402	n = 83	Sangre materna	11 – 15 semanas de gestación 28 – 40 semanas de gestación	25(OH)D mediante RIA <sup>c</sup>	La su el tuv pre vit tri asc inc

*a* Sólo se consideraron como casos participantes con preeclampsia severa. *b* Dos o más muestreos se llevaron a cabo. *c* No se especificó si se analizó con inmunoensayo de anticuerpo ligado a enzimas (CLIA) o con inmunoensayo de anticuerpo ligado a enzimas (ELISA); HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Eficacia; LC-MS: Cromatografía Líquida en Tándem con Espectrometría de Masas.

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 9.** Características de los estudios que evaluaron parto prematuro

Autor y año de publicación	Metodología y población de estudio	Participantes	Casos de prematuridad	Muestra analítica	Periodo de muestreo	Metabolito y método de análisis	Co
<b>Burris H.H y cols., 2014b</b> <sup>(32)</sup>	Estudio de cohortes. E.E.U.U (Latitud: 47°32'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 471	n = 179	Sangre de cordón umbilical	En el momento del parto	25(OH)D total mediante CLIA	Ba asc pre pre ge
<b>Thota C y cols., 2014</b> <sup>(33)</sup>	Estudio de caso-control. E.E.U.U (Latitud: 36°10'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 192	n = 79	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D total mediante CLIA, 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>2</sub> & 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> mediante RIA	Ba asc el de co
<b>Bodnar L.M y cols., 2015</b> <sup>(34)</sup>	Estudio de caso-control. E.E.U.U (Latitud: 40°26'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 3.453	n = 1.126	Sangre materna	<20 semanas de gestación	25(OH)D total mediante LC-MS	La eje pa
<b>Choi R y cols., 2015</b> <sup>(35)</sup>	Estudio de cohortes. Corea del Sur (Latitud: 37°29'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 220	n = 9	Sangre materna	En primer, Segundo y tercer trimestre de gestación	25(OH)D total mediante LC-MS	No en pa

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 9.** Características de los estudios que evaluaron parto prematuro (continuación)

<b>Rodríguez A y cols., 2015<sup>(36)</sup></b>	Estudio de cohorts. España (Latitudes: 39°N, 41°N, 43°N, 42°N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 2.358	n = 108	Sangre materna	13.5 semanas de gestacion de media	25(OH)D <sub>3</sub> mediante HPLC	No en pa
<b>Miliku K y cols., 2016<sup>(37)</sup></b>	Estudio transversal. Países bajos (Latitud: 51°54'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 7.098	n = 370	Sangre materna Sangre de cordón umbilical	18.5 – 23.3 semanas de gestación	25(OH)D total mediante LC-MS	Ba de ma pr est
<b>Morgan C y cols., 2016<sup>(38)</sup></b>	Estudio de caso-control anidado. Canadá (Latitud: 46°46'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 1.656	n = 223	Sangre de cordón umbilical	En el momento del parto	25(OH)D mediante CLIA <sup>b</sup>	No en y aju
<b>Baczynska-Strzecha M y cols., 2017<sup>(39)</sup></b>	Estudio de caso-control. Polonia. (Latitud: 51°46'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 201	n = 100	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D mediante ELISA <sup>b</sup>	La vit ino pr est
<b>Bhupornvivat N y cols., 2017<sup>(40)</sup></b>	Estudio transversal. Tailandia (Latitud: 13°43'N. Sur del trópico de Cáncer)	n = 60	n = 30	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D mediante CLIA <sup>b</sup>	La ma aso

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 9.** Características de los estudios que evaluaron parto prematuro (continuación)

<b>McDonnell S.L y cols., 2017<sup>(41)</sup></b>	Estudio de cohortes. E.E.U.U (Latitud: 32°47'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 1.064	n = 139	Sangre materna	Durante el primer trimestre gestacional (24 – 28 semanas de gestación) En el momento del parto <sup>a</sup>	25(OH)D mediante LC-MS <sup>b</sup>	Ni <4 rie pr
<b>Mohamed S.A y cols., 2017<sup>(42)</sup></b>	Estudio de caso-control. E.E.U.U (Latitud: 36°09'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 79	n = 28	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D total mediante RIA-	Ni ins rie pr
<b>Tabatabaei N y cols., 2017<sup>(43)</sup></b>	Estudio de caso-control. Canadá (Latitudes: 45°N, 46°N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 472	n = 118	Sangre materna	8 – 14 semanas de gestación	25(OH)D mediante LC-MS <sup>b</sup>	La as en
<b>Chen Y.H y cols., 2018<sup>(44)</sup></b>	Estudio de cohortes. China (Latitud: 31°51'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 3.598	n = 188	Sangre materna	<13 semanas de gestación 13 – 27 semanas de gestación	25(OH)D mediante RIA <sup>b</sup>	La vit inc pr

*a* Dos o más muestreos se llevaron a cabo. *b* No se especificó si se analizó calcidiol total o solo D3. 25(OH)D: 25-hidroxitamina D; 1,25(OH)2D: 1,25-dihidroxitamina D; RIA: Radioinmunoensayo; quimioluminiscente; ELISA: Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas; HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Eficacia; LC-MS: Cromatografía Líquida en Tándem.

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 10.** Características de los estudios que evaluaron parto prematuro y preeclampsia

Autor y año de publicación	Metodología y población de estudio	Participantes	Casos de preeclampsia	Casos de prematuridad	Muestra analítica	Periodo de muestreo	Metabolito y método de análisis
<b>Hossain N y cols., 2014</b> <sup>(45)</sup>	Ensayo clínico aleatorizado sin cegamiento. Pakistán (Latitud: 24°51'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 175	n = 16	n = 22	Sangre materna Sangre de cordón umbilical	20 semanas de gestación En el momento del parto <sup>b</sup>	25(OH)D mediante CLIA <sup>c</sup>
<b>Schneuer F.J y cols., 2014</b> <sup>(46)</sup>	Estudio de caso-control anidado. Australia (Latitud: 33°49'S. Sur del trópico de Capricornio)	n = 5.109	n = 223	n = 388	Sangre materna	10 – 14 semanas de gestación	25(OH)D mediante CLIA <sup>c</sup>
<b>Wetta L.A y cols., 2014</b> <sup>(47)</sup>	Estudio de caso-control anidado. E.E.U.U (Latitud: 33°30'N. Norte del trópico de Capricornio)	n =356	n (<37 semanas de gestación) = 89	n (<35 semanas de gestación) = 90	Sangre materna	15 – 21 semanas de gestación	25(OH)D total mediante LC-MS
<b>Zhou J y cols., 2014</b> <sup>(48)</sup>	Estudio de cohortes. China (Latitud: 23°01'N. Sur del trópico de Cáncer)	n = 1.953	n = 74	n = 159	Sangre materna	16 – 20 semanas de gestación	25(OH)D mediante ECLIA <sup>c</sup>

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 10.** Características de los estudios que evaluaron parto prematuro y preeclampsia (co

<b>Flood-Nichols S.K y cols., 2015<sup>(49)</sup></b>	Estudio de cohortes. E.E.U.U (Latitud: 47°06'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 235	n = 19	n = 10	Sangre materna	5 – 12 semanas de gestación	25(OH)D total mediante ELISA	La def D no resulta cohor
<b>Sablok A y cols., 2015<sup>(50)</sup></b>	Ensayo clínico aleatorizado sin cegamiento. India (Latitud: 28°34'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 165	n = 24	n = 21	Sangre materna Sangre del cordón umbilical	14 – 20 semanas de gestación En el momento del parto	25(OH)D mediante ELISA <sup>c</sup>	La sup durante inciden menor
<b>Al-Shaikh G y cols., 2016<sup>(51)</sup></b>	Estudio transversal. Arabia Saudí (Latitud: 24°43'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 100	n = 9	n = 80	Sangre materna	En el momento del parto	25(OH)D mediante ELISA <sup>c</sup>	Bajos asociar prevale
<b>Naghshineh E y cols., 2016<sup>(52)</sup></b>	Ensayo clínico aleatorizado de doble ciego. Irán (Latitud: 32°38'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 138	n = 9	n = 21	No analizado	No analizado	No analizado	La sup conlleve preecla fue sig partos que en
<b>Samimi M y cols., 2016<sup>(53)</sup></b>	Ensayo clínico aleatorizado de doble ciego. Irán (Latitud: 34°00'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 60	n = 4	n = 3	Sangre materna	20 semanas de gestación 32 semanas de gestación <sup>b</sup>	25(OH)D mediante ELISA <sup>c</sup>	La sup calcio resulta

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 10.** Características de los estudios que evaluaron parto prematuro y preeclampsia (co

<b>Zhao X y cols., 2017</b> (54)	Estudio de cohortes. China (Latitud: 34°00'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 11.151	n = 139	n = 474	Sangre materna	1 – 12 13 – 28 29 – 40 semanas de gestación	25(OH)D total mediante CLIA <sup>c</sup>	La def semana asoció preecla vitamin madres pretérn
<b>Ali A.M y cols., 2019</b> (55)	Ensayo clínico aleatorizado sin cegamiento. Arabia Saudí (Latitud: 24°41'N. Norte del trópico de Cáncer)	n = 164	n = 7	n = 26	Sangre materna	6 – 12 30 – 36 semanas de gestación	25(OH)D total mediante ECLIA	La sup dismin de mar de part grupos

*a Sólo se consideraron como casos participantes con preeclampsia severa. b Dos o más muestreos se llevaron a cabo. c No se especificó si se analizó calcidiol total.*  
hidroxivitamina D; 1,25(OH)2D: 1,25-dihidroxivitamina D; CLIA: inmunoensayo quimioluminiscente; ECLIA: Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia; ELISA: Inmunoensayo de Enzimas; HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Eficacia; LC-MS: Cromatografía Líquida en Tándem con Espectrometría de Masas; RIA: Radioinmunoensayo.

*IV.1.2. Evaluación de la calidad*

Para la evaluación de la calidad de los 48 estudios observacionales incluidos en la revisión se empleó la escala de Newcastle-Ottawa según los criterios recogidos en las tablas 6 y 7. Un total de 31 estudios longitudinales presentaron una calidad comprendida entre siete y nueve estrellas. Un único estudio transversal presentó una calidad comprendida entre siete y ocho estrellas. Estos estudios presentaban por tanto bajo riesgo de sesgo o alta calidad metodológica. Los resultados de la evaluación de calidad quedan recogidos en las tablas 11, 12 y 13.

**Tabla 11.** Escala de Newcastle-Ottawa para estudios de caso-control

<b>Autores</b>	<b>Selección</b>	<b>Comparabilidad</b>	<b>Exposición</b>	<b>Evaluación de calidad</b>
<b>Abedi P y cols.,<sup>(8)</sup></b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>***</b>	7/9
<b>Achkar M y cols.,<sup>(16)</sup></b>	<b>****</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	8/9
<b>Baca K.M y cols.,<sup>(21)</sup></b>	<b>****</b>	<b>**</b>	<b>***</b>	9/9
<b>Baczynzka M y cols.,<sup>(39)</sup></b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>**</b>	6/9
<b>Bakacak M y cols.,<sup>(18)</sup></b>	<b>****</b>		<b>***</b>	7/9
<b>Benachi A y cols.,<sup>(31)</sup></b>	<b>***</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	7/9
<b>Dalmar A y cols.,<sup>(12)</sup></b>	<b>***</b>		<b>**</b>	5/9
<b>Domaracki P y cols.,<sup>(24)</sup></b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>***</b>	7/9
<b>Gidlöf S y cols.,<sup>(19)</sup></b>	<b>***</b>		<b>***</b>	6/9
<b>Lechterman C y cols.,<sup>(13)</sup></b>	<b>***</b>		<b>***</b>	6/9
<b>Mohamed S.A y cols.,<sup>(42)</sup></b>	<b>***</b>		<b>**</b>	5/9
<b>Morgan C y cols.,<sup>(38)</sup></b>	<b>***</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	7/9
<b>Robinson C.J y cols.,<sup>(3)</sup></b>	<b>***</b>	<b>**</b>	<b>***</b>	8/9
<b>Schneuer F.J y cols.,<sup>(46)</sup></b>	<b>****</b>		<b>***</b>	7/9
<b>Serrano N.C y cols.,<sup>(30)</sup></b>	<b>****</b>	<b>*</b>	<b>***</b>	8/9
<b>Singla R y cols.,<sup>(20)</sup></b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>***</b>	7/9
<b>Tabatabaei N y cols.,<sup>(43)</sup></b>	<b>***</b>	<b>**</b>	<b>***</b>	8/9
<b>Thota C y cols.,<sup>(33)</sup></b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>**</b>	6/9
<b>Ullah M.I y cols.,<sup>(5)</sup></b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>***</b>	7/9
<b>Wetta L.A y cols.,<sup>(47)</sup></b>	<b>****</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	8/9
<b>Xu L y cols.,<sup>(15)</sup></b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>***</b>	7/9
<b>Yu C.K.H y cols.,<sup>(7)</sup></b>	<b>****</b>	<b>**</b>	<b>***</b>	9/9

**Tabla 12.** Escala de Newcastle-Ottawa para estudios de cohortes

Autores	Selección	Comparabilidad	Resultado	Evaluación de calidad
Álvarez I y cols., <sup>(9)</sup>	****		**	5/9
Arisoy R y cols., <sup>(17)</sup>	**		*	3/9
Barëbring L y cols., <sup>(22)</sup>	****	**	***	9/9
Bener A y cols., <sup>(1)</sup>	***		***	6/9
Bodnar L.M y cols., <sup>(10)</sup>	****	**	***	9/9
Bodnar L.M y cols., <sup>(34)</sup>	****	**	***	9/9
Burris H.H y cols., <sup>(11)</sup>	****	*	***	8/9
Burris H.H y cols., <sup>(32)</sup>	****	**	**	8/9
Chen Y.H y cols., <sup>(44)</sup>	****	*	**	8/9
Choi R y cols., <sup>(35)</sup>	****	**	***	9/9
Flood S.K y cols., <sup>(49)</sup>	****	*	**	7/9
Kiely M.E y cols., <sup>(25)</sup>	****	**	***	9/9
McDonnell S.L y cols., <sup>(41)</sup>	****		**	5/9
Miliku K y cols., <sup>(37)</sup>	****	**	***	9/9
Reeves I.V y cols., <sup>(14)</sup>	***		**	5/9
Rodríguez A y cols., <sup>(36)</sup>	****	**	***	9/9
Scholl T.O y cols., <sup>(4)</sup>	****	**	***	9/9
Van Weert B y cols., <sup>(26)</sup>	****	**	***	9/9
Wei S.Q y cols., <sup>(6)</sup>	****	*	**	7/9
Zhao X y cols., <sup>(54)</sup>	***	**	***	8/9
Zhou J y cols., <sup>(48)</sup>	***	*	**	6/9

**Tabla 13.** Escala de Newcastle-Ottawa adaptada para estudios transversales

Autores	Selección	Comparabilidad	Resultado	Evaluación de calidad
Al-shaikh G.K y cols., <sup>(51)</sup>	****	*	**	7/8
Bhupornvivat N y cols., <sup>(40)</sup>	***		*	4/8
Djekic M y cols., <sup>(23)</sup>	***		**	5/8
Halhali A y cols., <sup>(2)</sup>	***		*	4/8
Tamblyn J.A y cols., <sup>(29)</sup>	**		**	4/8

En relación a los estudios de intervención, todos reportaron satisfactoriamente el método empleado para aleatorizar a las participantes. Dos estudios de intervención describieron adecuadamente el método empleado para ocultar la asignación de los participantes a los grupos de estudio<sup>(27,53)</sup>, otros dos estudios pudieron estar sesgados en base a dicha asignación de grupos<sup>(50,55)</sup> y otros tres estudios no la describieron en suficiente detalle<sup>(28,45,52)</sup>.

Con respecto al cegamiento de las participantes, dos estudios emplearon métodos efectivos para efectuar dicho cegamiento<sup>(27,53)</sup> mientras que cinco estudios no emplearon un método de cegamiento adecuado o no cegaron a los participantes<sup>(28,45,50,54,55)</sup>.

El manejo de los datos incompletos fue en general adecuado a lo largo de los estudios de intervención con cinco estudios manejando dichos datos de manera apropiada<sup>(27,28,45,53,55)</sup> y los dos estudios restantes sufriendo sesgo por inadecuado manejo de datos incompletos<sup>(50,52)</sup>.

En relación al sesgo por reporte, cinco estudios demostraron tener un sesgo por reporte bajo<sup>(27,28,45,53,55)</sup>, mientras que los dos estudios restantes eran susceptibles de presentar dicho sesgo de acuerdo a la metodología descrita<sup>(50,52)</sup>.

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

Finalmente, el criterio elegido para “otro sesgo” fue la inclusión o no de ajuste para factores confusores de la relación entre suplementación con vitamina D y los resultados materno-fetales descritos. En este sentido, tres estudios analizaron el impacto que otros factores confusores podrían tener dicha asociación <sup>(27,45,53)</sup>, mientras que cuatro estudios no hicieron un ajuste adecuado <sup>(28,50,52,55)</sup>. El análisis de calidad de los estudios de intervención incluidos en la presente revisión queda presentado en la tabla 14.

**Tabla 14.** Evaluación de la calidad de los ensayos clínicos aleatorizados

Autores	Sesgo de selección		Sesgo de desempeño		Sesgo por deserción	Sesgo de notificación	Otros sesgos
	Generación de la secuencia de aleatorización	Ocultación de la asignación	Cegamiento	Detección	Manejo de datos incompletos	Reporte selectivo	Otros
Hossain <i>cols.</i> , 2014 <sup>(45)</sup>	y Bajo riesgo	Incierto	Alto riesgo	Alto riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo
Sablok <i>cols.</i> , 2015 <sup>(50)</sup>	y Bajo riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo
Naghshineh <i>cols.</i> , y 2016 <sup>(52)</sup>	Bajo riesgo	Incierto	Alto riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo
Samimi <i>cols.</i> , 2016 <sup>(53)</sup>	y Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo
Mirzakhani <i>cols.</i> , y 2017 <sup>(27)</sup>	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo
Behjat Sasan <i>cols.</i> , y 2017 <sup>(28)</sup>	Bajo riesgo	Incierto	Alto riesgo	Alto riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Alto riesgo
Ali <i>cols.</i> , y 2018 <sup>(55)</sup>		Alto riesgo	Alto riesgo	Alto riesgo	Bajo riesgo	Bajo riesgo	Alto riesgo

### IV.1.3. Síntesis de datos

Para la síntesis de datos de la revisión sistemática se empleó un modelo cuantitativo (meta-análisis). Para ello se evaluaron los estudios que proporcionaron datos muestrales suficientes para calcular los *odds ratios* y que definieron claramente las patologías de estudio. Se aceptó para su inclusión en el meta-análisis cualquiera de las definiciones de preeclampsia aceptadas por instituciones oficiales anteriormente comentadas y diagnosticadas conforme a criterios médicos. Por otro lado, se analizaron los estudios de prematuridad en base al parto prematuro definido como bebé vivo nacido antes de las 37 semanas completas de gestación. En base a que la deficiencia de vitamina D podría influenciar la prevalencia de parto prematuro bajo distintos y diversos mecanismos, tanto parto prematuro espontáneo como medicamente inducido fueron analizados en conjunto. Por último, con objeto de armonizar los análisis, solo fueron elegidos para síntesis cuantitativa aquellos estudios que evaluaron deficiencia e insuficiencia de vitamina D definidas como concentraciones maternas de 25-hidroxivitamina D inferiores a 20 o 30 ng/mL respectivamente. Todos los *forest plots* y *funnel plots* son de elaboración propia.

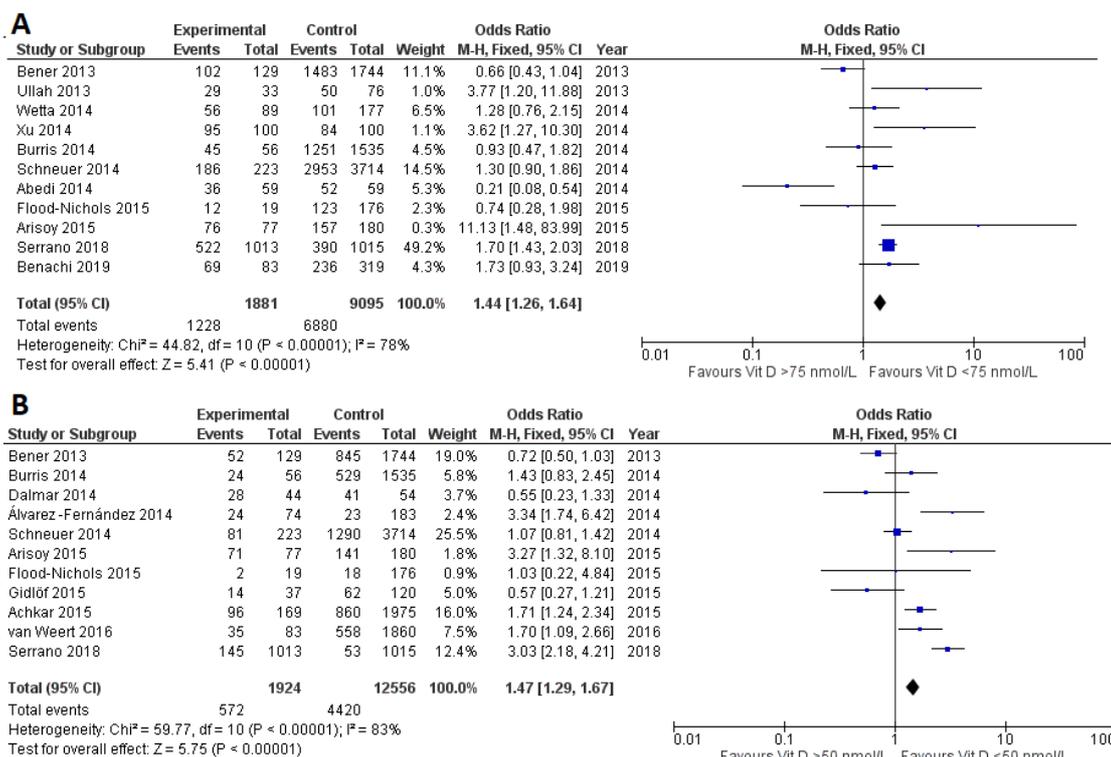
#### IV.1.3.1. Meta-análisis: preeclampsia y vitamina D.

La figura 11 representa el meta-análisis de los estudios observacionales que aportaron datos suficientes para evaluar la asociación entre preeclampsia y vitamina D. En total, los resultados de 11 estudios observacionales longitudinales fueron agrupados. Todos estos estudios consideraron concentraciones de vitamina D maternas <30 ng/mL (<75 nmol/L) como punto de corte para la insuficiencia de dicha vitamina. El análisis de estos 11 estudios mostró que concentraciones maternas de vitamina D <30 ng/mL se relacionaron con un riesgo incrementado de padecer preeclampsia (**OR = 1,44; 95%IC: 1,26 – 1,64**). La heterogeneidad entre los estudios demostró ser muy elevada ( $I^2 = 78 \%$ ;  $p < 0,00001$ ). En esta misma línea, otros 11 estudios

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

analizaron concentraciones inferiores a 20 ng/mL (<50 nmol/L) concluyendo resultados similares para la deficiencia de vitamina D (OR = 1,47; 95%IC: 1,29 – 1,67; I<sup>2</sup> = 83%; p < 0,00001).

**Figura 11.** Meta-análisis de estudios observacionales. Preeclampsia y vitamina D.

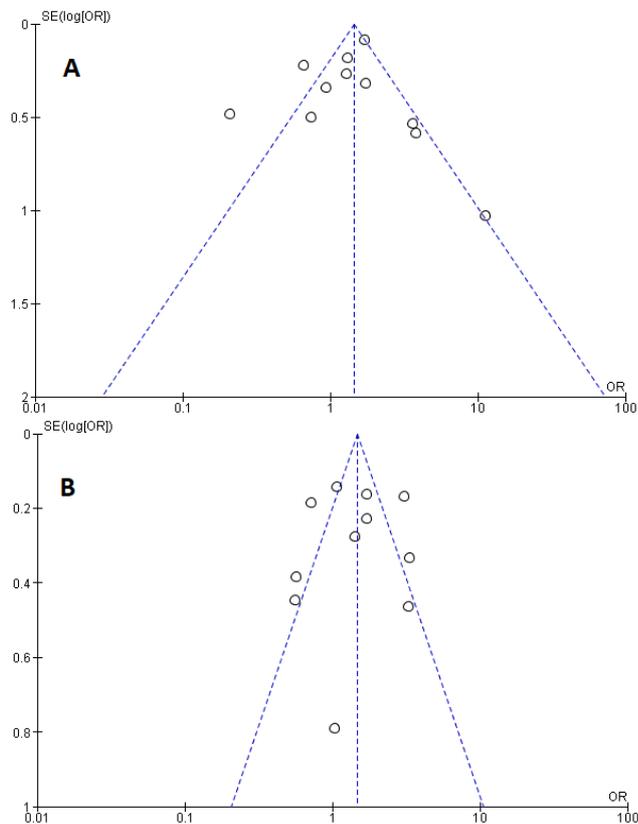


A insuficiencia de vitamina D (<30 ng/mL); B deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL)

Debido a la elevada heterogeneidad presente entre los estudios, se compararon estos resultados empleando un modelo de efectos aleatorios (*random effect meta-analysis*). Los resultados de dicho análisis no fueron estadísticamente significativos para deficiencia ni insuficiencia (OR = 1,26; 95%IC: 0,87 – 1,82 (< 30 ng/mL); OR = 1,42; 95%IC: 0,99 – 2,04 (< 20 ng/mL).

La inspección visual de los *funnel plots* evidenció una desviación asimétrica hacia la derecha lo cual sugiere la presencia de sesgo por publicación (Figure 12).

Figura 12. *Funnel plots* de estudios observacionales. Preeclampsia y vitamina D.



A insuficiencia de vitamina D (<30 ng/mL); B deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL)

Con objeto de evaluar la influencia que el diseño de los estudios observacionales tuvo en el meta-análisis y en base a la elevada heterogeneidad observada se llevó a cabo un subanálisis por diseño de estudio empleando el método de efectos fijos (*fixed effect meta-analysis*).

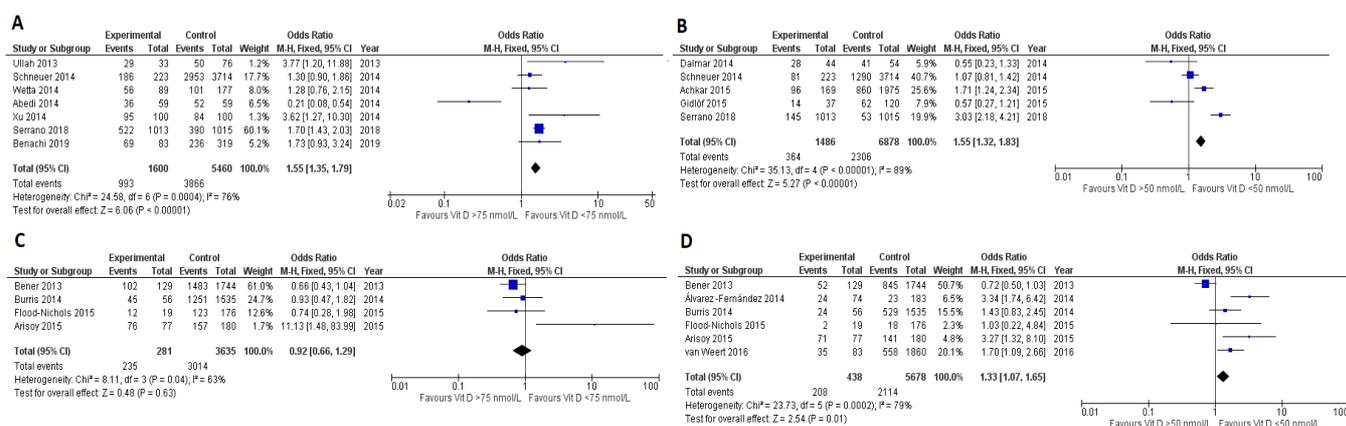
Siete de los 11 estudios observacionales que evaluaron concentraciones maternas de 25-hidroxivitamina D inferiores a 30 ng/mL eran **estudios de caso-control** mientras que solo cinco de los 11 estudios que evaluaron concentraciones inferiores a 20 ng/mL presentaban dicho diseño metodológico. El análisis subgrupo de estos estudios evidenció que tanto la insuficiencia como la deficiencia materna de vitamina D se relacionaban con un mayor riesgo de padecer

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

preeclampsia (**OR = 1,55; 95%IC: 1,35 – 1,79; I<sup>2</sup> = 76%, p <0,00004 (< 30 ng/mL); OR = 1,55; 95%IC: 1,32 – 1,83; I<sup>2</sup> = 89%, p <0,00001 (< 20 ng/mL)**).

En relación a los **estudios de cohortes**, estos también fueron analizados de manera independiente. Cuatro estudios evaluaron concentraciones inferiores a 30 ng/mL mientras que seis evaluaron concentraciones inferiores a 20 ng/mL. El meta-análisis de efectos fijos de estos estudios concluyó una asociación directa entre deficiencia de vitamina D y riesgo de padecer preeclampsia. No obstante, esta asociación no se observó en aquellos estudios que examinaron insuficiencia materna de vitamina D (<30 ng/mL) (**OR = 1,33; 95%IC: 1,07 – 1,65; I<sup>2</sup> = 79%, p = 0,00002 (<20 ng/mL); OR = 0,92; 95%IC: 0,66 – 1,29; I<sup>2</sup> = 63%, p = 0,04 (<30 ng/mL)**). Los resultados de los análisis subgrupo quedan recogidos en la figura 13.

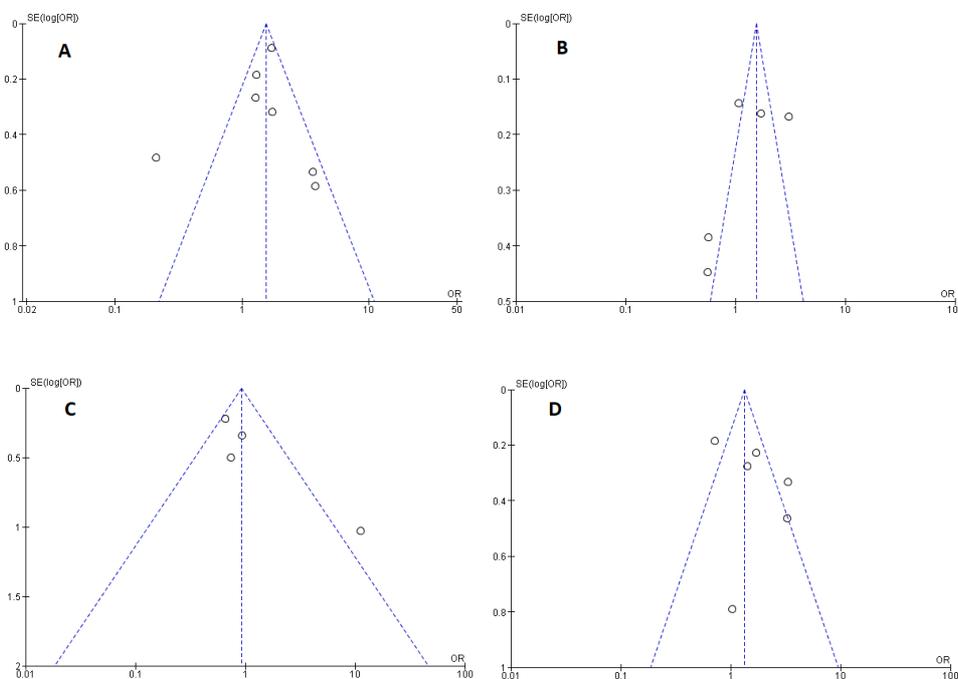
**Figura 13.** Análisis subgrupo. Estudios de caso-control y cohortes.



**A** Estudios de caso-control. Insuficiencia de vitamina D (<30 ng/mL); **B** Estudios de caso-control. Deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL); **C** Estudios de cohortes. Insuficiencia de vitamina D; **D** Estudios de cohortes. Deficiencia de vitamina D.

El análisis subgrupo constató que los estudios de caso-control fueron los que más contribuyeron tanto a la heterogeneidad como al sesgo por publicación (Figura 14).

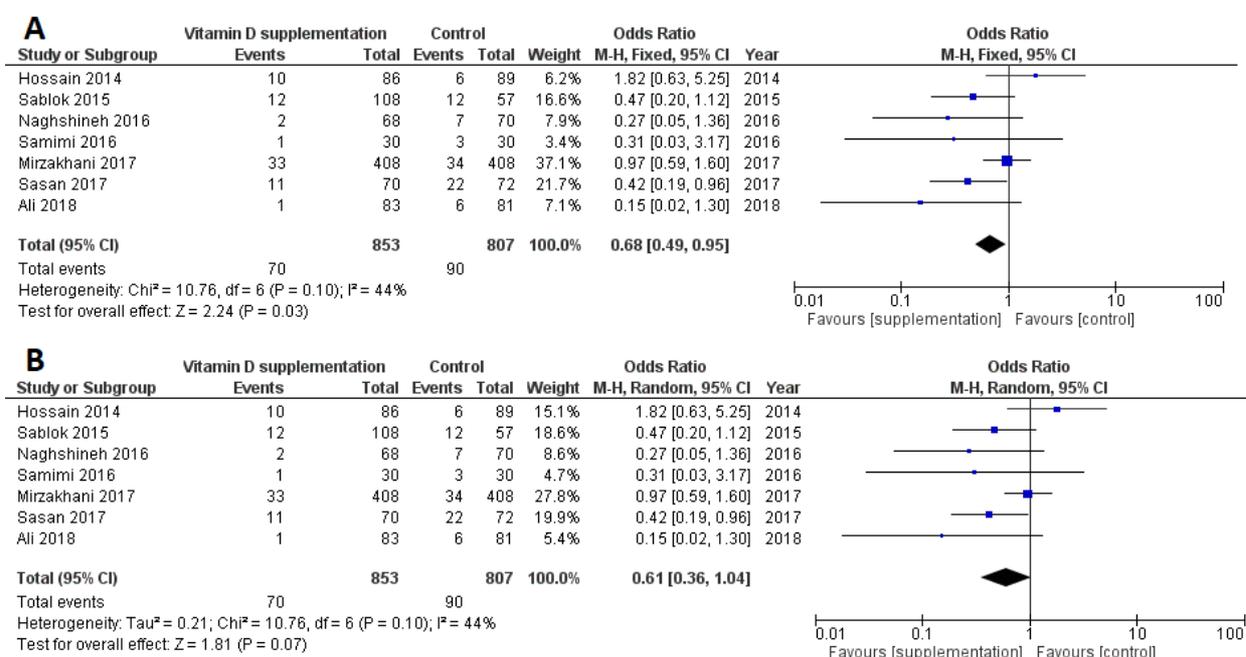
**Figura 14.** *Funnel plots* de los estudios de caso-control y cohortes.



*A* Estudios de caso-control. Insuficiencia de vitamina D (<30 ng/mL); *B* Estudios de caso-control. Deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL); *C* Estudios de cohortes. Insuficiencia de vitamina D; *D* Estudios de cohortes. Deficiencia de vitamina D.

Respecto a los **estudios de intervención**, todos proporcionaron datos muestrales suficientes para el cálculo de los *odds ratios*. Por lo tanto, los siete estudios de intervención incluidos en la revisión fueron meta-analizados. Dichos estudios comprendieron un total de 1.660 participantes y 160 casos de preeclampsia. El meta-análisis de efectos fijos de los estudios de intervención puso de manifiesto que la suplementación con vitamina D durante la gestación tiene un efecto de prevención en el desarrollo de la preeclampsia (**OR = 0,68; 95%IC: 0,49 – 0,95**) (Figura 15). De manera similar a lo observado en el análisis de estudios observacionales, cuando se aplicó un método de efectos aleatorios, la asociación resultó ser no significativa. Finalmente, la heterogeneidad entre los estudios fue moderada ( $I^2 = 44\%$ ,  $p = 0,10$ ).

Figura 15. Meta-análisis de estudios de intervención. Vitamina D y preeclampsia.



A Meta-análisis de efectos fijos; B Meta-análisis de efectos aleatorios

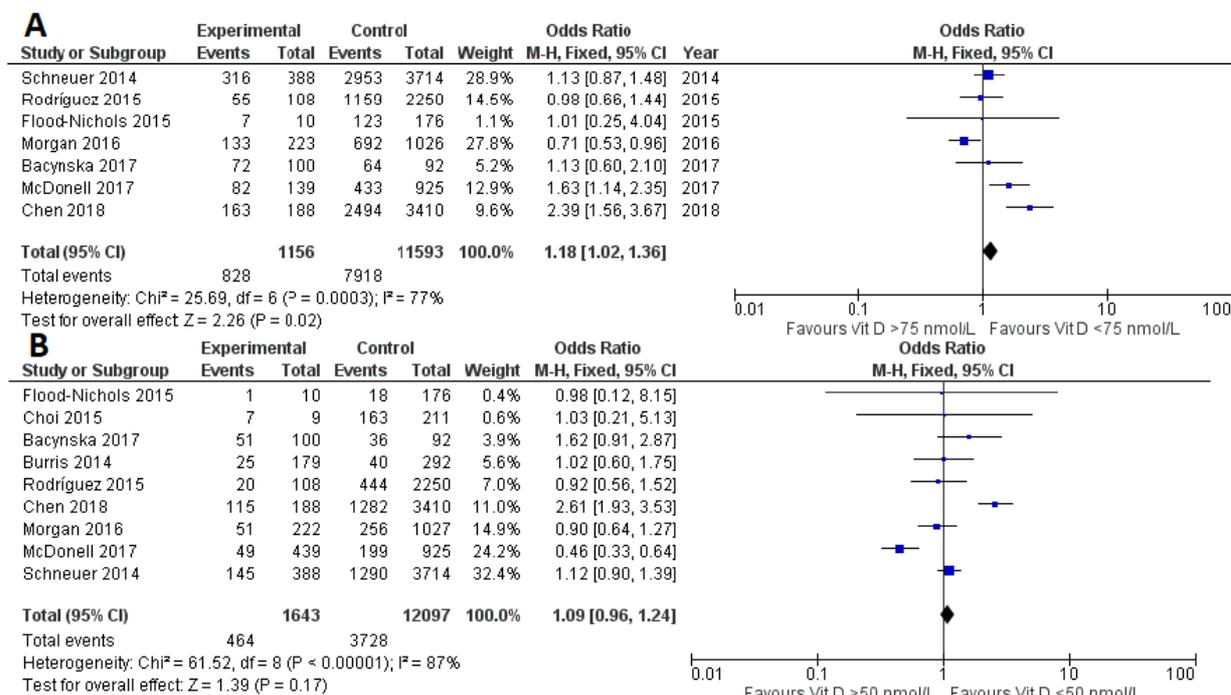
#### IV.1.3.2. Meta-análisis: prematuridad y vitamina D.

Para el proceso de análisis de datos, siete **estudios observacionales** definieron insuficiencia de vitamina D como concentraciones inferiores a 30 ng/mL de calcidiol mientras que nueve estudiaron la deficiencia de vitamina D definida como concentraciones inferiores a 20 ng/mL. El meta-análisis de los siete estudios en relación a la prevalencia de prematuridad constató que concentraciones maternas de calcidiol inferiores a 30 ng/mL se relacionaron con un riesgo incrementado de parto prematuro (**OR = 1,18; 95%IC: 1,02 – 1,36**). Asimismo, la heterogeneidad entre dichos estudios fue muy elevada ( $I^2 = 77\%$ ,  $p = 0,00003$ ).

En contraste con estos resultados, el análisis de los nueve estudios que evaluaron deficiencia de vitamina D no mostró resultados estadísticamente significativos (**OR = 1,09;**

95%IC: 0,96 – 1,24), siendo la heterogeneidad muy alta ( $I^2 = 87\%$ ,  $p < 0,00001$ ). Los *forest plots* de estos análisis están representados en la figura 16.

**Figura 16.** Meta-análisis de estudios observaciones. Prematuridad y vitamina D.

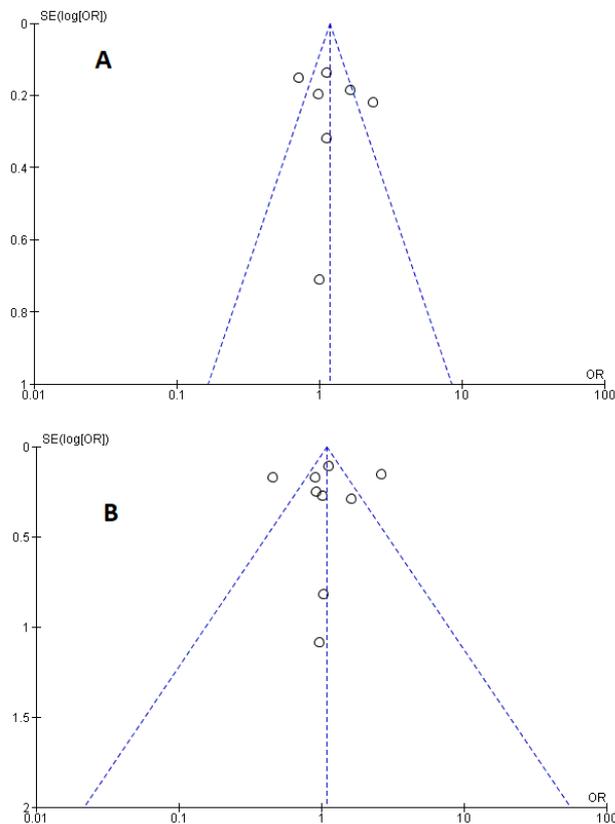


*A* insuficiencia de vitamina D (<30 ng/mL); *B* deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL)

Los resultados del meta-análisis de efectos fijos se contrastaron empleando un método de efectos aleatorios. En dicho modelo de análisis, todas las asociaciones fueron no estadísticamente significativas (OR = 1,21; 95%IC: 0,87 – 1,67 (<30 ng/mL); OR = 1,08; 95%IC: 0,72 – 1,63 (<50 ng/mL)).

La inspección visual de los *funnel plots* no indicó la presencia de sesgo por publicación a lo largo de los estudios (Figura 17).

**Figura 17.** *Funnel plots* de estudios observacionales. Prematuridad y vitamina D.



*A* insuficiencia de vitamina D (<30 ng/mL); *B* deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL)

Dada la elevada heterogeneidad observada en los estudios, se llevó a cabo un análisis subgrupo de los mismos diferenciando estudios de caso-control y estudios de cohortes empleando un modelo de efectos fijos.

Solamente tres **estudios de caso-control** evaluaron la asociación entre insuficiencia materna de vitamina D (<30 ng/mL) y la prevalencia de prematuridad. Estos mismos estudios también analizaron dicha asociación en relación a la deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL). El análisis subgrupo mostró una ausencia de asociación para ambos rangos de concentración (**OR** =

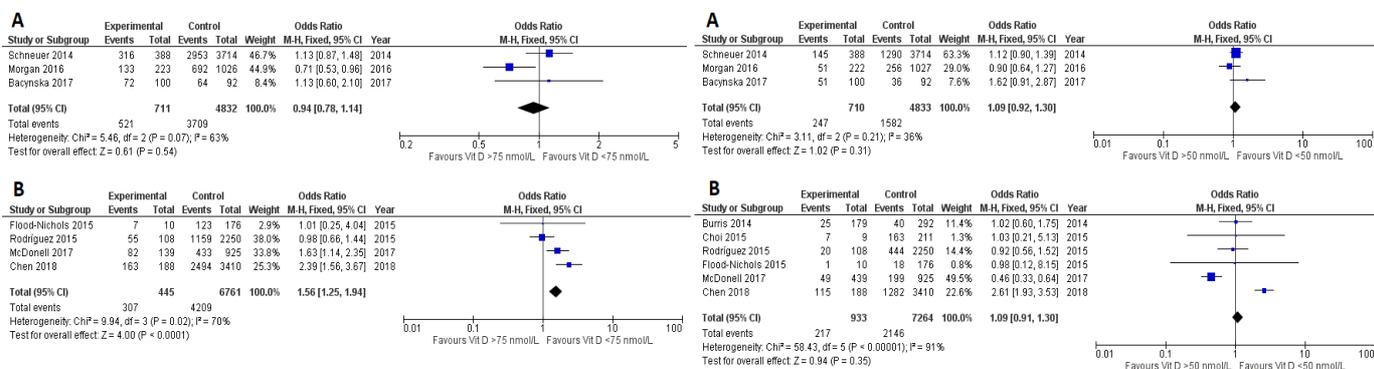
## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**0,94; 95%IC: 0,78 – 1,14;  $I^2 = 63\%$ ,  $p < 0,07$  ( $<30$  ng/mL); **OR = 1,09; 95%IC: 0,92 – 1,30;  $I^2 = 36\%$ ,  $p < 0,19$  ( $<20$  ng/mL).****

En relación a los **estudios de cohortes**, cuatro estudios emplearon concentraciones inferiores a 30 ng/mL mientras que seis consideraron concentraciones de calcidiol inferiores a 20 ng/mL en sus análisis. Los resultados de dichos estudios mostraron que la insuficiencia materna de calcidiol se relaciona con una mayor tasa de parto prematuro pero dicha asociación no se mantuvo para los casos de deficiencia (**OR = 1,56; 95%IC: 1,25 – 1,94;  $I^2 = 70\%$ ,  $p = 0,02$  ( $<30$  ng/mL); **OR = 1,09; 95%IC: 0,91 – 1,30;  $I^2 = 91\%$ ,  $p < 0,00001$  ( $<20$  ng/mL).****

Los resultados del análisis subgrupo quedan recogidos en la figura 18.

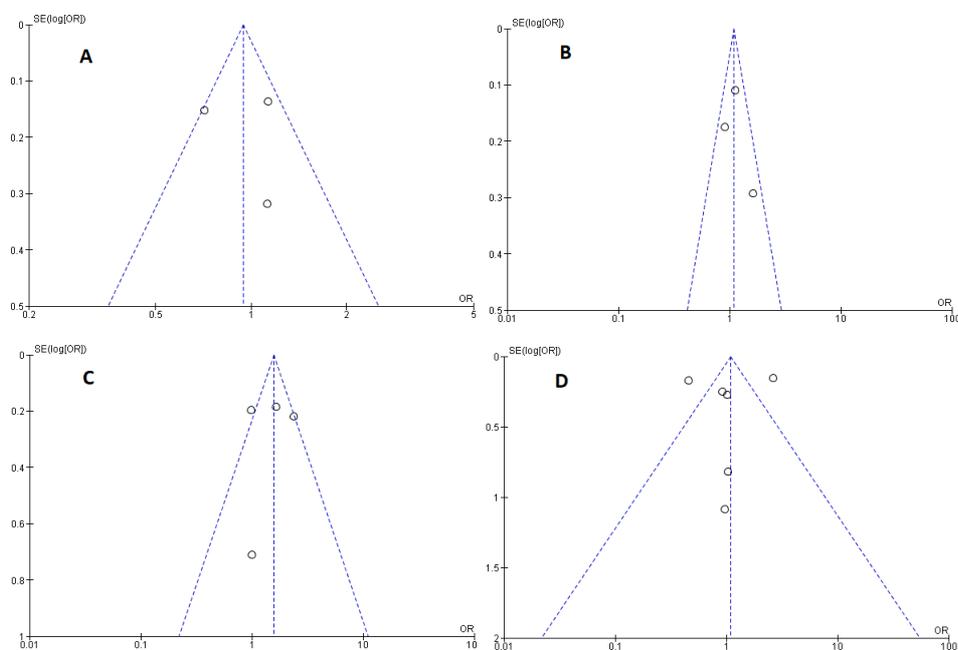
**Figura 18.** Análisis subgrupo. Estudios de caso-control y cohortes.



**A** Estudios de caso-control. Insuficiencia de vitamina D ( $<30$  ng/mL); **B** Estudios de caso-control. Deficiencia de vitamina D ( $<20$  ng/mL); **C** Estudios de cohortes. Insuficiencia de vitamina D; **D** Estudios de cohortes. Deficiencia de vitamina.

En relación al sesgo por publicación, los estudios de cohortes que evaluaron concentraciones inferiores a 30 ng/mL fueron los que contribuyeron en mayor medida a la desviación asimétrica observada en los *funnel plots* (Figura 19).

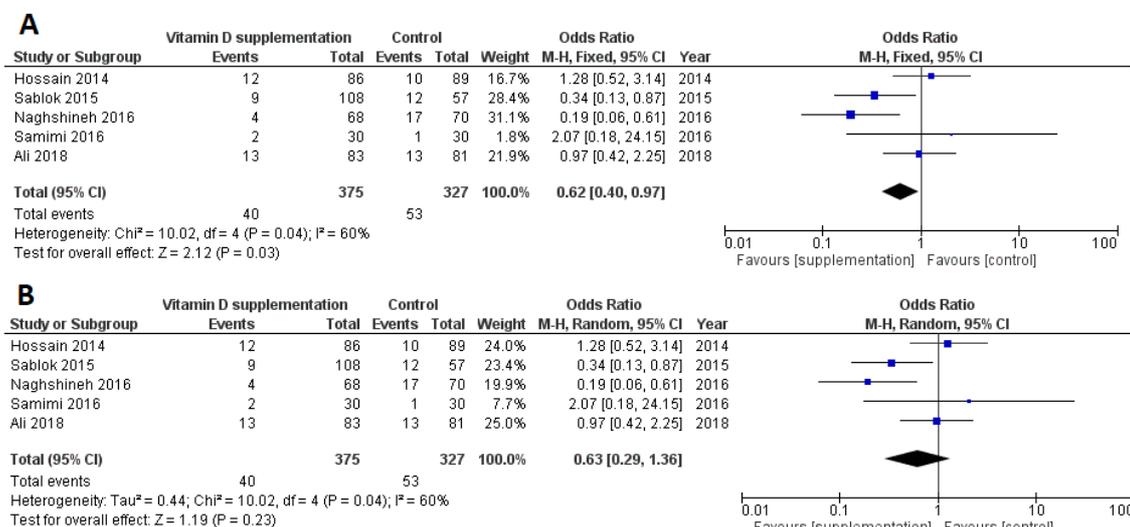
**Figura 19.** *Funnel plots* de los estudios de caso-control y cohortes.



*A* Estudios de caso-control. Insuficiencia de vitamina D (<30 ng/mL); *B* Estudios de caso-control. Deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL); *C* Estudios de cohortes. Insuficiencia de vitamina D; *D* Estudios de cohortes. Deficiencia de vitamina

En relación al parto prematuro, solamente cinco **estudios de intervención** se incluyeron finalmente en el meta-análisis. Dichos estudios comprendieron un total de 702 participantes y 93 casos de parto prematuro (<37 semanas de gestación). El análisis de estos estudios concluyó que la suplementación con vitamina D durante la gestación ejerce un efecto preventivo en el desarrollo del parto prematuro (**OR = 0,62; 95%CI: 0,40 – 0,97; I<sup>2</sup> = 60%, p = 0,03**). En la misma línea que con la preeclampsia, el análisis empleando efectos aleatorios no demostró una asociación estadísticamente significativa. Dichos análisis quedan recogidos en la figura 20.

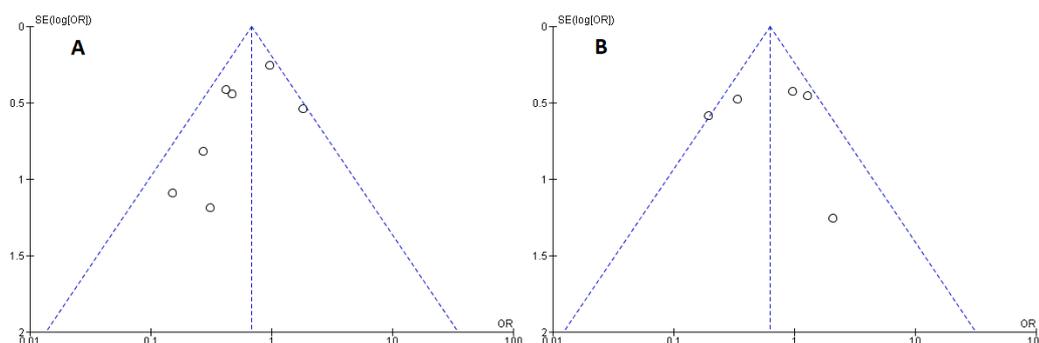
**Figura 20.** Meta-análisis de estudios de intervención. Vitamina D y prematuridad.



*A Meta-análisis de efectos fijos; B Meta-análisis de efectos aleatorios*

Finalmente, la inspección visual de los *funnel plots* de los estudios de intervención de preeclampsia y prematuridad reflejó una clara desviación asimétrica en ambos tipos de estudio lo cual implica la presencia de sesgo por publicación (Figura 21).

**Figura 21.** *Funnel plots* de los estudios de intervención. Preeclampsia y prematuridad.



*A estudios de intervención evaluando preeclampsia; B estudios de intervención evaluando prematuridad.*

En las siguientes tablas 15 y 16 se resumen los principales resultados de los meta-análisis llevados a cabo en el presente estudio.

Tabla 15. Resumen de los análisis. Preeclampsia y vitamina D

<b>Insuficiencia/Deficiencia/Suplementación Vitamina D</b>	<b>Diseño de estudio</b>	<b>Pooled OR (95%IC)</b>
<b>Insuficiencia de vitamina D (&lt;30 ng/mL)</b>	Observacionales	1,44 (1,26 – 1,64) <sup>a</sup>
		1,26 (0,87 – 1,82) <sup>b</sup>
	Caso-control	1,55 (1,35 – 1,79) <sup>a</sup>
	Cohortes	0,92 (0,66 – 1,29) <sup>a</sup>
<b>Deficiencia de vitamina D (&lt;20 ng/mL)</b>	Observacionales	1,47 (1,29 – 1,67) <sup>a</sup>
		1,42 (0,99 – 2,04) <sup>b</sup>
	Caso-control	1,55 (1,32 – 1,83) <sup>a</sup>
	Cohortes	1,33 (1,07 – 1,65) <sup>a</sup>
<b>Suplementación con vitamina D</b>	Intervención	0,68 (0,49 – 0,95) <sup>a</sup>
		0,61 (0,36 – 1,04) <sup>b</sup>

*a: efectos fijos; b: efectos aleatorios*

**Tabla 16.** Resumen de los análisis. Prematuridad y vitamina D

<b>Insuficiencia/Deficiencia/Suplementación Vitamina D</b>	<b>Diseño de estudio</b>	<b>Pooled OR (95%IC)</b>
<b>Insuficiencia de vitamina D (&lt;30 ng/mL)</b>	Observacionales	1,18 (1,02 – 1,36) <sup>a</sup>
		1,21 (0,87 – 1,67) <sup>b</sup>
	Caso-control	0,94 (0,78 – 1,14) <sup>a</sup>
	Cohortes	1,56 (1,25 – 1,94) <sup>a</sup>
<b>Deficiencia de vitamina D (&lt;20 ng/mL)</b>	Observacionales	1,09 (0,96 – 1,24) <sup>a</sup>
		1,08 (0,72 – 1,63) <sup>b</sup>
	Caso-control	1,09 (0,92 – 1,30) <sup>a</sup>
	Cohortes	1,09 (0,91 – 1,30) <sup>a</sup>
<b>Suplementación con vitamina D</b>	Intervención	0,62 (0,40 – 0,97)
		0,63 (0,29 – 1,36) <sup>b</sup>

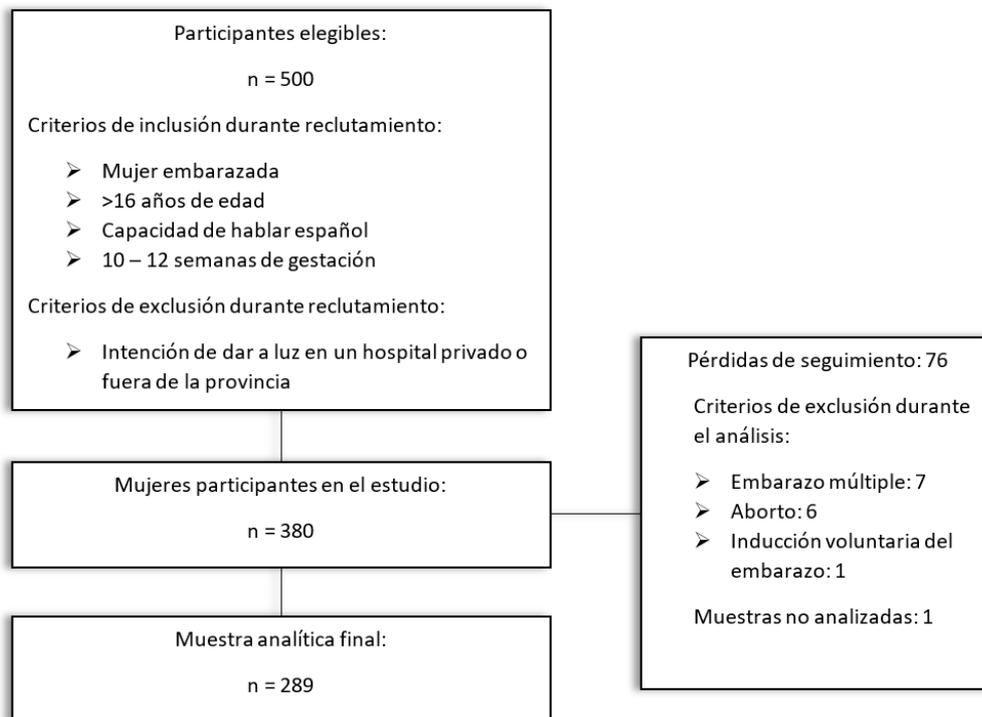
*a: efectos fijos; b: efectos aleatorios*

IV.2. Resultados del estudio de cohortes prospectivo

IV.2.1. Características de las participantes

Se le ofreció participar en el presente estudio a un total de 500 mujeres durante el periodo de reclutamiento en las consultas de obstetricia del hospital Virgen de las Nieves de Granada de las cuales 380 aceptaron participar en el estudio y firmaron el consentimiento informado. Tras el seguimiento, un total de 303 mujeres completaron el estudio (20,26% de pérdidas). La muestra analítica final consistió en 289 que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos. El proceso de selección y seguimiento de participantes queda recogido en la figura 22.

**Figura 22.** Diagrama de flujo de participantes



Elaboración propia

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

Las características sociodemográficas de las mujeres participantes en el estudio diferenciadas en base a la deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL) quedan recogidas en la tabla 17. Las concentraciones de metabolitos relacionados con el metabolismo de la vitamina D siendo estos calcio, fósforo y hormona paratiroidea se recogen en la tabla 18.

**Tabla 17.** Características sociodemográficas de las participantes

Variable	Total de participantes (n = 289)	Vitamina D <20 ng/mL (n = 105)	Vitamina D ≥20 ng/mL (n = 184)	P-valor
<b>Edad materna</b>	33 (29 – 36)	34 (30 – 35,5)	32 (28 – 36)	0,358
<b>Estacionalidad</b>				0,159
Primavera	42 (14,5%)	12 (11,4%)	30 (16,3%)	
Verano	21 (7,3%)	5 (4,8%)	16 (8,7%)	
Otoño	216 (74,7%)	82 (78,1%)	134 (72,83%)	
Invierno	10 (3,5%)	6 (5,7%)	4 (2,17%)	
<b>Tabaquismo</b>				0,976
Si	36 (12,5%)	13 (12,4%)	23 (12,5%)	
No	253 (87,5%)	92 (87,6%)	161 (87,5%)	
<b>Obesidad</b>				0,01*
IMC ≥30	52 (18%)	27 (25,7%)	25 (13,59%)	
IMC <30	237 (82%)	78 (74,3%)	159 (86,41%)	
<b>Paridad</b>				0,198
Nuliparidad	163 (56,4%)	54 (51,4%)	75 (40,76%)	
Multiparidad	126 (43,6%)	51 (48,6%)	109 (59,24%)	
<b>Parto prematuro</b>	17 (5,9%)	10 (9,5%)	7(3,8%)	0,047*
<b>Bajo peso al nacer</b>	24 (8,3%)	13 (12,4%)	11 (6%)	0,058
<b>Pequeño para su edad gestacional</b>	27 (9,3%)	14 (13,3%)	13 (7,1%)	0,078

\* p-valor inferior a 0,05, IMC = índice de masa corporal

**Tabla 18.** Concentración de PTH, calcio y fósforo en base a la deficiencia de vitamina D

Metabolito	Total de participantes (n = 289)	Vitamina D <20 ng/mL (n = 105)	Vitamina D ≥20 ng/mL (n = 184)	P-value
<b>Hormona paratiroidea</b>	21 (16 -29,3) pg/mL	25,50 (16,6 – 34,6) pg/mL	19,6 (15,8 – 26,4) pg/mL	0,002*
<b>Calcio total</b>	9,2 (8,9 – 9,4) mg/dL	9,2 (9 – 9,4) mg/dL	9,2 (8,9 – 9,4) mg/dL	0,914
<b>Fósforo</b>	3,6 (3,4 – 3,9) mg/dL	3,6 (3,4 – 3,9) mg/dL	3,6 (3,4 – 3,9) mg/dL	0,899

*Los datos se representan como mediana (rango intercuartílico). Los p-valores fueron obtenidos mediante la prueba U de Mann-Whitney para variables continuas. \*p-valor inferior a 0,05*

Los resultados de la prueba de Kolmogorov-Smirnov mostraron que la edad materna, IMC, calcio, fósforo y hormona paratiroidea no estaban normalmente distribuidos a lo largo de los puntos de corte de la vitamina D. Todos los números esperados fueron mayores de cinco en la prueba de  $\chi^2$  de Pearson para variables categóricas.

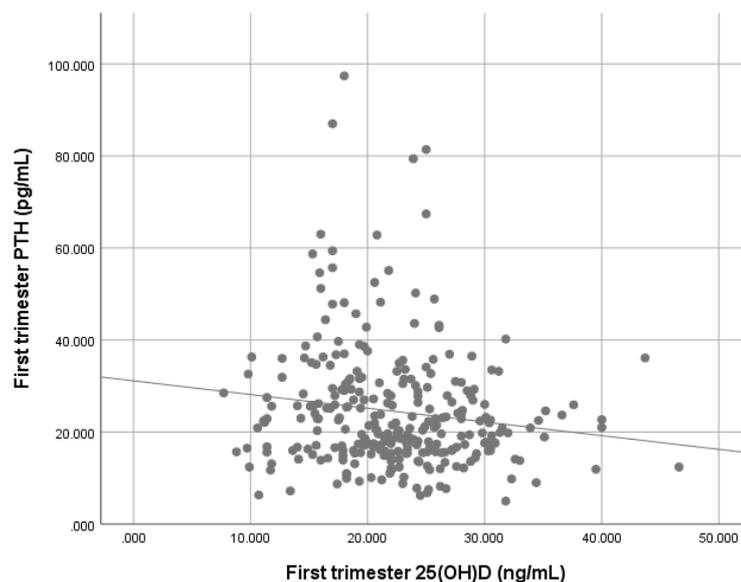
Los niveles de vitamina D maternos se distribuyeron de manera normal entre las participantes. En relación a dichos niveles, la concentración sérica media de 25-hidroxivitamina D fue  $22,36 \pm 6,3$  ng/mL. Un total de 34 mujeres tuvieron niveles suficientes de vitamina D ( $\geq 30$  ng/mL) (11,76%). En cambio, la insuficiencia de vitamina D fue mucho más prevalente habiendo 150 mujeres con niveles plasmáticos comprendidos entre 20 y 29,9 ng/mL (51,9%). Las 105 mujeres restantes padecieron deficiencia de vitamina D (<20 ng/mL) (36,33%).

La mediana (IQR) de la edad materna de las participantes fue 33 años (29 – 36) mientras que el IMC medio pregestacional se situó en 25,1 (21,9 – 29,3). En relación a la obesidad, un total de 52 participantes presentaban IMCs >30 siendo consideradas obesas (18%). Solamente tres mujeres participantes en el estudio eran de origen africano y la mayor parte de las mujeres de origen étnico a las que se les ofreció dicha participación no cumplieron los criterios de inclusión (hablar español). Dado que las tres mujeres de origen africano se perdieron durante el seguimiento, solo se analizaron finalmente participantes caucásicas.

Con respecto al historial obstétrico, 67 mujeres presentaban antecedentes de aborto espontáneo o retenido, una tenía historial de preeclampsia previa, cinco habían padecido anteriormente diabetes mellitus gestacional y 12 mujeres presentaban antecedentes de parto prematuro.

Únicamente la obesidad definida como IMC pregestacional >30, los casos de parto prematuro y la concentración materna de PTH variaron a lo largo de los rangos de concentración seleccionados para la vitamina D (p valor <0,05). La correlación entre 25-hidroxivitamina D y la concentración materna de PTH queda representada en la figura 23. La prueba de correlación de Spearman demostró una asociación inversa entre dichos metabolitos ( $\rho = -0,146$ ,  $p = 0,013$ ). En contraste con estos resultados, ni la concentración materna de calcio ni la de fósforo se relacionaron con la vitamina D en la prueba de Spearman (calcio:  $\rho = 0,022$ ,  $p = 0,705$ ; fósforo:  $\rho = -0,024$ ,  $p = 0,689$ ).

**Figura 23.** Gráfico de dispersión. Correlación entre PTH y 25-hidroxivitamina D.



*Elaboración propia*

#### *IV.2.2. Resultados adversos del embarazo y parto*

La frecuencia de los resultados adversos del embarazo y parto observados en el presente estudio comparados con la frecuencia global estimada de los mismos, así como la de Europa y Estados Unidos queda recogida en la tabla 19. Un caso de preeclampsia consistió en un embarazo múltiple siendo excluido de los análisis. Los casos de diabetes mellitus tipo I y II fueron excluidos a la hora de describir los casos de diabetes mellitus gestacional en la cohorte de estudio.

Con la excepción de los casos de bajo peso al nacer, la frecuencia de los resultados adversos del embarazo y perinatales fue baja en la cohorte de estudio en comparación con las cifras estimadas. Un total de 17 partos fueron prematuros (<37 semanas de gestación) (5,9%) mientras que 24 recién nacidos tuvieron bajo peso gestacional (<2.500 g) (8,3%). Cuando se comparó la edad gestacional y el peso al nacer con los percentiles de referencia en España (190).

calculamos un total de 27 casos de pequeño para su edad gestacional en la cohorte de estudio (peso al nacer inferior al percentil 10 para su edad gestacional) (9,34%).

**Tabla 19.** Frecuencia de los resultados adversos del embarazo y perinatales comparados con frecuencias estimadas regionales y globales.

Resultado	Frecuencia	Frecuencia global estimada	Frecuencia estimada en E.E.U.U	Frecuencia estimada en Europa
Preeclampsia	1,7%	4,6% (2010) (27)	3% (2010) (27)	5,3% (2010) (27)
Diabetes mellitus gestacional	5,6%	16,9% (2013) (51)	4,6–9,2% (2010) (193)	15,2% (2013) (51)
Cesárea	21,5%	31% (2011) (194)	31,9% (2018) (195)	25,2% (2010) (196)
Parto prematuro	5,9%	10,6% (2014) (55)	10,2% (2018) (195)	8,7% (2014) (55)
Bajo peso al nacer	8,3%	14,6% (2015) (197)	8,28% (2018) (195)	6,5% (2015) (197)

#### IV.2.3. Deficiencia de vitamina D, metabolitos y resultados perinatales.

En la tabla 20 se presentan los modelos de regresión logística ajustados y no ajustados que describen la asociación entre la deficiencia materna de vitamina D (<20 ng/mL), la concentración continua materna de PTH, calcio y fósforo y los resultados perinatales. Las variables con p-valores inferiores 0,20 en el análisis bivariante fueron consideradas para su ajuste en el modelo multivariable.

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 20.** Asociaciones entre metabolitos y resultados perinatales. Modelos de regresión.

Resultado		Deficiencia de vitamina D	P-valor	Hormona Paratiroidea	P-valor	Calcio	P-valor	Fósforo	P-valor
<b>Parto prematuro</b>	OR no ajustado	2,662 [0,982 – 7,217]	0,054	1,030 [1,002 – 1,058]	0,035*	2,024 [0,581 – 7,048]	0,268	1,021 [0,630 – 1,652]	0,934
	OR ajustado <sup>1</sup>	3,529 [1,159 – 10,741]	0,026*	1,027 [0,997 – 1,059]	0,083	1,814 [0,513 – 6,413]	0,355	0,764 [0,240 – 2,431]	0,648
<b>Bajo peso al nacer</b>	OR no ajustado	2,222 [0,958 – 5,157]	0,063	1,019 [0,993 – 1,046]	0,156	1,572 [0,566 – 4,366]	0,386	0,738 [0,282 – 1,927]	0,535
	OR ajustado <sup>2</sup>	1,586 [0,586 – 4,336]	0,361	1,009 [0,977 – 1,041]	0,597	1,212 [0,355 – 4,144]	0,758	0,568 [0,189 – 1,711]	0,315
<b>Pequeño para su edad gestacional</b>	OR no ajustado	2,024 [0,912 – 4,488]	0,083	0,985 [0,951 – 1,020]	0,399	1,215 [0,488 – 3,022]	0,676	0,735 [0,296 – 1,913]	0,551
	OR ajustado <sup>3</sup>	1,794 [0,786 – 4,093]	0,165	0,978 [0,939 – 1,018]	0,276	1,127 [0,435 – 2,923]	0,805	0,699 [0,269 – 1,818]	0,463

Datos descritos como OR [95%IC]. <sup>1</sup> Ajustado para: antecedentes de parto prematuro y preeclampsia. <sup>2</sup> Ajustado para: Edad materna, tabaquismo, preeclampsia y parto prematuro. <sup>3</sup> Ajustado para: estacionalidad, tabaquismo y paridad. \* p-valor <0,05.

La deficiencia materna de vitamina D durante el primer trimestre de gestación se relacionó con un riesgo incrementado de parto prematuro en el modelo bivariante pero la asociación no fue estadísticamente significativa (OR = 2,662; 95%IC: 0,982 – 7,217; p = 0,054). Solo tras ajustar por historial de parto prematuro y casos de preeclampsia la asociación resultó estadísticamente significativa (OR = 3,529; 95%IC: 1,159 – 10,741; p = 0,026). La concentración de hormona paratiroidea y el parto prematuro se relacionaron débilmente en el modelo bivariante (OR = 1,030; 95%IC: 1,002 – 1,058; p = 0,035). En relación al peso, se

evidenció una tendencia hacia un mayor riesgo de tener un bebajo peso al nacer entre las mujeres con deficiencia de vitamina D durante el primer trimestre gestacional. No obstante, esta relación no fue estadísticamente significativa en el análisis bivariante o tras el ajuste estadístico (OR = 2,222; 95%IC: 0,958 – 5,157; p = 0,06; aOR = 1,586; 95%IC: 0,586 – 4,336; p = 0,361). En la misma línea, la asociación entre deficiencia materna de vitamina D y el riesgo de pequeño para su edad gestacional no fue estadísticamente significativa en ningún modelo de regresión (OR = 2,024; 95%IC 0,912 – 4,488; p = 0,083; aOR = 1,794; 95%IC: 0,786 – 4,093; p = 0,165). Finalmente, no observamos ninguna correlación entre las concentraciones de fósforo y calcio y los resultados perinatales.

En la tabla 21 queda representadas las asociaciones entre deficiencia e insuficiencia materna de vitamina D a lo largo del percentil 80 de PTH y los resultados perinatales.

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 21.** Asociación entre combinación de niveles maternos de 25-hidroxivitamina D y el percentil 80 de PTH con resultados perinatales.

	Parto prematuro			Bajo peso al nacer			Pequeño para su edad gestacional		
	n (%)	OR	aOR <sup>1</sup>	n (%)	OR	aOR <sup>2</sup>	n (%)	OR	aOR <sup>3</sup>
<b>25[OH]D ≥20 ng/mL (≥50 nmol/L)</b>									
<b>PTH &gt;80</b>	0/26 (0%)	--	--	0/26 (0%)	--	--	0/26 (0%)	--	--
<b>PTH ≤80</b>	7/158 (4,4%)	0,561 [0,207 – 1,517]	0,581 [0,203 – 1,667]	11/158 (7%)	0,679 [0,294 – 1,571]	0,899 [0,333 – 2,432]	13/158 (8,2%)	0,749 [0,339 – 1,656]	0,857 [0,376 – 1,954]
<b>25[OH]D &lt;20 ng/mL (&lt;50 nmol/L)</b>									
<b>PTH &gt;80</b>	6/31 (19,4%)	<b>5,389</b> [ <b>1,837</b> – <b>15,812</b> ]*	<b>6,223</b> [ <b>1,939</b> – <b>19,970</b> ]*	7/31 (19,4%)	<b>4,135</b> [ <b>1,560</b> – <b>10,963</b> ]*	2,653 [0,766 – 9,188]	4/31 (12,9%)	1,514 [0,487 – 4,705]	1,356 [0,407 – 4,518]
<b>PTH ≤80</b>	4/74 (5,4%)	0,888 [0,280 – 2,813]	1,057 [0,313 – 1,357]	6/74 (8,1%)	0,966 [0,368 – 2,533]	0,877 [0,268 – 2,868]	10/74 (13,5%)	1,820 [0,793 – 4,175]	1,663 [0,705 – 3,919]
<b>25[OH]D ≥30 ng/mL (≥75 nmol/L)</b>									
<b>PTH &gt;80</b>	0/4 (0%)	--	--	0/4 (0%)	--	--	0/4 (0%)	--	--
<b>PTH ≤80</b>	2/30 (6,7%)	1,162 [0,253 – 5,346]	1,480 [0,310 – 7,065]	1/30 (3,3%)	0,354 [0,460 – 2,718]	0,257 [0,024 – 2,787]	1/30 (3,3%)	0,309 [0,040 – 2,363]	0,324 [0,041 – 2,548]
<b>25[OH]D &lt;30 ng/mL (&lt;75 nmol/L)</b>									
<b>PTH &gt;80</b>	6/53 (11,3%)	2,611 [0,920 – 7,411]	2,109 [0,673 – 6,611]	7/53 (13,2%)	1,960 [0,769 – 4,998]	1,402 [0,442 – 4,441]	4/53 (7,5%)	0,756 [0,250 – 2,285]	0,713 [0,226 – 2,251]
<b>PTH ≤80</b>	9/202 (4,5%)	0,460 [0,172 – 1,236]	0,492 [0,171 – 1,419]	16/202 (7,9%)	0,849 [0,349 – 2,066]	1,188 [0,391 – 3,615]	22/202 (10,9%)	2,004 [0,733 – 5,479]	2,202 [0,772 – 6,181]

Datos reportados como OR [95%IC]. OR = odds ratio; aOR: odds ratio ajustado; 25[OH]D: 25-hidroxivitamina D; PTH: hormona paratiroidea. <sup>1</sup> Ajustado para preeclampsia y historial de parto prematuro. <sup>2</sup> Ajustado para edad materna, tabaquismo, preeclampsia y parto prematuro. <sup>3</sup> Ajustado para estacionalidad, tabaquismo y paridad. \* p-valor <0,05

En general, la insuficiencia de vitamina D definida como concentraciones maternas de 25-hidroxivitamina D inferiores a 30 ng/mL en combinación con niveles de PTH por encima del percentil 80 se correlacionó con un riesgo incrementado de parto prematuro pero la asociación no fue estadísticamente significativa (OR = 2,611; 95%IC: 0,92 – 7,411; p = 0,071). No obstante, la deficiencia de vitamina D definida como concentraciones inferiores a 20 ng/mL durante el primer trimestre de gestación se asoció fuertemente a un riesgo incrementado de parto prematuro entre las mujeres con niveles de PTH por encima del percentil 80 (**OR = 5,389; 95%IC: 1,837 – 15,812; p = 0,002**). Asimismo, esta asociación se mantuvo tras ajustar los factores confusores del parto prematuro (aOR = 6,587; 95%IC: 2,049 – 21,176; p = 0,002). Concentraciones de vitamina D  $\geq 20$  ng/mL y niveles de PTH por debajo del percentil 80 no se correlacionaron el parto prematuro (p >0,05).

En relación al peso al nacer, los casos de bajo peso fueron más prevalentes entre las mujeres con deficiencia de vitamina D en combinación con valores elevados de PTH (superiores al percentil 80) (OR = 4,135; 95%IC: 2,049 – 21,176; p = 0,004). Sin embargo, la asociación no se mantuvo significativa tras el oportuno ajuste estadístico (aOR = 2,653; 95%IC: 0,766 – 9,188; p = 0,124).

Finalmente, no observamos ninguna asociación entre “pequeño para su edad gestacional” y la deficiencia o insuficiencia materna de vitamina D a lo largo del percentil 80 de PTH en ningún modelo de regresión. Se llevó a cabo un análisis de sensibilidad empleando el percentil 75 de PTH (>29,25 pg/mL) con objeto de evaluar la consistencia de nuestros resultados siendo estos similares a los observados en el análisis principal. Dicho análisis queda recogido en la tabla 22.

## Vitamina D y Metabolitos Relacionados. Resultados Adversos Materno-Fetales

**Tabla 22.** Análisis de sensibilidad. 25-hidroxivitamina D, percentil 75 de PTH y resultados perinatales.

	Parto prematuro			Bajo peso al nacer			Pequeño para su edad gestacional		
	n (%)	OR	aOR <sup>1</sup>	n (%)	OR	aOR <sup>2</sup>	n (%)	OR	aOR <sup>3</sup>
<b>25[OH]D ≥20 ng/mL (≥50 nmol/L)</b>									
<b>PTH &gt;75</b>	0/35 (0%)	--	--	0/35 (0%)	--	--	0/35 (0%)	--	--
<b>PTH ≤75</b>	7/149 (4,7%)	0,651 [0,237 – 1,733]	0,649 [0,226 – 1,865]	11/149 (7,4%)	0,779 [0,337 – 1,801]	1,100 [0,373 – 2,733]	13/149 (8,7%)	0,860 [0,389 – 1,901]	0,957 [0,429 – 2,218]
<b>25[OH]D &lt;20 ng/mL (&lt;50 nmol/L)</b>									
<b>PTH &gt;75</b>	7/37 (18,9%)	5,647 [2,000 – 15,939] *	6,292 [2,054 – 19,271] *	7/37 (18,9%)	3,225 [1,237 – 8,413] *	1,562 [0,446 – 5,469]	6/37 (16,2%)	2,129 [0,798 – 5,682]	1,706 [0,596 – 4,885]
<b>PTH ≤75</b>	3/68 (4,4%)	0,682 [0,190 – 2,449]	0,816 [0,210 – 3,170]	6/68 (8,8%)	1,091 [0,415 – 2,870]	1,305 [0,411 – 4,142]	8/68 (11,8%)	1,418 [0,591 – 3,400]	1,418 [0,575 – 3,498]
<b>25[OH]D ≥30 ng/mL (≥75 nmol/L)</b>									
<b>PTH &gt;75</b>	0/4 (0%)	--	--	0/4 (0%)	--	--	0/4 (0%)	--	--
<b>PTH ≤75</b>	2/30 (6,7%)	1,162 [0,253 – 5,346]	1,480 [0,310 – 7,065]	1/30 (3,3%)	0,354 [0,046 – 2,718]	0,257 [0,024 – 2,787]	1/30 (3,3%)	0,309 [0,040 – 2,363]	0,324 [0,041 – 2,548]
<b>25[OH]D &lt;30 ng/mL (&lt;75 nmol/L)</b>									
<b>PTH &gt;75</b>	7/68 (10,3%)	2,421 [0,885 – 6,628]	2,060 [0,692 – 6,132]	7/68 (10,3%)	1,377 [0,546 – 3,474]	0,808 [0,252 – 2,585]	6/68 (8,8%)	0,922 [0,356 – 2,385]	0,812 [0,303 – 2,181]
<b>PTH ≤75</b>	8/187 (4,3%)	0,462 [0,173 – 1,236]	0,478 [0,166 – 1,374]	16/187 (8,6%)	1,099 [0,454 – 2,664]	1,908 [0,607 – 6,600]	20/187 (10,7%)	1,625 [0,663 – 3,985]	1,877 [0,735 – 4,798]

Datos reportados como OR [95%IC]. OR: odds ratio; aOR: odds ratio ajustado; 25[OH]D: 25-hidroxivitamina D; PTH: hormona paratiroidea.

<sup>1</sup> Ajustado para preeclampsia y historial de parto prematuro. <sup>2</sup> Ajustado para edad materna, tabaquismo, preeclampsia y parto prematuro. <sup>3</sup> Ajustado para estacionalidad, tabaquismo y paridad. \* p-valor <0,05

# V. DISCUSIÓN

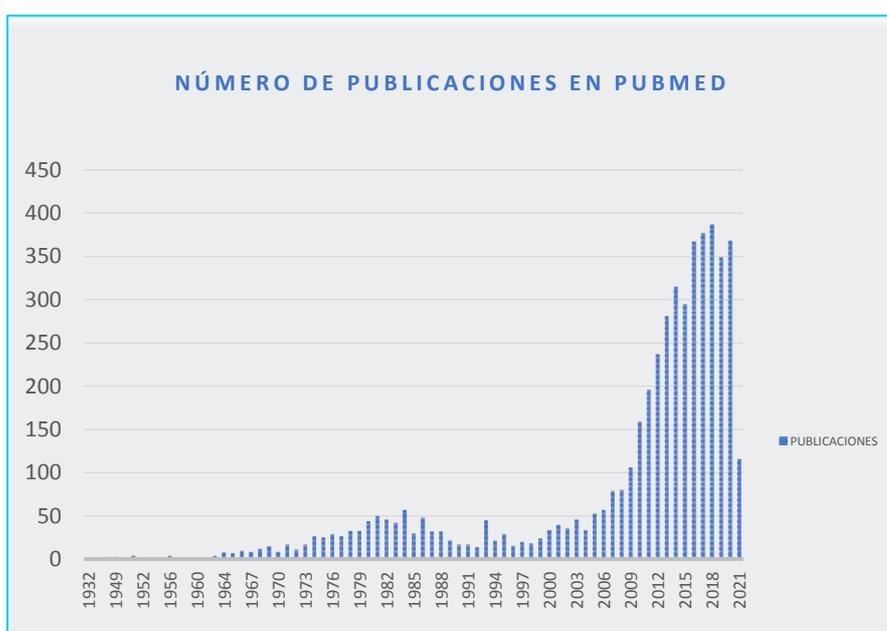


A continuación, serán discutidos los resultados del presente Proyecto de Tesis Doctoral en base a los objetivos definidos.

V.1 Objetivo I. Revisión Sistemática. *Evaluar la evidencia científica actual sobre la asociación entre deficiencia e insuficiencia materna de vitamina D y la prevalencia de preeclampsia y parto prematuro.*

En base al extenso número de artículos incluidos en la presente revisión sistemática se puede observar que la relación entre vitamina D y los resultados adversos del embarazo y parto es un tema de creciente interés en la comunidad científica. En general, la investigación relativa a este secosteroide ha crecido de manera exponencial en los últimos años (79). Dicho incremento se puede apreciar en la figura 24 donde se representa el número de publicaciones recogidas en PubMed (Medline) empleando los descriptores de búsqueda “*vitamin D*” AND “*pregnancy*”.

**Figura 24.** Evolución del número de publicaciones a lo largo del tiempo



Elaboración propia

Los resultados de la presente revisión sistemática y la síntesis de los mismos ponen de manifiesto que existe una tendencia hacia menores concentraciones de vitamina D durante la gestación y una mayor prevalencia de preeclampsia y prematuridad. No obstante, la significancia estadística de dicha asociación depende en gran medida del diseño de los estudios evaluados y del método analítico empleado en la síntesis de los datos. Es por ello que resulta preciso evaluar la heterogeneidad metodológica presente en los estudios incluidos en la revisión.

Un total de 55 estudios publicados entre 2013 y 2019 fueron incluidos en la revisión sistemática. Dicho número de artículos es sustancialmente mayor al de otras revisiones llevadas a cabo hasta la fecha con criterios de inclusión/exclusiones similares (198–201). El incremento en el número de artículos recogidos se podría sustentar en base a la consideración simultánea de dos patologías/alteraciones del embarazo, así como al creciente interés del tema de estudio.

La principal fortaleza de la presente revisión sistemática consiste en la inclusión simultánea tanto de estudios de intervención como de estudios observacionales centrados en dos de las alteraciones más importantes del embarazo: preeclampsia y prematuridad. Asimismo, se emplearon puntos de corte para la definición de deficiencia e insuficiencia de vitamina D ampliamente usados en la práctica clínica y se seleccionaron únicamente los estudios más recientes (últimos seis años) con objeto de evaluar la información más actualizada. Finalmente, una diferencia entre el presente estudio y otros meta-análisis llevados a cabo hasta la fecha es la consideración de dos modelos de análisis estadístico diferentes (efectos fijos y aleatorios) con objeto de evaluar como la selección de dicho modelo de análisis puede influir en los resultados del meta-análisis.

### *V.1.1. Evidencia obtenida en los estudios observacionales*

En términos generales, los resultados del presente meta-análisis sugieren que existe una asociación entre deficiencia e insuficiencia de vitamina D y una mayor prevalencia de preeclampsia y parto prematuro la cual es variable según el diseño de los estudios.

Con respecto a los estudios con diseño observacional que reportaron casos de **preeclampsia**, concentraciones insuficientes de vitamina D (<**30 ng/mL**) se asociaron con un riesgo incrementado **1,44** veces de padecer preeclampsia en comparación a concentraciones suficientes. En esta misma línea, concentraciones deficientes de vitamina D (<**20 ng/ml**) se relacionaron con un riesgo **1,47** veces superior de desarrollar preeclampsia en comparación con concentraciones >20 ng/mL.

Estos resultados son comparables con los observados por Wei. S.Q y cols., en un meta-análisis llevado a cabo en 2013 en el que consideraron los mismos puntos de corte para la deficiencia e insuficiencia de vitamina D. En dicho estudio, la insuficiencia de vitamina D se relacionó con un riesgo 1,78 veces superior de padecer preeclampsia mientras que la deficiencia incrementaba dicho riesgo 2,09 veces (199). En el presente meta-análisis se incluyó un número notablemente superior de estudios lo cual contribuyó a una mayor heterogeneidad entre los estudios incluidos. En esta misma línea, Serrano N.C y cols., meta-analizaron un total de 13 estudios evaluando la asociación entre elevados niveles de vitamina D y riesgo de padecer preeclampsia. En dicho estudio se concluyó un efecto protector entre elevadas concentraciones de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia (OR = 0,57; 95%IC: 0,51 – 0,65) (200). No obstante, con objeto de abarcar el máximo número de estudios posible, no se definieron puntos de corte para la deficiencia o insuficiencia de vitamina D lo cual podría modificar sustancialmente los resultados del análisis.

En relación al método estadístico, Wei S.Q y cols., emplearon un método de efectos fijos en base a la baja heterogeneidad de los estudios incluidos. Por el contrario, Serrano N.C y cols., no especificaron claramente el método finalmente empleado. En el presente estudio, la asociación entre deficiencia e insuficiencia de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia no fue estadísticamente significativa al sustituir el método de efectos fijos por aleatorios. En esta línea, algunos autores apuntan que el uso de un modelo estadístico u otro no debería sustentarse en base a la heterogeneidad observada entre los estudios siendo preferible decantarse por uno u otro en base a las necesidades del estudio o discutir los resultados de ambos métodos (202).

La elevada heterogeneidad entre los estudios incluidos en la revisión y las discrepancias entre los distintos métodos de estudio justifican el análisis subgrupo de los mismos en base al diseño metodológico con objeto de examinar qué modelo de estudio contribuye en mayor medida a dicha heterogeneidad. El análisis subgrupo de los estudios observacionales que compararon riesgo de padecer preeclampsia y concentración materna de vitamina D sugirió que fueron los cuatro estudios de caso-control los que contribuyeron en mayor medida a la desviación asimétrica en los *funnel plot*. Asimismo, el meta-análisis de los estudios de caso-control arrojó resultados muy similares para concentraciones maternas de vitamina D <30 ng/mL y <20 ng/mL siendo el riesgo de desarrollar preeclampsia 1,55 veces mayor en ambos casos en comparación con mujeres con concentraciones suficientes. Por el contrario, los estudios de cohortes arrojaron resultados dispares e incluso contradictorios siendo solo la insuficiencia de vitamina D un factor de riesgo para el desarrollo de preeclampsia.

Con respecto a la **prematuridad**, los resultados obtenidos en el meta-análisis de estudios observacionales mostraron que la insuficiencia de vitamina D (<30 ng/mL) se relacionaba con un riesgo **1,18** veces mayor de padecer parto prematuro. En cambio, la deficiencia de vitamina D

(<20 ng/mL) se asoció con un riesgo **1,09** veces mayor de tener un parto prematuro siendo esta asociación no significativa. Similarmente, el análisis mediante el modelo de efectos aleatorios mostró una ausencia de asociación para ambos puntos de corte.

Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos por Quin L.L y cols., en un meta-análisis en el cual emplearon los mismos puntos de corte para la deficiencia e insuficiencia de vitamina D. El análisis mediante efectos fijos de los estudios incluidos concluyó que tanto la deficiencia como la insuficiencia de vitamina D se relacionaban con una mayor prevalencia de parto prematuro (<20 ng/mL OR = 1,29; 95%IC: 1,16 – 1,45; <30 ng/mL OR = 1,25; 95%IC: 1,11 – 1,40) (201). La heterogeneidad entre los estudios incluidos fue moderada o baja. No obstante, la mayor parte de los estudios incluidos en dicha revisión fueron publicados antes de 2013 por lo que fueron excluidos de la presente revisión. Otro meta-análisis llevado a cabo por Zhou S.S y cols., concluyó que el riesgo de padecer parto prematuro en las mujeres con concentraciones maternas de calcidiol inferiores a 20 ng/mL era 1,25 mayor que en las mujeres con concentraciones séricas de calcidiol superiores a 20 ng/mL. Sin embargo, esta asociación no se reprodujo en las mujeres con concentraciones inferiores a 30 ng/mL (OR = 1,09; 95%IC: 0,89 – 1,35) (Zhou S.S – 2016).

En la misma línea que con la preeclampsia, se realizó un análisis subgrupo según el diseño de los estudios que evaluaron prematuridad. Solamente tres estudios de caso-control pudieron ser incluidos en dicho análisis subgrupo. En contraposición con los resultados observados en relación al riesgo de desarrollar preeclampsia, el análisis de los estudios de caso-control no apoyó la hipótesis de que la deficiencia o suficiencia de vitamina D durante la gestación incrementase el riesgo de prematuridad. Asimismo, solo los estudios de cohortes que relacionaron concentraciones inferiores a 30 ng/mL observaron un riesgo 1,56 veces

incrementado de padecer parto prematuro mientras que los que analizaron concentraciones inferiores a 20 ng/mL obtuvieron resultados estadísticamente no significativos.

El motivo por el que los resultados de los distintos meta-análisis se puede deber en parte al número de artículos incluidos en los mismos, así como a la heterogeneidad de dichos estudios en términos de periodo de muestreo, técnica analítica empleada y otros factores confusores contemplados (203).

### *V.1.2. Heterogeneidad metodológica*

Algunos autores han observado que la concentración de calcidiol se incrementa conforme progresa la gestación (204) mientras que otros autores han determinado una ausencia de asociación (205) o incluso una relación inversa entre la concentración de calcidiol y el progreso del embarazo (206). Aunque el trimestre gestacional en el que se realiza el muestreo no repercute en la concentración de calcidiol observada, es destacable que dicho momento sí influye en la información obtenida sobre los resultados obstétricos a estudiar. En este sentido, la preeclampsia es una patología que se manifiesta a partir de la semana 20 de gestación pero que podría tener sus orígenes durante el embarazo temprano mediante un proceso de placentación anómalo (207). La deficiencia de vitamina D diagnosticada a partir de la semana 20 de gestación podría ser consecuencia del propio proceso etiológico de la preeclampsia. Con objeto de asegurar una relación causal, algunos autores destacan el beneficio de medir la concentración de calcidiol en dos o más trimestres gestacionales (208).

En relación a la prematuridad, esta se relaciona en gran medida con los procesos infectivos durante el embarazo. Es por ello, que el análisis de vitamina D a partir de la segunda mitad de la gestación podría ser de utilidad para evaluar el estado de dicha vitamina D durante el

desarrollo del proceso infeccioso. No obstante, Bodnar L.M y cols., evaluaron 469 mujeres en un estudio prospectivo en Pittsburgh observando una clara tendencia entre bajas concentraciones de calcidiol y una mayor prevalencia de vaginosis bacteriana durante el primer trimestre de gestación (<16 semanas de gestación) la cual es un factor de riesgo para el desenlace del parto prematuro (209). Por todo ello, resulta razonable que nuevos estudios prospectivos analicen los metabolitos de la vitamina D en distintos periodos de la gestación con objeto de evaluar la asociación con los resultados adversos materno-fetales comentados.

En base a que el metabolismo de la vitamina D se desplaza durante la gestación hacia concentraciones incrementadas de calcitriol debido al incremento de su síntesis a nivel placentario y dada la gran complejidad de su metabolismo, algunos autores han sugerido que depender únicamente del análisis sanguíneo de calcidiol podría ser insuficiente a la hora de evaluar su asociación con resultados adversos de embarazo. Particularmente, se han propuesto otros metabolitos de interés siendo algunos de ellos el propio calcitriol, la 24,25-dihidroxitamina D y el epímero en posición tres del calcidiol (3-epi-25-hidroxitamina D) (210).

Mientras que el calcitriol es el metabolito más activo de la vitamina D, otras de estas moléculas parten del metabolismo catabólico de dicha vitamina pese a lo cual podrían mantener cierta actividad biológica. El epímero en posición tres del calcitriol ha demostrado tener propiedades antiproliferativas en estudios *in vitro* y podría ejercer una función en el soporte del metabolismo óseo según reportan resultados de estudios *in vivo*. Dicho metabolito puede representar el 6,5% del total de vitamina D en la mujer embarazada siendo este el epímero más abundante de la vitamina D (211). Asimismo, la 3-epi-25-hidroxitamina D y sus metabolitos podría desplazar la proteína transportadora DBP o unirse a hidroxilasas pudiendo jugar un papel

indirecto en la función biológica de la vitamina D. En relación a la 24,25-dihidroxitamina D, esta puede representar entre el 2-20% del total de calcidiol, siendo aún más significativa cuando las concentraciones de calcidiol son bajas y pudiendo representar un problema de reactividad cruzada en los ensayos de otros metabolitos (212). Algunos autores sugieren que la placenta podría ser una fuente de producción de estas moléculas pudiendo jugar un papel importante en el embarazo (211).

Pese a que la concentración de calcitriol es muchísimo más baja que la de calcidiol y se encuentra sometida a un estricto control homeostático (213), ciertos autores han propuesto que la ratio calcitriol/calcidiol podría constituir un biomarcador más preciso a la hora de estudiar las complicaciones del embarazo (214). Finalmente, un número creciente de autores considera oportuno que la medición de otras moléculas como DBP, calcio y hormona paratiroidea puede ayudar a dilucidar el potencial clínico del diagnóstico de la deficiencia de vitamina D (181,213).

Si bien parece evidente el potencial que el análisis de los epímeros de vitamina D y otras moléculas propias del metabolismo de esta vitamina podría tener a la hora de estudiar su asociación con los resultados adversos materno-fetales, existen limitaciones técnicas a considerar. La técnica analítica empleada es una de las principales limitaciones a la hora de analizar los metabolitos de vitamina D. En lo relativo al análisis de calcidiol, el ensayo de inmunoadsorción (ELISA) es una de las técnicas más frecuentemente empleadas. No obstante, ELISA es incapaz de diferenciar entre vitamina D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub>, ventaja que si poseen otras técnicas como es la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Además, el corto tiempo de semivida de algunos metabolitos tales como el calcitriol dificulta en gran medida su medición rutinaria (215). Por último, la técnica *gold standard* para el análisis del calcidiol es la cromatografía líquida en tándem con espectrometría de masas (LC-MS). Esta técnica también

permite el análisis de otros metabolitos de interés como el 3-epi-25-hidroxitamina D, pero el elevado coste, su complejidad instrumental y su escasa automatización en comparación con el inmunoensayo (213) hacen que no sea accesible para muchos laboratorios (211).

Diversos estudios han observado que la deficiencia de vitamina D, si bien es muy prevalente en todos los meses del año, es particularmente prevalente durante los meses de invierno en base a una menor exposición solar (216,217). Es por ello que la estacionalidad del muestreo es un factor a controlar en los estudios de vitamina D pues puede influenciar la tasa de deficiencia observada y las resultantes asociaciones con los resultados adversos de embarazo. En la misma línea, la latitud geográfica a la cual pertenece la población de estudio también conlleva una importante variabilidad en relación a la tasa de exposición solar. Está bien documentado en la literatura científica que la deficiencia de vitamina D es más prevalente en países nórdicos con menor tasa de exposición solar (218,219). En particular, algunos autores apuntan a una mayor prevalencia y gravedad de la enfermedad respiratoria COVID-19 en poblaciones con alta tasa de deficiencia de vitamina D en los primeros meses de la pandemia provocada por el virus SARS-CoV-2 en 2020 (220) lo cual podría explicar pautas de distribución de la enfermedad en base a la latitud geográfica. Algunos estudios recientes han reforzado dicha idea observando una prevalencia hasta cinco veces superior de COVID-19 en personas con deficiencia de vitamina D (221). Es por tanto que la latitud geográfica es un factor a tener en cuenta a la hora de analizar patologías y alteraciones relacionadas con la deficiencia de vitamina D.

Algunos países tales como España y Grecia, aun presentando altas tasas de exposición solar, tienen una elevada prevalencia de deficiencia de vitamina D en su población. Por lo tanto, otros factores tales como la política de suplementación, el sedentarismo, uso de fotoprotectores, raza y obesidad han de considerarse en su conjunto. La etnicidad es un factor particularmente

relevante. Tabatabaei N y cols., en su estudio de caso-control observaron que la insuficiencia de vitamina D se asociaba con un riesgo incrementado de parto prematuro únicamente en las mujeres de minoría étnica (etnia subsahariana y arábiga) (210). van Weet B y cols., observaron una relación entre deficiencia severa de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia, pero dicha asociación no fue estadísticamente significativa tras ajustar el modelo de regresión a edad, raza, IMC, tabaquismo y nivel educativo (222). Las diferencias basadas en la etnicidad se atribuyen principalmente a la concentración cutánea de melanina que puede actuar como barrera ante la radiación solar. Una forma de evaluar de manera objetiva la tonalidad cutánea consistiría en reportar el fototipo de Fitzpatrick de las participantes (223). No obstante, la etnicidad podría influenciar a otros niveles tales como costumbres, vestimentas o diferencias de actividad metabólica, etc.

Finalmente, los valores empleados para definir concentraciones insuficientes o deficientes de vitamina D, así como la definición de los resultados adversos materno-fetales considerados son factores que contribuyen en gran medida a la heterogeneidad metodológica. En este sentido, varios estudios incluidos en la presente revisión sistemática han observado que la asociación entre concentraciones maternas bajas de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia es particularmente significativa entre los casos de preeclampsia severa (224–227). Similarmente, algunos autores reportaron que la asociación entre deficiencia de vitamina D y parto prematuro se hacía más patente en los casos de parto prematuro extremo (<32 semanas de gestación) (228) mientras que otros fallaron a la hora de replicar dicha asociación u observaron que la deficiencia de vitamina D constituía un factor de riesgo independientemente del subtipo de parto prematuro (229–231). En vista de la disparidad de los resultados discutidos, es relevante que los futuros estudios clínicos consideren los subtipos clínicos de las patologías y alteraciones del embarazo

estudiadas con objeto de definir claramente las asociaciones y evitar potencial sesgo por reporte selectivo (*selective reporting bias*) (226). Los posibles factores confusores presentes en la asociación entre vitamina D y los resultados perinatales y materno-fetales se recogen en la tabla 23.

**Tabla 23.** Potenciales factores confusores de la deficiencia de vitamina D.

Variable	Descripción
Suplementación con vitamina D	La suplementación con vitamina D influye en la prevalencia de la deficiencia e insuficiencia de vitamina D en la población de estudio. En particular, la suplementación con vitamina D2 conlleva la necesidad de evaluar dichos metabolitos usando una técnica analítica adecuada.
Técnica analítica	De la elección de la técnica analítica depende no solo la precisión de los valores observados si no también la capacidad para separar la vitamina D de su proteína transportadora DBP, diferenciar entre vitamina D2 y D3, así como detectar otros metabolitos (calcitriol, epímeros, etc.)
Metabolitos	En base a su complejo metabolismo, el análisis aislado de calcidiol puede ser insuficiente para valorar la deficiencia e insuficiencia de vitamina D pudiendo ser necesario analizar otros metabolitos tales como calcitriol, proteína transportada DBP o epímeros de dicha vitamina D, así como otros co-nutrientes y metabolitos asociados tales como calcio u hormona paratiroidea.
Estacionalidad	La estacionalidad se relaciona estrechamente con la tasa de exposición solar y por tanto con la síntesis endógena de vitamina D, siendo importante homogeneizar el muestreo a lo largo de todos los meses del año.
Etnicidad	Tonos más oscuros de piel se relacionan con una mayor deficiencia de vitamina D en base al efecto protector de la melanina sobre la eficacia fotosintética del precolecalciferol.
Latitud	La exposición solar depende en gran medida de la latitud geográfica a la que pertenece la población de estudio. Latitudes septentrionales se asocian con una mayor prevalencia de deficiencia e insuficiencia de vitamina D.
Diseño de estudio	Distintos diseños de estudio han arrojado diferentes resultados. Es importante armonizar aspectos tales como el trimestre gestacional en el que se analiza la concentración plasmática de vitamina D, la definición de casos de la patología o alteración a estudiar, así como los posibles subtipos clínicos de la misma.

### *VI.1.3. Evidencia obtenida en los estudios de intervención*

Es habitual entre los autores de los estudios incluidos en la presente revisión concluir que existe una necesidad de llevar a cabo nuevos ensayos clínicos con suplementación de vitamina D durante el embarazo. Dichos estudios tienen como objetivo definir una asociación causal entre la suplementación con vitamina D y la prevalencia de preeclampsia y/o prematuridad. A pesar de ello, únicamente siete estudios de intervención publicados entre 2013 y 2019 fueron incluidos en la presente revisión sistemática en comparación con 47 estudios observacionales. En relación a dichos estudios, los resultados del presente meta-análisis mediante modelo de efectos fijos sugieren que existe un efecto protector por parte de la suplementación con vitamina D en el desarrollo de preeclampsia o parto prematuro no siendo dicha asociación estadísticamente significativa cuando se emplea un modelo de análisis de efectos aleatorios.

Otro meta-análisis llevado a cabo por Perez-López y cols., en 2015 concluyó que el efecto protector de la suplementación con vitamina D en el desarrollo de preeclampsia y prematuridad no era estadísticamente significativo (232). Por el contrario, Palacios y cols., en un meta-análisis de Cochrane publicado en 2016, observaron que la suplementación con vitamina D se asociaba con un menor riesgo de padecer preeclampsia independientemente de su coadministración con calcio (233). En línea con lo comentado acerca de los estudios observacionales, las discrepancias entre los distintos meta-análisis y modelos estadísticos puede deberse a la heterogeneidad entre los estudios incluidos en base al periodo de suplementación, dosis administrada, cegamiento de los participantes y otros potenciales factores confusores. Notablemente, cinco de los siete estudios de intervención recogidos en la presente revisión sistemática evaluaron varios resultados adversos del embarazo y parto simultáneamente. Las conclusiones de estos estudios en relación a la concentración materna de vitamina D no pueden

ser evaluadas si no es mediante un adecuado ajuste estadístico y una consideración de cada resultado adverso de manera individualizada.

Los ensayos clínicos son considerados el *gold standard* a la hora de evaluar intervenciones en salud. No obstante, algunos autores han señalado que dicho diseño de estudio presenta serios inconvenientes de cara al análisis de nutrientes. Tal y como apunta Heaney R.P, los nutrientes, al contrario que los fármacos, presentan un estado basal que no debe ser menospreciados en los estudios clínicos (234). Otro error habitual en estos estudios es la ausencia de consideración de otros metabolitos que van a participar en el metabolismo de la vitamina D como es el calcio. De por sí, numerosos estudios han sugerido que la suplementación con calcio podría jugar un papel beneficioso en la prevención de la preeclampsia (235). Igual que sucede con la suplementación con vitamina D, es difícil obtener conclusiones sólidas relativas a la suplementación con calcio en base a problemas metodológicos recurrentes. En esta misma línea, Heaney R.P sugiere una serie de criterios que deberían regir en los estudios clínicos con nutrientes (234):

- 1 El estado basal del nutriente debe ser medido y empleado como criterio de inclusión, así como debe ser reportado en el estudio.
- 2 La intervención debe ser capaz de cambiar el estado basal del nutriente de manera que se pueda cuantificar dicho cambio mediante métodos adecuados.
- 3 El cambio en el estado del nutriente debe ser medido y reportado en el estudio.
- 4 La hipótesis a probar debe ser que el cambio en el estado del nutriente (y no el cambio en la dieta) debe producir el efecto deseado.
- 5 El estado de otros co-nutrientes debe ser optimizado con objeto de asegurar que el nutriente evaluado es el factor limitante de la respuesta observada.

A estos criterios Wagner C.L y Hollis B.W añaden uno más: el nutriente investigado debe seguir un apropiado esquema de dosificación adecuado al sistema fisiológico investigado (236). En línea con lo apuntado por Wagner C.L y Hollis B.W, los estudios recogidos en la presente revisión no cumplirían con varios de los criterios expuestos lo cual podría sesgar notablemente sus resultados.

Existe una gran heterogeneidad en torno al periodo óptimo de suplementación con vitamina D durante la gestación. Mientras que algunos autores sugieren que la suplementación con vitamina D es útil durante el comienzo del embarazo, antes del desarrollo de patologías tales como la preeclampsia, otros recomiendan que dicha suplementación tenga lugar al final del embarazo, periodo en el cual parece ser más eficaz para prevenir el parto prematuro. En este sentido, los ensayos clínicos con suplementación de vitamina D deben centrarse en objetivos predefinidos y deben reclutar mujeres con concentraciones deficientes de vitamina D (o sub-analizar dicho grupo) con objeto de evaluar de manera eficaz dosis y regímenes de suplementación eficaces (237).

En relación a la dosis, el IOM recomienda que la ingesta de vitamina D durante la gestación oscile entre 400-600 UI/día con objeto de mantener la homeostasis ósea y promover el adecuado crecimiento fetal (80). Cuando los niveles de vitamina D son deficientes, una ingesta diaria de 600 UI podría no ser suficiente para alcanzar niveles óptimos de vitamina D (233). En este sentido, el ACOG recomienda suplementar con 1.000-2.000 UI/día de vitamina D a las mujeres que presenten deficiencia de dicha vitamina D durante la gestación siendo el límite terapéutico 4.000 UI/día (238). Algunas instituciones como la Federación Internacional de Obstetricia y Ginecología (FIGO) van un paso más allá y recomiendan la suplementación rutinaria prenatal con 250-600 UI/día de vitamina D durante el embarazo independientemente del

estado basal de vitamina D. Dicha suplementación no tendría como propósito la prevención de la preeclampsia o la prematuridad (239). Con objeto de evaluar que dosis serían necesarias para la prevención de dichos resultados materno-fetales son necesarios ensayos clínicos que evalúen la eficacia de la suplementación con altas dosis de vitamina D en mujeres embarazadas con deficiencia de dicha vitamina. No obstante, dichos estudios están sujetos a criterios éticos relevantes siendo esta una importante limitación de los ensayos clínicos que evalúen dicha suplementación.

### *VI.1.4. Fortalezas y limitaciones*

La principal fortaleza del presente estudio es la consideración simultánea de preeclampsia y prematuridad, dos de las alteraciones más importantes del embarazo y parto, dada su prevalencia y la gravedad de sus comorbilidades asociadas. Asimismo, el extenso número de estudios incluidos, la actualidad de los mismos y el uso de dos modelos estadísticos distintos (efectos aleatorios y efectos fijos) representa un factor diferencial con otras revisiones llevadas a cabo sobre el presente tema de estudio lo cual permite un mayor número de comparaciones. Finalmente, se han realizado análisis subgrupo en base a diferentes diseños metodológicos (caso-control, cohortes e intervención) lo cual permite realizar una evaluación detallada de la evidencia proporcionada por dichos estudios, así como estudiar las causas de la heterogeneidad metodológica de los mismos.

La presente revisión sistemática no está exenta de limitaciones. Al considerarse solo los estudios publicados entre 2013 y 2019 se ha excluido un gran número de estudios lo cual podría sesgar las comparaciones con otras revisiones llevadas a cabo que si incluyesen dichos estudios. Asimismo, el idioma se ha restringido al inglés y no se incluyó literatura gris (talleres, guías de consenso, reportes de instituciones y gobiernos...) pudiendo haberse excluido información

relevante de cara al análisis de resultados. Es de destacar que no se consultó a los autores de los artículos para obtener información adicional no reportada en los manuscritos lo cual ha conllevado que algunos estudios no fuesen meta-analizados. Asimismo, no fue viable ajustar los resultados del meta-análisis a aquellas covariables que pudiesen modificar las asociaciones estudiadas debido a la elevada heterogeneidad entre los datos reportados por los autores de los estudios incluidos en la revisión siendo por ello que la única fuente de heterogeneidad estudiada consistió en el diseño de estudio empleado.

V.2 Objetivo II. Estudio de cohortes: deficiencia de vitamina D y parto prematuro. *Contrastar la relación entre deficiencia materna de vitamina D y la prevalencia de parto prematuro durante el embarazo temprano en una cohorte de estudio de la población de Granada.*

En el presente estudio de cohortes prospectivo llevado a cabo en gestantes asistentes al Complejo Hospitalario Virgen de las Nieves de Granada se pudo observar una elevada prevalencia de deficiencia de vitamina D. Únicamente el 11.76% de las mujeres participantes en el estudio presentaron niveles suficientes de vitamina D ( $>30$  ng/mL) mientras que más de dos terceras partes del total de mujeres participantes presentaron niveles deficientes de vitamina D (inferiores a 20 ng/mL). La ratio suficiencia/insuficiencia observada es similar a la obtenida por Perez-Ferre y cols., en un estudio de cohortes prospectivo llevado a cabo en 266 mujeres embarazadas durante la semana 24 – 28 de gestación en Madrid, España (240). En dicho estudio se encontró una asociación similar entre deficiencia de vitamina D y una mayor prevalencia de parto prematuro empleando los mismos puntos de corte para la deficiencia de vitamina D (OR = 3,31, 95%IC (,52, 7,19),  $p = 0.002$ /aOR = 3,80, 95%IC (1,32, 10,97),  $p = 0,013$ ). No obstante,

en el presente estudio solo observamos una asociación estadísticamente significativa entre la deficiencia de vitamina D y el parto prematuro tras ajustar aquellos factores confusores que tuvieron significancia estadística en el modelo bivariable ( $p < 0,20$ ). Las diferencias entre los resultados de ambos estudios podrían ser atribuidas al significativamente menor número de casos de parto prematuro observados en nuestro estudio de cohortes, así como a los distintos momentos de muestreo. Otro estudio llevado a cabo en una cohorte de 2.382 mujeres embarazadas en España no observó ninguna asociación entre la concentración materna de calcidiol y los resultados adversos perinatales, incluyendo parto prematuro y bebé nacido pequeño para su edad gestacional (PEG) (241). Sin embargo, casi el 50% de las participantes en dicho estudio tenía niveles suficientes de vitamina D lo cual implica una menor tasa de insuficiencia en comparación a la población general.

Empleando diseños de estudio similares, varios autores han explorado la asociación entre deficiencia de vitamina D y prematuridad en otros países observando resultados negativos (217,242), mientras que otros estudios de características similares han arrojado resultados positivos (243,244). Los autores de dichos estudios mencionan la necesidad de llevar a cabo ensayos clínicos con suplementación de vitamina D. Como se ha comentado, dichos estudios han de afrontar importantes aspectos éticos, así como optimizar criterios relativos al estudio de nutrientes entre los que destaca la consideración de otros metabolitos relacionados con el estado de la vitamina D. En este sentido, la vitamina D regula la homeostasis del calcio y fósforo y su producción se encuentra estrechamente controlada por la concentración de PTH. Es por ello que resulta lógico evaluar el papel que dichos metabolitos puedan jugar en la asociación entre deficiencia de vitamina D y los resultados del embarazo y parto.

V.3 Objetivo III. Estudio de Cohortes. Vitamina D y metabolitos relacionados. *Analizar el papel que otros metabolitos relacionados con el metabolismo de la vitamina D tales como hormona paratiroidea, calcio y fósforo juegan en su asociación con los resultados adversos perinatales siendo estos parto prematuro, bajo peso al nacer y pequeño para su edad gestacional.*

Santoreilli y cols., midieron los niveles de 25-hidroxivitamina D, PTH y calcio en una población heterogénea compuesta por 1.010 mujeres embarazadas diferenciando, según sus autores, entre participantes blancas y pakistaníes. Niveles elevados de calcio se asociaron significativamente con una menor prevalencia de parto prematuro entre las participantes blancas mientras que la vitamina D ejerció un efecto protector en la prevalencia de PEG en el total de la cohorte de estudio (158). En el presente estudio no observamos una asociación entre concentraciones maternas de calcio total y parto prematuro en una población de origen caucásico. No obstante, debido a limitaciones muestrales, no pudimos evaluar el impacto que la etnicidad pudo tener en los análisis.

Otros autores han explorado el concepto de deficiencia funcional de vitamina D durante la gestación consecuencia del estrés metabólico de calcio el cual podría, en última instancia, ser el responsable de los resultados adversos perinatales asociados a la deficiencia de este secoesteroide. Este concepto se ha aplicado para examinar la asociación entre deficiencia de vitamina D, hipertensión gestacional y crecimiento fetal restringido (180,181). Scholl T.O y cols., observaron una alta incidencia de PEG entre aquellas mujeres con niveles de PTH >62 pg/mL en combinación con niveles de calcidiol <20 ng/mL o ingesta de calcio inferior a 60% los requerimientos promedios estimados (OR = 2,23, 95%IC (1,23, 4,33)) (180). En la misma línea, Hemmingway A y cols., observaron un riesgo incrementado 2,38 veces de desarrollar PEG entre

aquellas mujeres con niveles de calcidiol inferiores a 12 ng/mL en combinación con niveles de PTH superiores al percentil 80 en la cohorte de estudio (RR = 2,38, 95%IC (1,31, 4,33)). No obstante, dicha asociación no fue estadísticamente significativa tras el ajuste estadístico (181). Asimismo, Meng D.H y cols., midieron prospectivamente PTH, calcio y calcidiol en una población constituida por 3.407 mujeres embarazadas en China observando que niveles maternos de calcidiol <12 ng/mL y <20 ng/mL en combinación con concentraciones de PTH superiores al percentil 75 se asociaban con un riesgo incrementado de PEG y un menor peso en comparación con mujeres con concentraciones suficientes de vitamina D. Esta relación se mantenía también al estudiar el percentil 80 (245). Por otro lado, Tao y cols., analizaron el efecto que la duración de la suplementación con vitamina D (400-600 UI/día) podría jugar en el desarrollo fetal encontrando una relación directa en una mayor duración de la suplementación y una mayor duración del embarazo, así como mayor peso al nacer independientemente de la concentración de calcio y fósforo (246).

En el presente estudio, se pudo observar una relación entre bajo peso al nacer y concentraciones de vitamina D <20 ng/mL en combinación con concentraciones de PTH por encima del percentil 80. No obstante, dicha asociación no fue estadísticamente significativa tras el ajuste estadístico lo cual implica que la edad gestacional en el momento del parto fue el principal factor subyacente a dicha asociación. En la misma línea, el riesgo de PEG no se correlacionó con la concentración de vitamina D o PTH en ningún análisis subgrupo. No obstante, en el presente estudio pudimos observar que las mujeres con concentraciones de vitamina D inferiores a 20 ng/mL en combinación con concentraciones de PTH por encima del percentil 80 tenían cinco veces más riesgo de padecer parto prematuro en comparación con el grupo de referencia y dicha asociación persistía tras el ajuste estadístico. Estos resultados

también se mantuvieron estadísticamente significativos en el análisis de sensibilidad evaluando el percentil 75 de PTH. En base a estos resultados es razonable pensar que bajas concentraciones de vitamina D en combinación con altos niveles de parathormona podrían asociarse con el peso al nacer influenciando la duración de la gestación (247). Finalmente, la concentración materna de calcio y fósforo no se asociaron con ningún resultado perinatal estudiado.

### *V.3.1. Fortalezas y limitaciones*

La principal fortaleza del presente estudio es el seguimiento prospectivo de una muestra bien caracterizada y el análisis simultáneo de calcidiol, calcio, fósforo y hormona paratiroidea lo cual ha permitido una evaluación del metabolismo de la vitamina D más exhaustivo que el análisis aislado de calcidiol. Asimismo, el análisis diferencial de los casos de recién nacidos con bajo peso al nacer y de aquellos recién nacidos pequeños para su edad gestacional en base a percentiles relativos a la población española ha permitido estudiar el papel que la deficiencia de vitamina D juega a nivel de duración de la gestación y de crecimiento intrauterino retardado.

La revisión sistemática expuesta en el presente Proyecto de Tesis Doctoral nos permite identificar un amplio número de factores a considerar con objeto de garantizar la idoneidad metodológica en un estudio centrado en la deficiencia de vitamina D y los resultados adversos perinatales. Es por ello que podemos identificar y destacar ciertas limitaciones del presente estudio de cohortes prospectivo. Entre dichas limitaciones encontramos que la prevalencia de parto prematuro fue un 30% inferior a la media europea. Ello podría ser la causa de la ausencia de asociación significativa entre deficiencia de vitamina D y riesgo de prematuridad en la cohorte de estudio. Asimismo, dicha cohorte de estudio se constituyó finalmente de mujeres caucásicas y no se valoró el fototipo de Fitzpatrick lo cual impidió estudiar el efecto que la tonalidad cutánea jugaba en las asociaciones estudiadas. Estos factores en su conjunto hacen que

los resultados aquí obtenidos puedan no ser extrapolables a poblaciones con características distintas.

Otra limitación consiste en la exclusión de los resultados perinatales PEG y bajo peso al nacer del cálculo del tamaño muestral lo cual podría ser causa de la ausencia de significancia estadística de algunas asociaciones estudiadas. Por limitaciones de equipamiento, no se empleó el método analítico *gold standard* en la determinación de calcidiol, la cromatografía líquida en tándem con espectrometría de masas (LC-SM/MS). En la misma línea, no se pudieron analizar otros metabolitos de interés relativos a la renovación ósea como son calcio iónico, fosfatasa alcalina u otros metabolitos de la vitamina D. Finalmente, casi el 75% de las muestras se obtuvieron en otoño siendo imposible ajustar los resultados por estacionalidad siendo este un factor que puede modificar la concentración materna de vitamina D.

# VI. CONCLUSIONES



- 1 El análisis de la bibliografía científica descrita sugiere que existe una tendencia entre concentraciones tanto insuficientes como deficientes de calcidiol y una mayor prevalencia de parto prematuro y preeclampsia. Dicha asociación depende del diseño metodológico del estudio empleado.
- 2 En base a los resultados de la revisión sistemática, la suplementación con vitamina D podría ser una herramienta terapéutica eficaz en la prevención del parto prematuro y la preeclampsia, siendo necesario armonizar aspectos metodológicos tales como dosis, posología, periodo de administración y estado basal de las gestantes, así como otros aspectos propios de la investigación con nutrientes.
- 3 Pese a la elevada tasa de exposición solar, la deficiencia de vitamina D es muy prevalente entre las embarazadas asistentes a los centros hospitalarios de la población de Granada, tal y como se ha observado en el estudio de cohortes prospectivo.
- 4 Los resultados del estudio de cohortes prospectivo constatan la tendencia existente entre deficiencia materna de vitamina D durante el primer trimestre de gestación y el riesgo incrementado de parto prematuro, tal y como se ha observado en el análisis bibliográfico.
- 5 El análisis combinado de hormona paratiroidea y calcidiol durante el primer trimestre de gestación podría predecir el parto prematuro de una manera más eficaz que el análisis aislado de calcidiol en base a los resultados del estudio de cohortes prospectivo.
- 6 Dado el bajo número de partos prematuros observado en el estudio de cohortes prospectivo, es necesario contrastar la asociación entre deficiencia de vitamina D y prematuridad en grandes cohortes de estudio multicéntricas que analicen calcidiol en

combinación con hormona paratiroidea y que consideren aquellas variables sociodemográficas que se relacionen con dicha alteración del embarazo.

- 7 Los resultados del estudio de cohortes prospectivo no apoyan que el estrés metabólico de calcio, consecuencia del hiperparatiroidismo secundario, sea el responsable de la asociación entre la deficiencia de vitamina D y el desarrollo de crecimiento intrauterino retardado.
- 8 Los valores sanguíneos de calcio y fósforo no se relacionaron con ningún resultado adverso materno-fetal de manera aislada o en combinación con vitamina D o parathormona.
- 9 Son necesarios nuevos ensayos clínicos aleatorizados, bien diseñados, que evalúen la eficacia de la suplementación con dosis fisiológicamente significativas de vitamina D en mujeres embarazadas con deficiencia de dicha vitamina, que se centren en patologías y alteraciones concretas del embarazo y parto y que evalúen el papel que otros metabolitos afines al metabolismo de la vitamina D puedan jugar en dicha suplementación.

REFERENCIAS

1. King JC. Physiology of pregnancy and nutrient metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(5 SUPPL.):1218–25.
2. Ryniec J, McGee E. Ovarian Function During Pregnancy and Lactation. In 2020. p. 117–27.
3. Chandraharan E, Arulkumaran S. Obstetric and intrapartum emergencies: A practical guide to management. *Obstetric and Intrapartum Emergencies: A Practical Guide to Management.* 2012. 1–282 p.
4. Cromwell C, Paidas M. Hematologic Changes in Pregnancy. *Hematol Basic Princ Pract.* 2018;2203-2214.e5.
5. Sanghavi M, Rutherford JD. Cardiovascular physiology of pregnancy. *Circulation.* 2014;130(12):1003–8.
6. Hegewald MJ, Crapo RO. Respiratory Physiology in Pregnancy. *Clin Chest Med.* 2011;32(1):1–13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccm.2010.11.001>
7. Cheung KL, Lafayette RA. Renal Physiology of Pregnancy. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2013;20(3):209–14. <http://dx.doi.org/10.1053/j.ackd.2013.01.012>
8. Costantine MM. Physiologic and pharmacokinetic changes in pregnancy. *Front Pharmacol.* 2014;5 APR(April):1–5.
9. Niebyl JR. Nausea and Vomiting in Pregnancy. *Integr Med Fourth Ed.* 2018;542-549.e2.
10. Cullen G, O'Donoghue D. Constipation and pregnancy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2007;21(5):807–18.

11. Laine MA. Effect of pregnancy on periodontal and dental health. *Acta Odontol Scand.* 2002;60(5):257–64.
12. Elango R, Ball RO. Protein and Amino Acid Requirements during Pregnancy. *Adv Nutr.* 2016;7(4):839S-844S.
13. Hod M. Diabetes and pregnancy. 2nd editio. *Textbook of Diabetes and Pregnancy.* CRC Press; 2008.
14. Rumbold A, Ota E, Nagata C, Shahrook S, Crowther CA. Vitamin C supplementation in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;2016(3).
15. Zile MH. Vitamin A and embryonic development: An overview. *J Nutr.* 1998;128(2 SUPPL.):455–8.
16. Azaïs-Braesco V, Pascal G. Vitamin A in pregnancy: Requirements and safety limits. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(5 SUPPL.).
17. D. Feldman, J.W. Pike JSA. *Vitamin D.* 3rd edition. Elsevier; 2011.
18. Karras SN, Wagner CL, Castracane VD. Understanding vitamin D metabolism in pregnancy: From physiology to pathophysiology and clinical outcomes. *Metabolism.* 2018;86:112–23. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.10.001>
19. Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *J Am Med Assoc.* 2005;294(18):2336–41.
20. World Health Organisation. *Prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia.* 2011;

21. Lauren H. Theilen, Alison Fraser, Michael S. HoLauren H. Theilen, Alison Fraser, Michael S. Hollingshaus, Karen C. Schliep, Michael W. Varner, Ken R. Smith, and M. Sean Esplin, llingshaus, Karen C. Schliep, Michael W. Varner, Ken R. Smith and MSE. All-Cause and Cause-Specific Mortality After Hypertensive Disease of Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2016;128(2):238–44.
22. Umans JG. Hypertension in Pregnancy [Internet]. First Edit. *Comprehensive Hypertension.* Elsevier Inc.; 2007. 669–680 p. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-03961-1.50057-X>
23. Wang A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: The role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology.* 2009;24(3):147–58.
24. Ramon C. Hermida, Diana E. Ayala, Artemio Mojon, Jose´ R. Fernandez, Ignacio Alonso IS, Rafael Ucieda MI. Blood Pressure Patterns in Normal Pregnancy, Gestational Hypertension, and Preeclampsia. *Hypertension.* 2000;36:149–58.
25. Dolea C, Abouzahr C. Global burden of hypertensive disorders of pregnancy in the year 2000. GBD 2000 Working Paper, World Health Organization, Geneva. <http://www.who.int/evidence/bod 2003b>.“Global Burden of Obstructed Labor in the Year 2000.” GBD 2000 Working Paper, World H. *Reprod Health.* 2003;1–11.
26. Werner Rath, Andree Faridi and JWD. Hellp syndrome. *J Perinat Med.* 2000;28:249–60.
27. Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, Chou D, Say L. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: A systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013;170(1):1–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.05.005>

28. Ives CW, Sinkey R, Rajapreyar I, Tita ATN, Oparil S. Preeclampsia—Pathophysiology and Clinical Presentations: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(14):1690–702.
29. Bouter AR, Duvekot JJ. Evaluation of the clinical impact of the revised ISSHP and ACOG definitions on preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2020;19(August 2019):206–11. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2019.11.011>
30. Brown MA, Magee LA, Kenny LC, Karumanchi SA, McCarthy FP, Saito S, et al. Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice. *Hypertension.* 2018;72(1):24–43.
31. Luttun A, Carmeliet P. Soluble VEGF receptor Flt1: The elusive preeclampsia factor discovered? *J Clin Invest.* 2003;111(5):600–2.
32. Tal R. The role of hypoxia and hypoxia-inducible factor-1alpha in preeclampsia pathogenesis. *Biol Reprod.* 2012;87(6):1–8.
33. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.* 2003;9(6):669–76.
34. Krauss T, Pauer HU, Augustin HG. Prospective Analysis of Placenta Growth Factor (PlGF) Concentrations in the Plasma of Women with Normal Pregnancy and Pregnancies Complicated by Preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2004;23(1):101–11.
35. Autiero M, Waltenberger J, Communi D, Kranz A, Moons L, Lambrechts D, et al. Role of PlGF in the intra- and intermolecular cross talk between the VEGF receptors Flt1 and Flk1. *Nat Med.* 2003;9(7):936–43.

36. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med.* 2016;374(1):13–22.
37. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai JI, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12(6):642–9.
38. Nishi H, Nakada T, Hokamura M, Osakabe Y, Itokazu O, Huang LE, et al. Hypoxia-inducible factor-1 transactivates transforming growth factor- $\beta$ 3 in trophoblast. *Endocrinology.* 2004;145(9):4113–8.
39. Perez-Sepulveda A, Torres MJ, Khoury M, Illanes SE. Innate immune system and preeclampsia. *Front Immunol.* 2014;5(MAY):1–7.
40. Galaviz-Hernandez C, Sosa-Macias M, Teran E, Garcia-Ortiz JE, Lazalde-Ramos BP. Paternal determinants in preeclampsia. *Front Physiol.* 2019;10(JAN):1–7.
41. Messerli M, May K, Hansson SR, Schneider H, Holzgreve W, Hahn S, et al. Feto-maternal interactions in pregnancies: Placental microparticles activate peripheral blood monocytes. *Placenta.* 2010;31(2):106–12.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2009.11.011>
42. Laresgoiti-Servitje E. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia. *J Leukoc Biol.* 2013;94(2):247–57.
43. Baig S, Kothandaraman N, Manikandan J, Rong L, Ee KH, Hill J, et al. Proteomic analysis of human placental syncytiotrophoblast microvesicles in preeclampsia. *Clin Proteomics.* 2014;11(1):1–8.

44. Han X, Ghaemi MS, Ando K, Peterson LS, Ganio EA, Tsai AS, et al. Differential dynamics of the maternal immune system in healthy pregnancy and preeclampsia. *Front Immunol.* 2019;10(JUN):1–13.
45. Muyayalo KP, Huang X-B, Qian Z, Li Z-H, Mor G, Liao A-H. Low circulating levels of vitamin D may contribute to the occurrence of preeclampsia through deregulation of Treg /Th17 cell ratio. *Am J Reprod Immunol.* 2019 Oct;82(4):e13168.
46. World Health Organisation. *Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy.* 2013;
47. Angueira AR, Ludvik AE, Reddy TE, Wicksteed B, Lowe WL, Layden BT. New insights into gestational glucose metabolism: Lessons learned from 21st century approaches. *Diabetes.* 2015;64(2):327–34.
48. Taricco E, Radaelli T, Rossi G, Nobile De Santis MS, Bulfamante GP, Avagliano L, et al. Effects of gestational diabetes on fetal oxygen and glucose levels in vivo. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2009;116(13):1729–35.
49. Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the fourth international workshop- conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1998;21(SUPPL.2).
50. Chiefari E, Arcidiacono B, Foti D, Brunetti A. Gestational diabetes mellitus: an updated overview. *J Endocrinol Invest.* 2017;40(9):899–909.
51. Guariguata L, Linnenkamp U, Beagley J, Whiting DR, Cho NH. Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;103(2):176–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.003>

52. Johns EC, Denison FC, Norman JE, Reynolds RM. Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications. *Trends Endocrinol Metab.* 2018;29(11):743–54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2018.09.004>
53. Gavin JR, Alberti KGMM, Davidson MB, DeFronzo RA, Drash A, Gabbe SG, et al. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2003;26(SUPPL. 1):5–20.
54. World Health Organisation. Recommended Definitions, Terminology and Format for Statistical Tables Related to the Perinatal Period and Use of a New Certificate for Cause of Perinatal Deaths. *Acta Obstet Gynaecol Jpn.* 1977;56:247–53.
55. Chawanpaiboon S, Vogel JP, Moller AB, Lumbiganon P, Petzold M, Hogan D, et al. Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: a systematic review and modelling analysis. *Lancet Glob Heal.* 2019;7(1):e37–46.
56. Silke Mader, Mario Merialdi MK. Informe de Eficiencia Comparativa de la Unión Europea. 2010;
57. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008;371(9606):75–84.
58. Heather A. Frey MAK a. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth Heather. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):68–73.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2015.12.011>
59. Villar J, Papageorghiou AT, Knight HE, Gravett MG, Iams J, Waller SA, et al. The preterm birth syndrome: A prototype phenotypic classification. *Am J Obstet Gynecol*

- [Internet]. 2012;206(2):119–23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2011.10.866>
60. Barros FC, Papageorghiou AT, Victora CG, Noble JA, Pang R, Iams J, et al. The distribution of clinical phenotypes of preterm birth syndrome implications for prevention. *JAMA Pediatr.* 2015;169(3):220–9.
61. Barfield WD. Public Health Implications of Very Preterm Birth. *Clin Perinatol.* 2018;45(3):565–77. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2018.05.007>
62. Quinn JA, Munoz FM, Gonik B, Frau L, Cutland C, Mallett-Moore T, et al. Preterm birth: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunisation safety data. *Vaccine.* 2016;34(49):6047–56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.03.045>
63. WHO. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision ICD-10 : Tabular List. World Heal Organ. 2016;1:332–45. <http://www.who.int/classifications/icd/icdonlineversions/en/>
64. Almond D, Chay Ky, Lee Ds. The Costs of Low Birth Weight. *Natl Bur Econ Res.* 2005;1031–83.
65. Valero De Bernabé J, Soriano T, Albaladejo R, Juarranz M, Calle ME, Martínez D, et al. Risk factors for low birth weight: A review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;116(1):3–15.
66. World Health Organisation. Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry. *Journal of Public Health (Germany).* 1995.
67. Sharma D, Shastri S, Farahbakhsh N, Sharma P. Intrauterine growth restriction—part 1. *J*

- Matern Neonatal Med. 2016;29(24):3977–87.
68. Mario. Sims, Tammy. Sims MB. Race, Ethnicity, Concentrated Poverty, and Low Birth Weight Disparities. *J Natl Black Nurses Assoc.* 2008;19(1):12–8.
69. Srinivas SK, Edlow AG, Neff PM, Sammel MD, Andrela CM, Elovitz MA. Rethinking IUGR in preeclampsia: Dependent or independent of maternal hypertension? *J Perinatol.* 2009;29(10):680–4.
70. Proctor LK, Kfoury J, Hirsch L, Aviram A, Zaltz A, Kingdom J, et al. Association between hypertensive disorders and fetal growth restriction in twin compared with singleton gestations. *Am J Obstet Gynecol.* 2019;221(3):251.e1-251.e8.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.04.022>
71. Grisaru-Granovsky S, Halevy T, Eidelman A, Elstein D, Samueloff A. Hypertensive disorders of pregnancy and the small for gestational age neonate: not a simple relationship. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(4):335.e1-335.e5.
72. Voldner N, Frøslie KF, Bø K, Haakstad L, Hoff C, Godang K, et al. Modifiable determinants of fetal macrosomia: Role of lifestyle-related factors. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008;87(4):423–9.
73. Kc K, Shakya S, Zhang H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: A literature review. *Ann Nutr Metab.* 2015;66:14–20.
74. World Health Organization. Spontaneous and induced abortion: report of a WHO Scientific Group [meeting held in Geneva from 10 to 14 November 1969]. 1970. p. 52.
75. Regan L, Rai R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. *Bailliere's Best*

- Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2000;14(5):839–54.
76. Kaur R, Gupta K. Endocrine dysfunction and recurrent spontaneous abortion: An overview. *Int J Appl Basic Med Res*. 2016;6(2):79.
77. Tulppala M, Bjorses UM, Stenman UH, Wahlstrom T, Ylikorkala O. Luteal phase defect in habitual abortion: Progesterone in saliva. *Fertil Steril*. 1991;56(1):41–4.
78. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017 Jun;18(2):153–65.
79. Amrein K, Scherkl M, Hoffmann M, Neuwersch-Sommeregger S, Köstenberger M, Tmava Berisha A, et al. Vitamin D deficiency 2.0: an update on the current status worldwide. *Eur J Clin Nutr*. 2020;74(11):1498–513. <http://dx.doi.org/10.1038/s41430-020-0558-y>
80. IOM (Institute of Medicine). *Dietary Reference Intakes*. Press TNA, editor. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. 2011.
81. Cristina Palacios and Lilliana Gonzalez. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *Cristina. J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;(144PA):138–45.  
<https://www.ncbi.nlm.n>
82. Karras S, Paschou SA, Kandaraki E, Anagnostis P, Annweiler C, Tarlatzis BC, et al. Hypovitaminosis D in pregnancy in the Mediterranean region: A systematic review. *Eur J Clin Nutr*. 2016;70(9):979–86.
83. Karras SN, Anagnostis P, Annweiler C, Naughton DP, Petroczi A, Bili E, et al. Maternal vitamin D status during pregnancy: The Mediterranean reality. *Eur J Clin Nutr*.

- 2014;68(8):864–9.
84. Specker B. Vitamin D requirements during pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6 Suppl):1740–7.
  85. Wei SQ. Vitamin D and pregnancy outcomes. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2014 Dec;26(6):438–47.
  86. Carpenter KJ. A Short History of Nutritional Science: Part 4 (1945-1985). *J Nutr.* 2003;133(11):3331–42.
  87. Wolf G, Carpenter KJ. Early research into the vitamins: the work of Wilhelm Stepp. *J Nutr.* 1997;127(7):1255–9.
  88. Hopkins FG. Feeding experiments illustrating the importance of accessory factors in normal dietaries. *J Physiol.* 1912;44(5–6):425–60.
  89. Piro A, Tagarelli G, Lagonia P, Tagarelli A, Quattrone A. Casimir Funk: His discovery of the vitamins and their deficiency disorders. *Ann Nutr Metab.* 2010;57(2):85–8.
  90. Ostrowski PF. Who Discovered Vitamins? 1986;31(2):171–83.
  91. McCollum EV, To R. The “Vitamin” Hypothesis and the Diseases Refereable to Faulty Diet. 1918;71(12):1915–8.
  92. DeLuca HF. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. *Bonekey Rep.* 2014;3(JANUARY):1–8. <http://dx.doi.org/10.1038/bonekey.2013.213>
  93. Brian Wharton NB. Rickets. *Lancet.* 2003;362:1389–400.
  94. Carpenter KJ, Zhao L. Forgotten mysteries in the early history of vitamin D. *J Nutr.*

- 1999;129(5):923–7.
95. Hess AF, Weinstock M. Antirachitic Properties Imparted To Inert Fluids and To Green Vegetables By Ultra-Violet Irradiation. *J Biol Chem.* 1924;62(2):301–13.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)85064-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258(18)85064-5)
96. Kletzien SWF, Templin VM, Steenbock H, Thomas BH. Vitamin D and the Conservation of Calcium in the Adult. I. *J Biol Chem.* 1932;97(1):265–80.
97. Boulevard T, Lane L, Harris RS, Thimann K V, Lorraine JA, Munson PL, et al. Vitamin D (History). *Vitamins And Hormones.* 2016. 229–252 p.
98. Blunt JW, DeLuca HF, Schnoes HK. 25-Hydroxycholecalciferol. A Biologically Active Metabolite of Vitamin D<sub>3</sub>. *Biochemistry.* 1968;7(10):3317–22.
99. Ponchon G, Kennan AL, DeLuca HF. “Activation” of vitamin D by the liver. *J Clin Invest.* 1969;48(11):2032–7.
100. E. Kodicek, D.E.M Lawson PWW. Unique Biosynthesis by Kidney. *Unique Biosynth by Kidney a Biol Act Vitam D Metab.* 1970;228:764–6.
101. Lawson DEM, Fraser DR, Kodicek E, Morris HR, Williams DH. Identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a new kidney hormone controlling calcium metabolism. *Nature.* 1971;230(5291):228–30.
102. Urbain P, Singler F, Ihorst G, Biesalski HK, Bertz H. Bioavailability of vitamin D<sub>2</sub> from UV-B-irradiated button mushrooms in healthy adults deficient in serum 25-hydroxyvitamin D: A randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2011;65(8):965–71.
103. Laura. Tripkovic, Helen Lambert, Kathryn. Hart, Colin, P, Smith, Giseld. Bucca, Simon

- Penson GC. Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2012;95:1357–64.
104. Bikle DD. Vitamin D, Calcium, and the Epidermis. *Vitam D Fourth Ed.* 2018;1:527–44.
105. Speeckaert MM, Speeckaert R, van Geel N, Delanghe JR. Vitamin D binding protein. A multifunctional protein of clinical importance. 1st ed. Vol. 63, *Advances in Clinical Chemistry.* Elsevier Inc.; 2014. 1–57 p. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800094-6.00001-7>
106. Michelle R Denburg, Andrew N Hoofnagle, Samir Sayed, Jayanta Gupta IH de B, Lawrence J Appel, Ramon Durazo Arvizu, Whitehead K, Harold I Feldman and MBL. Comparison of Two ELISA Methods and Mass Spectrometry for Measurement of Vitamin D-Binding Protein: Implications for the Assessment of Bioavailable Vitamin D Concentrations Across Genotypes. *J Bone Miner Res.* 2016;31(6):1128–36.
107. Bikle DD, Schwartz J. Vitamin D binding protein, total and free Vitamin D levels in different physiological and pathophysiological conditions. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10(MAY):1–12.
108. Chun RF, Percy BE, Orwoll ES, Nielson CM, Adams JS, Hewison M. Vitamin D and DBP: The free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;144(PART A):132–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.09.012>
109. Zhu JG, Ochalek JT, Kaufmann M, Jones G, DeLuca HF. CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(39):15650–5.

110. Adams JS, Hewison M. Extrarenal expression of the 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylase. *Arch Biochem Biophys.* 2012;523(1):95–102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2012.02.016>
111. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. 25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): Its important role in the degradation of vitamin D. *Arch Biochem Biophys.* 2012;523(1):9–18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2011.11.003>
112. Ishizuka S, Miura D, Eguchi H, Ozono K, Chokki M, Kamimura T, et al. Antagonistic action of novel 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-26,23-lactone analogs on 25-hydroxyvitamin-D<sub>3</sub>-24-hydroxylase gene expression induced by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells. *Arch Biochem Biophys.* 2000;380(1):92–102.
113. Saito N, Kittaka A. Highly potent vitamin D receptor antagonists: Design, synthesis, and biological evaluation. *ChemBioChem.* 2006;7(10):1478–90.
114. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *J Lipid Res.* 2014;55(1):13–31. <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.R031534>
115. Burr DB, Allen MR. *Basic and Applied Bone Biology.* Basic and Applied Bone Biology. 2013. 1–373 p.
116. Van Den Bemd GJCM, Pols HAP, Birkenhäger JC, Van Leeuwen JPTM. Conformational change and enhanced stabilization of the vitamin D receptor by the 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> analog KH1060. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(20):10685–90.
117. Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D analogs: Therapeutic applications and mechanisms for selectivity. *Mol Aspects Med.* 2008;29(6):433–52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2008.04.001>

118. Whitfield GK, Dang HTL, Schluter SF, Bernstein RM, Bunag T, Manzon LA, et al. Cloning of a functional vitamin D receptor from the lamprey (*Petromyzon marinus*), an ancient vertebrate lacking a calcified skeleton and teeth. *Endocrinology*. 2003;144(6):2704–16.
119. Koivisto O, Hanel A, Carlberg C. Key vitamin D target genes with functions in the immune system. *Nutrients*. 2020;12(4).
120. Malloy PJ, Zhou Y, Wang J, Hiort O, Feldman D. Hereditary vitamin D-resistant rickets (HVDRR) owing to a heterozygous mutation in the vitamin D receptor. *J Bone Miner Res*. 2011;26(11):2710–8.
121. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, et al. Skeletal and Extraskelatal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions. Vol. 40, *Endocrine Reviews*. 2019. 1109–1151 p.
122. Hii CS, Ferrante A. The non-genomic actions of vitamin D. *Nutrients*. 2016;8(3):1–14.
123. Bronner F. Mechanisms of intestinal calcium absorption. *J Cell Biochem*. 2003;88(2):387–93.
124. Fujita H, Kotaro Sugimoto SI, Maeda T, Makoto Osanai, Yasushi Uchiyama YY, Wada T, Takashi Kojima, Hiroshi Yokozaki, Toshihiko Yamashita, Shigeaki Kato, Norimasa Sawada and HC. Enterocytes, Tight Junction Proteins Claudin-2 and -12 Are Critical for Vitamin D-dependent Ca<sup>2+</sup> Absorption between. *Mol Biol Cell*. 2007;19:1912–21.
125. Wood RJ, Tchack L, Taparia S. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> increases the expression of the CaT1 epithelial calcium channel in the Caco-2 human intestinal cell line. *BMC Physiol*.

- 2001;
126. Christakos S. Mechanism of action of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on intestinal calcium absorption. *Rev Endocr Metab Disord.* 2012;13(1):39–44.
  127. Haussler MR, Whitfield GK, Kaneko I, Haussler CA, Hsieh D, Hsieh JC, et al. Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcif Tissue Int.* 2013;92(2):77–98.
  128. Blau JE, Collins MT. The PTH-Vitamin D-FGF23 axis. *Rev Endocr Metab Disord.* 2015;16(2):165–74.
  129. Kitazawa S, Kajimoto K, Kondo T, Kitazawa R. Vitamin D<sub>3</sub> supports osteoclastogenesis via functional vitamin D response element of human RANKL gene promoter. *J Cell Biochem.* 2003;89(4):771–7.
  130. Lieben L, Carmeliet G. Vitamin D signaling in osteocytes: Effects on bone and mineral homeostasis. *Bone.* 2013;54(2):237–43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2012.10.007>
  131. Wöhrle S, Bonny O, Beluch N, Gaulis S, Stamm C, Scheibler M, et al. FGF receptors control vitamin D and phosphate homeostasis by mediating renal FGF-23 signaling and regulating FGF-23 expression in bone. *J Bone Miner Res.* 2011;26(10):2486–97.
  132. Goltzman D. Functions of vitamin D in bone. *Histochem Cell Biol.* 2018;149(4):305–12. <http://dx.doi.org/10.1007/s00418-018-1648-y>
  133. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, Van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, et al. Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008;29(6):726–76.
  134. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab.*

- 2018;72(2):87–95.
135. Holick MF. Vitamin D: Extraskeletal Health. *Rheum Dis Clin North Am*. 2012;38(1):141–60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rdc.2012.03.013>
136. Vuolo L, Di Somma C, Faggiano A, Colao A. Vitamin D and cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3(APR):1–13.
137. Larriba MJ, García De Herreros A, Muñoz A. Vitamin D and the Epithelial to Mesenchymal Transition. *Stem Cells Int*. 2016;2016:13–6.
138. Jeon SM, Shin EA. Exploring vitamin D metabolism and function in cancer. *Exp Mol Med*. 2018;50(4). <http://dx.doi.org/10.1038/s12276-018-0038-9>
139. Garland CF, Garland FC, Gorham ED, Lipkin M, Newmark H, Mohr SB, et al. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health*. 2006;96(2):252–61.
140. Grant WB, Garland CF, Holick MF. Comparisons of Estimated Economic Burdens due to Insufficient Solar Ultraviolet Irradiance and Vitamin D and Excess Solar UV Irradiance for the United States. *Photochem Photobiol*. 2005;81(6):1276.
141. Schwartz GG. Vitamin D and Intervention Trials in Prostate Cancer: From Theory to Therapy. *Ann Epidemiol*. 2009;19(2):96–102.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.annepidem.2008.03.007>
142. Hewison M. Vitamin D and immune function: An overview. *Proc Nutr Soc*. 2012;71(1):50–61.
143. Zasloff M. Fighting infections with vitamin D. *Nat Med*. 2006;12(4):388–90.
144. Youssef DA, Miller CWT, El-Abbassi AM, Cutchins DC, Cutchins C, Grant WB, et al.

- Antimicrobial implications of vitamin D. *Dermatoendocrinol.* 2011;3(4):220–9.
145. Kearns MD, Tangpricha V. The role of vitamin D in tuberculosis. *J Clin Transl Endocrinol.* 2014;1(4):167–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcte.2014.08.002>
146. Adamczak DM. The role of toll-like receptors and vitamin D in cardiovascular diseases—a review. *Int J Mol Sci.* 2017;18(11).
147. Sadeghi K, Wessner B, Laggner U, Ploder M, Tamandl D, Friedl J, et al. Vitamin D<sub>3</sub> down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur J Immunol.* 2006;36(2):361–70.
148. Arababadi MK, Nosratabadi R, Asadikaram G. Vitamin D and toll like receptors. *Life Sci.* 2018;203:105–11. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.03.040>
149. Lagishetty V, Liu NQ, Hewison M. Vitamin D metabolism and innate immunity. *Mol Cell Endocrinol.* 2011;347(1–2):97–105. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2011.04.015>
150. White JH. Vitamin D signaling, infectious diseases, and regulation of innate immunity. *Infect Immun.* 2008;76(9):3837–43.
151. Bassatne A, Basbous M, Chakhtoura M, El Zein O, Rahme M, El-Hajj Fuleihan G. The link between COVID-19 and Vitamin D (VIVID): A systematic review and meta-analysis. *Metabolism.* 2021;119:154753. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154753>
152. Akbar MR, Wibowo A, Pranata R, Setiabudiawan B. Low Serum 25-hydroxyvitamin D (Vitamin D) Level Is Associated With Susceptibility to COVID-19, Severity, and Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Nutr.* 2021;8(March):1–10.
153. Wei R, Christakos S. Mechanisms underlying the regulation of innate and adaptive

- immunity by vitamin D. *Nutrients*. 2015;7(10):8251–60.
154. Nodehi M, Ajami A, Izad M, Asgarian Omran H, Chahardoli R, Amouzegar A, et al. Effects of vitamin D supplements on frequency of CD4+ T-cell subsets in women with Hashimoto's thyroiditis: a double-blind placebo-controlled study. *Eur J Clin Nutr*. 2019;73(9):1236–43. <http://dx.doi.org/10.1038/s41430-019-0395-z>
155. Chen-Yen Yang, Patrick S.C Leung, Lannis E Adamopoulos MEG. The Implication of Vitamin D and Autoimmunity: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2013;45(2):217–26.
156. Cyprian F, Lefkou E, Varoudi K, Girardi G. Immunomodulatory Effects of Vitamin D in Pregnancy and Beyond. *Front Immunol*. 2019;10(November):1–17.
157. Barbarawi M, Kheiri B, Zayed Y, Barbarawi O, Dhillon H, Swaid B, et al. Vitamin D Supplementation and Cardiovascular Disease Risks in More Than 83000 Individuals in 21 Randomized Clinical Trials: A Meta-analysis. *JAMA Cardiol*. 2019;4(8):765–75.
158. Santorelli G, Whitelaw D, Farrar D, West J, Lawlor DA. Associations of maternal vitamin D, PTH and calcium with hypertensive disorders of pregnancy and associated adverse perinatal outcomes: Findings from the Born in Bradford cohort study. *Sci Rep*. 2019 Feb;9(1):1205.
159. Tamblyn JA, Hewison M, Wagner CL, Bulmer JN, Kilby MD. Immunological role of vitamin D at the maternal-fetal interface. *J Endocrinol*. 2015;224(3):R107–21.
160. O'Callaghan KM, Kiely M. Systematic review of vitamin D and hypertensive disorders of pregnancy. *Nutrients*. 2018;10(3):1–18.

161. Smith TA, Kirkpatrick DR, Kovilam O, Agrawal DK. Immunomodulatory role of vitamin D in the pathogenesis of preeclampsia. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015;11(9):1055–63.
162. Purswani JM, Gala P, Dwarkanath P, Larkin HM, Kurpad A, Mehta S. The role of vitamin D in pre-eclampsia: a systematic review. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2017 Jul;17(1):231.
163. Wei SQ, Bilodeau JF, Julien P, Luo ZC, Abenhaim HA, Bi WG, et al. Maternal vitamin D, oxidative stress, and pre-eclampsia. *Int J Gynecol Obstet*. 2020;(December 2020):1–7.
164. Yaribeygi H, Maleki M, Sathyapalan T, Iranpanah H, Orafi HM, Jamialahmadi T, et al. The molecular mechanisms by which vitamin D improve glucose homeostasis: A mechanistic review. *Life Sci*. 2020;244(January):117305.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117305>
165. Pittas AG, Jorde R, Kawahara T, Dawson-Hughes B. Vitamin D supplementation for prevention of type 2 diabetes mellitus: To D or Not to D? *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(12):3721–33.
166. Infante M, Ricordi C, Sanchez J, Clare-Salzler MJ, Padilla N, Fuenmayor V, et al. Influence of vitamin D on islet autoimmunity and beta-cell function in type 1 diabetes. *Nutrients*. 2019;11(9):1–30.
167. Joergensen JS, Lamont RF, Torloni MR. Vitamin D and gestational diabetes: An update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2014;17(4):360–7.
168. Alzaim M, Wood RJ. Vitamin D and gestational diabetes mellitus. *Nutr Rev*. 2013;71(3):158–67.
169. Palacios C, Kostiuik LK, Peña-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during

- pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;2019(7).
170. Barrett H, McElduff A. Vitamin D and pregnancy: An old problem revisited. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010 Aug;24(4):527–39.
171. Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(8):469–82. <http://dx.doi.org/10.1038/nri.2017.64>
172. Nadeau HCG, Subramaniam A, Andrews WW. Infection and preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):100–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2015.12.008>
173. Bodnar LM, Simhan HN. The prevalence of preterm birth and season of conception. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2008;22(6):538–45.
174. Woo J, Giurgescu C, Wagner CL. Evidence of an Association Between Vitamin D Deficiency and Preterm Birth and Preeclampsia: A Critical Review. *J Midwifery Womens Health.* 2019 Sep;64(5):613–29.
175. Weinert LS, Silveiro SP. Maternal–Fetal Impact of Vitamin D Deficiency: A Critical Review. *Matern Child Health J.* 2015;19(1):94–101.
176. Bodnar LM, Catov JM, Zmuda JM, Cooper ME, Parrott MS, Roberts JM, et al. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with small-for-gestational age births in white women. *J Nutr.* 2010;140(5):999–1006.
177. Dror DK. Vitamin D status during pregnancy: maternal, fetal, and postnatal outcomes. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2011 Dec;23(6):422–6.
178. Barchitta M, Maugeri A, La Rosa MC, Lio RMS, Favara G, Panella M, et al. Single nucleotide polymorphisms in vitamin D receptor gene affect birth weight and the risk of

- preterm birth: Results from the “mamma & bambino” cohort and a meta-analysis. *Nutrients*. 2018;10(9).
179. Apaydın M, Beysel S, Eyerci N, Pinarlı FA, Ulubay M, Kizilgul M, et al. The VDR gene FokI polymorphism is associated with gestational diabetes mellitus in Turkish women. *BMC Med Genet*. 2019;20(1):1–6.
180. Scholl TO, Chen X, Stein TP. Maternal calcium metabolic stress and fetal growth. *Am J Clin Nutr*. 2014 Apr;99(4):918–25.
181. Hemmingway A, Kenny LC, Malvisi L, Kiely ME. Exploring the concept of functional vitamin D deficiency in pregnancy: impact of the interaction between 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone on perinatal outcomes. *Am J Clin Nutr*. 2018 Oct;108(4):821–9.
182. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *BMJ*. 2009;339(7716):332–6. <http://dx.doi.org/doi:10.1136/bmj.b2535>
183. Higgins JPT, Altman DG, Gøtzsche PC, Jüni P, Moher D, Oxman AD, et al. The Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 2011;343(7829):1–9.
184. G. Wells, G. Wells, B. Shea, B. Shea, Dianne O’Connell, J. Peterson, Welch, M. Losos, P. Tugwell, Sb Wells Ga, G. Zello JP. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for Assessing the Quality of Nonrandomised Studies in Meta-Analyses. *Psychology*. 2014;
185. S K. Tutorial on Meta-Analysis in R. R useR! Conference 2013, University of Castilla-La

- Mancha, Albacete, Spain. 2013.
186. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *Br Med J*. 2003;327(7414):557–60.
187. Erik von Elm A, Douglas G Altman, b Matthias Egger, a, c Stuart J Pocock d PCG e & JPV. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies\*. *Bull World Health Organ*. 2007;85(11).
188. Oliver EM, Grimshaw KEC, Schoemaker AA, Keil T, McBride D, Sprickelman AB, et al. Dietary Habits and Supplement Use in Relation to National Pregnancy Recommendations: Data from the EuroPrevall Birth Cohort. *Matern Child Health J*. 2014;18(10):2408–25.
189. Brown MA, Magee LA, Kenny LC, Karumanchi SA, McCarthy FP, Saito S, et al. The hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis & management recommendations for international practice. *Pregnancy Hypertens*. 2018;13(May):291–310.
190. Terán JM, Varea C, Bernis C, Bogin B, González-González A. New birthweight charts according to parity and type of delivery for the Spanish population. *Gac Sanit*. 2017;31(2):116–22.
191. Hosmer D.W LS. *Applied Logistic Regression*. 2nd ed. John Wiley & Sons; 2007.
192. Zhang Z. Model building strategy for logistic regression: Purposeful selection. *Ann Transl Med*. 2016;4(6):4–10.
193. DeSisto CL, Kim SY, Sharma AJ. Prevalence estimates of gestational diabetes mellitus in

- the United States, pregnancy risk assessment monitoring system (PRAMS), 2007-2010. *Prev Chronic Dis.* 2014;11(12):1–9.
194. Vogel JP, Betrán AP, Vindevoghel N, Souza JP, Torloni MR, Zhang J, et al. Use of the robson classification to assess caesarean section trends in 21 countries: A secondary analysis of two WHO multicountry surveys. *Lancet Glob Heal.* 2015;3(5):e260–70.
195. Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJK, Driscoll AK. Births: Final data for 2018. *Natl Vital Stat Reports.* 2019;68(13):1980–2018.
196. Macfarlane A et al. EURO-PERISTAT Project with SCPE and EUROCAT. European Perinatal Health Report. The health and care of pregnant women and babies in Europe in 2010. *Eur Perinat Heal Rep.* 2013;1–250. [www.europeristat.com](http://www.europeristat.com)
197. Blencowe H, Krusevec J, de Onis M, Black RE, An X, Stevens GA, et al. National, regional, and worldwide estimates of low birthweight in 2015, with trends from 2000: a systematic analysis. *Lancet Glob Heal.* 2019;7(7):e849–60.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30565-5](http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30565-5)
198. Zhou S-S, Tao Y-H, Huang K, Zhu B-B, Tao F-B. Vitamin D and risk of preterm birth: Up-to-date meta-analysis of randomized controlled trials and observational studies. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017 Feb;43(2):247–56.
199. Wei SQ, Qi HP, Luo ZC, Fraser WD. Maternal vitamin D status and adverse pregnancy outcomes: A systematic review and meta-analysis. *J Matern Neonatal Med.* 2013;26(9):889–99.
200. Serrano-Díaz NC, Gamboa-Delgado EM, Domínguez-Urrego CL, Vesga-Varela AL,

- Serrano-Gómez SE, Quintero-Lesmes DC. Vitamina D y riesgo de preeclampsia: revisión sistemática y metaanálisis. *Biomédica*. 2017;38:43–53.
201. Qin LL, Lu FG, Yang SH, Xu HL, Luo BA. Does maternal Vitamin D deficiency increase the risk of preterm birth: A meta-analysis of observational studies. *Nutrients*. 2016;8(5).
202. Borenstein M, Hedges L V., Higgins JPT, Rothstein HR. A basic introduction to fixed-effect and random-effects models for meta-analysis. *Res Synth Methods*. 2010;1(2):97–111.
203. Fischer-Suárez N, Fernández-Alonso AM, Herrera-Muñoz A, Chedraui P, Pérez-López FR. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D and C-reactive protein levels in pregnancies complicated with threatened preterm labour. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(9):777–81.
204. Lundqvist A, Sandström H, Stenlund H, Johansson I, Hultdin J. Vitamin D status during pregnancy: A longitudinal study in Swedish women from early pregnancy to seven months postpartum. *PLoS One*. 2016;11(3):1–12.  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150385>
205. Møller UK, Streym S, Heickendorff L, Mosekilde L, Rejnmark L. Effects of 25OHD concentrations on chances of pregnancy and pregnancy outcomes: A cohort study in healthy Danish women. *Eur J Clin Nutr*. 2012;66(7):862–8.
206. Zhang JY, Lucey AJ, Horgan R, Kenny LC, Kiely M. Impact of pregnancy on vitamin D status: A longitudinal study. *Br J Nutr*. 2014;112(7):1081–7.
207. Fisher SJ. Why is placentation abnormal in preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213(4):S115–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2015.08.042>

208. Benachi A, Baptiste A, Taieb J, Tsatsaris V, Guibourdenche J, Senat M-V, et al. Relationship between vitamin D status in pregnancy and the risk for preeclampsia: A nested case-control study. *Clin Nutr.* 2020 Feb;39(2):440–6.
209. 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):1157–61.
210. Tamblyn JA, Susarla R, Jenkinson C, Jeffery LE, Ohizua O, Chun RF, et al. Dysregulation of maternal and placental vitamin D metabolism in preeclampsia. *Placenta.* 2017 Feb;50:70–7.
211. Karras SN, Kotsa K, Angeloudi E, Zebekakis P, Naughton DP. The road not so travelled: Should measurement of vitamin D epimers during pregnancy affect our clinical decisions? *Nutrients.* 2017;9(2):8–14.
212. Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demiroglu A, Gurgan T, et al. Recurrent implantation failure: Definition and management. *Reprod Biomed Online.* 2014;28(1):14–38.
213. Couchman L, Moniz CF. Analytical considerations for the biochemical assessment of vitamin D status. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2017;9(4):97–104.
214. Albahlol IA, Almaeen AH, Alduraywish AA, Dar UF, El-Metwally TH. Vitamin D status and pregnancy complications: Serum 1, 25-di-hydroxyl-vitamin D and its ratio to 25-hydroxy-vitamin D are superior biomarkers than 25-hydroxy-vitamin D. *Int J Med Sci.* 2020;17(18):3039–48.
215. Zerwekh JE. The measurement of vitamin D: Analytical aspects. *Ann Clin Biochem.*

- 2004;41(4):272–81.
216. Ustuner I, Keskin HL, Tas EE, Neselioglu S, Sengul O, Filiz Avsar A. Maternal serum 25(OH)D levels in the third trimester of pregnancy during the winter season. *J Matern Neonatal Med.* 2011;24(12):1421–6.
217. Choi R, Kim S, Yoo H, Cho YY, Kim SW, Chung JH, et al. High prevalence of Vitamin D deficiency in pregnant Korean women: The first trimester and the winter season as risk factors for Vitamin D deficiency. *Nutrients.* 2015;7(5):3427–48.
218. Huotari A, Herzig KH. Vitamin D and living in northern latitudes - An endemic risk area for vitamin D deficiency. *Int J Circumpolar Health.* 2008;67(2–3):164–78.
219. Leary PF, Zamfirova I, Au J, McCracken WH. Effect of latitude on vitamin D levels. *J Am Osteopath Assoc.* 2017;117(7):433–9.
220. Kara M, Ekiz T, Ricci V, Kara Ö, Chang KV, Özçakar L. “Scientific Strabismus” or two related pandemics: Coronavirus disease and vitamin D deficiency. *Br J Nutr.* 2020;124(7):736–41.
221. Katz J, Yue S, Xue W. Increased risk for COVID-19 in patients with vitamin D deficiency. *Nutrition.* 2021;84.
222. van Weert B, van den Berg D, Hrudehy EJ, Oostvogels AJJM, de Miranda E, Vrijkotte TGM. Is first trimester vitamin D status in nulliparous women associated with pregnancy related hypertensive disorders? *Midwifery.* 2016;34:117–22.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.midw.2015.12.007>
223. Fitzpatrick TB. The Validity and Practicality of. *Arch Dermatol.* 1988;124:869–71.

224. Arisoy R, Bostanci E, Erdogan E, Polat M, Kaya E, Tugrul S. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pre-eclampsia. *J Matern Neonatal Med.* 2016;29(12):1941–4.
225. Robinson CJ, Wagner CL, Hollis BW, Baatz JE, Johnson DD. Association of maternal vitamin D and placenta growth factor with the diagnosis of early onset severe preeclampsia. *Am J Perinatol.* 2013 Mar;30(3):167–72.
226. Bodnar LM, Simhan HN, Catov JM, Roberts JM, Platt RW, Diesel JC, et al. Maternal vitamin D status and the risk of mild and severe preeclampsia. *Epidemiology.* 2014;25(2):207–14.
227. Zhao X, Fang R, Yu R, Chen D, Zhao J, Xiao J. Maternal Vitamin D Status in the Late Second Trimester and the Risk of Severe Preeclampsia in Southeastern China. *Nutrients.* 2017 Feb;9(2).
228. Burris HH, Van Marter LJ, McElrath TF, Tabatabai P, Litonjua AA, Weiss ST, et al. Vitamin D status among preterm and full-term infants at birth. *Pediatr Res.* 2014 Jan;75(1–1):75–80.
229. 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.
230. Thota C, Menon R, Fortunato SJ, Brou L, Lee J-E, Al-Hendy A. 1,25-Dihydroxyvitamin D deficiency is associated with preterm birth in African American and Caucasian women. *Reprod Sci.* 2014 Feb;21(2):244–50.
231. McDonnell SL, Baggerly KA, Baggerly CA, Aliano JL, French CB, Baggerly LL, et al.

- Maternal 25(OH)D concentrations  $\geq 40$  ng/mL associated with 60% lower preterm birth risk among general obstetrical patients at an urban medical center. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180483.
232. Pérez-López FR, Pasupuleti V, Mezones-Holguin E, Benites-Zapata VA, Thota P, Deshpande A, et al. 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 May;103(5):1278-88.e4.
233. Palacios C, Trak-Fellermeier MA, Martinez RX, Lopez-Perez L, Lips P, Salisi JA, et al. Regimens of vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane database Syst Rev*. 2019 Oct;10(10):CD013446.
234. Heaney RP. Guidelines for optimizing design and analysis of clinical studies of nutrient effects. *Nutr Rev*. 2014;72(1):48–54.
235. Sun X, Li H, He X, Li M, Yan P, Xun Y, et al. The association between calcium supplement and preeclampsia and gestational hypertension: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Hypertens Pregnancy*. 2019;38(2):129–39.  
<https://doi.org/10.1080/10641955.2019.1593445>
236. Wagner CL, Hollis BW. The Implications of Vitamin D Status During Pregnancy on Mother and her Developing Child. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:500.
237. Karras SN, Anagnostis P, Naughton D, Annweiler C, Petroczi A, Goulis DG. Vitamin D during pregnancy: Why observational studies suggest deficiency and interventional studies show no improvement in clinical outcomes? A narrative review. *J Endocrinol Invest*. 2015;38(12):1265–75.

238. ACOG. Vitamin D: Screening and Supplementation During Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2011;118(495):197–8.
239. Di Renzo GC, Gratacos E, Kurtser M, Malone F, Nambiar S, Sierra N, et al. Good clinical practice advice: Micronutrients in the periconceptional period and pregnancy. *Int J Gynecol Obstet.* 2019;144(3):317–21.
240. Perez-Ferre N, Torrejon MJ, Fuentes M, Fernandez MD, Ramos A, Bordiu E, et al. Association of low serum 25-hydroxyvitamin D levels in pregnancy with glucose homeostasis and obstetric and newborn outcomes. *Endocr Pract.* 2012;18(5):676–84.
241. Rodriguez A, García-Esteban R, Basterretxea M, Lertxundi A, Rodríguez-Bernal C, Iñiguez C, et al. Associations of maternal circulating 25-hydroxyvitamin D3 concentration with pregnancy and birth outcomes. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2015;122(12):1695–704.
242. Morgan C, Dodds L, Langille DB, Weiler HA, Armson BA, Forest J-C, et al. Cord blood vitamin D status and neonatal outcomes in a birth cohort in Quebec, Canada. *Arch Gynecol Obstet.* 2016 Apr;293(4):731–8.
243. Miliku K, Vinkhuyzen A, Blanken LM, McGrath JJ, Eyles DW, Burne TH, et al. Maternal vitamin D concentrations during pregnancy, fetal growth patterns, and risks of adverse birth outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2016 Jun;103(6):1514–22.
244. Chen YH, Fu L, Hao JH, Wang H, Zhang C, Tao FB, et al. Influential factors of gestational Vitamin D deficiency and its relation to an increased risk of preterm delivery in Chinese population. *Sci Rep.* 2018;8(1):1–8. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-21944-3>

245. Meng DH, Zhang Y, Ma SS, Hu HL, Li JJ, Yin WJ, et al. The role of parathyroid hormone during pregnancy on the relationship between maternal vitamin D deficiency and fetal growth restriction: A prospective birth cohort study. *Br J Nutr.* 2020;124(4):432–9.
246. Tao RX, Meng DH, Li JJ, Tong SL, Hao JH, Huang K, et al. Current recommended Vitamin D prenatal supplementation and fetal growth: Results from the China-anhui birth cohort study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(1):244–52.
247. Maugeri A, Barchitta M, Blanco I, Agodi A. Effects of Vitamin D supplementation during pregnancy on birth size: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients.* 2019;11(2).

Anexo I Artículos incluidos en la revisión sistemática

1. Bener, A., Al-Hamaq, A.O., Saleh, N.M., 2013. Association between vitamin d insufficiency and adverse pregnancy outcome: global comparisons. *Int. J. Womens. Health* 5, 523–531. doi: 10.2147/IJWH.S51403.
2. Halhali, A., Díaz, L., Barrera, D., Avila, E., Larrea, F., 2013. Placental calcitriol synthesis and IGF-I levels in normal and preeclamptic pregnancies. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 144, 44–49. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.12.014.
3. Robinson, C.J., Wagner, C.L., Hollis, B.W., Baatz, J.E., Johnson, D.D., 2013. Association of maternal vitamin D and placenta growth factor with the diagnosis of early onset severe preeclampsia. *Am. J. Perinatol.* 30, 167–172. doi: 10.1055/s-0032-1322514.
4. Scholl, T.O., Chen, X., Stein, T.P., 2013. Vitamin D, secondary hyperparathyroidism, and preeclampsia. *Am. J. Clin. Nutr.* 98, 787–793. doi: 10.3945/ajcn.112.055871.
5. Ullah, M.I., Koch, C.A., Tamanna, S., Rouf, S., Shamsuddin, L., 2013. Vitamin D deficiency and the risk of preeclampsia and eclampsia in Bangladesh. *Horm. Metab. Res.* 45, 682–687. doi: 10.1055/s-0033-1345199.
6. Wei, S.Q., Audibert, F., Luo, Z.-C., Nuyt, A.M., Masse, B., Julien, P., Fraser, W.D., 2013a. Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D levels, angiogenic factors, and preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 208, 390.e1–390.e6. doi: 10.1016/j.ajog.2013.03.025.
7. Yu, C.K.H., Ertl, R., Skyfta, E., Akolekar, R., Nicolaides, K.H., 2013. Maternal serum vitamin D levels at 11-13 weeks of gestation in preeclampsia. *J. Hum. Hypertens.* 27, 115–118. doi: 10.1038/jhh.2012.1.
8. Abedi, P., Mohaghegh, Z., Afshary, P., Latifi, M., 2014. The relationship of serum vita-

- min D with pre-eclampsia in the Iranian women. *Matern. Child Nutr.* 10, 206–212. doi: 10.1111/mcn.12058.
9. Alvarez-Fernandez, I., Prieto, B., Rodriguez, V., Ruano, Y., Escudero, A.I., Alvarez, F.V., 2014. Role of vitamin D and sFlt-1/PlGF ratio in the development of early- and late-onset preeclampsia. *Clin. Chem. Lab. Med.* 53, 1033–1040. doi: 10.1515/cclm-2014-1039.
  10. Bodnar, L.M., Simhan, H.N., Catov, J.M., Roberts, J.M., Platt, R.W., Diesel, J.C., Klebanoff, M.A., 2014. Maternal vitamin D status and the risk of mild and severe preeclampsia. *Epidemiology* 25, 207–214. doi: 10.1097/EDE.0000000000000039
  11. Burris, H.H., Rifas-Shiman, S.L., Huh, S.Y., Kleinman, K., Litonjua, A.A., Oken, E., Rich-Edwards, J.W., Camargo, C.A., Gillman, M.W., 2014a. Vitamin D status and hypertensive disorders in pregnancy. *Ann. Epidemiol.* 24, 399–403.e1. doi: 10.1016/j.annepidem.2014.02.001.
  12. Dalmar, A., Raff, H., Chauhan, S.P., Singh, M., Siddiqui, D.S., 2014. Serum 25-hydroxyvitamin D, calcium, and calcium-regulating hormones in preeclamptics and controls during first day postpartum. *Endocrine* 48, 287–292. doi: 10.1007/s12020-014-0296-9.
  13. Lechtermann, C., Hauffa, B.P., Herrmann, R., Schundeln, M.M., Gellhaus, A., Schmidt, M., Grasmann, C., 2014. Maternal vitamin D status in preeclampsia: seasonal changes are not influenced by placental gene expression of vitamin D metabolizing enzymes. *PLoS One* 9, e105558. doi: 10.1371/journal.pone.0105558.
  14. Reeves, I.V., Bamji, Z.D., Rosario, G.B., Lewis, K.M., Young, M.A., Washington, K.N., 2014. Vitamin D deficiency in pregnant women of ethnic minority: a potential contributor to preeclampsia. *J. Perinatol.* 34, 767–773. doi: 10.1038/jp.2014.91.

15. Xu, L. , Lee, M. , Jeyabalan, A. , Roberts, J.M. , 2014. The relationship of hypovitaminosis D and IL-6 in Preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 210 (2), 149.
16. Achkar, M., Dodds, L., Giguère, Y., Forest, J.-C., Armson, B.A., Woolcott, C., Agellon, S., Spencer, A., Weiler, H.A., 2015. Vitamin D status in early pregnancy and risk of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 212, 511.e1–511.e7. doi: 10.1016/j.ajog.2014.11.009.
17. Arisoy, R., Bostanci, E., Erdogan, E., Polat, M., Kaya, E., Tugrul, S., 2015. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pre-eclampsia. *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.* 29, 1941–1944. doi: 10.3109/14767058.2015.1069269.
18. Bakacak, M. , Serin, S. , Ercan, O. , Kostu, B. , Avci, F. , Kilinc, M. , Kiran, H. , Kiran, G. , 2015. Comparison of Vitamin D levels in cases with preeclampsia, eclampsia and healthy pregnant women. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 8, 16280–16286.
19. Gidlöf, S., Silva, A.T., Gustafsson, S., Lindqvist, P.G., 2015. Vitamin D and the risk of preeclampsia-a nested case-control study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 94, 904–908. doi: 10.1111/aogs.12658.
20. Singla, R., Gurung, P., Aggarwal, N., Dutta, U., Kochhar, R., 2015. Relationship between preeclampsia and vitamin D deficiency: a case control study. *Arch. Gynecol. Obstet.* 291, 1247–1251. doi: 10.1007/s00404-014-3550-8.
21. Baca, K.M., Simhan, H.N., Platt, R.W., Bodnar, L.M., 2016. Low maternal 25-hydroxyvitamin D concentration increases the risk of severe and mild preeclampsia. *Ann. Epidemiol.* 26, 853–857.e1. doi: 10.1016/j.annepidem.2016.09.015.
22. Bärebring, L., Bullarbo, M., Glantz, A., Agelii, M.L., Jagner, °A., Ellis, J., Hulthén, L., Schoenmakers, I., Augustin, H., 2016. Preeclampsia and blood pressure trajectory during

- pregnancy in relation to Vitamin D status. *PLoS One* 11, 1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0152198.
23. Djekic-Ivankovic, M., Weiler, H., Jones, G., Kaufmann, M., Kaludjerovic, J., Aleksic-Velickovic, V., Mandić, L.M., Glibetic, M., 2016. Vitamin D status in mothers with pre-eclampsia and their infants: a case-control study from Serbia, a country without a vitamin D fortification policy. *Public Health Nutr* 20, 1825–1835. doi: 10.1017/S1368980016000409.
24. Domaracki, P., Sadlecki, P., Odrowaz-Sypniewska, G., Dzikowska, E., Walentowicz, P., Siodmiak, J., Grabiec, M., Walentowicz-Sadlecka, M., 2016. Serum 25(OH) Vitamin D levels in polish women during pregnancies complicated by hypertensive disorders and gestational diabetes. *Int. J. Mol. Sci.* 17. doi: 10.3390/ijms17101574.
25. Kiely, M.E., Zhang, J.Y., Kinsella, M., Khashan, A.S., Kenny, L.C., 2016. Vitamin D status is associated with uteroplacental dysfunction indicated by pre-eclampsia and small-for-gestational-age birth in a large prospective pregnancy cohort in Ireland with low vitamin D status. *Am. J. Clin. Nutr.* 104, 354–361. doi: 10.3945/ajcn.116.130419.
26. van Weert, B., van den Berg, D., Hrudehy, E.J., Oostvogels, A.J.J.M., de Miranda, E., Vrijkotte, T.G.M., 2016a. Is first trimester vitamin D status in nulliparous women associated with pregnancy related hypertensive disorders? *Midwifery* 34, 117–122. doi: 10.1016/j.midw.2015.12.007.
27. Mirzakhani, H., Carey, V.J., McElrath, T.F., Laranjo, N., O'Connor, G., Iverson, R.E., Lee-Parritz, A., Strunk, R.C., Bacharier, L.B., Macones, G.A., Zeiger, R.S., Schatz, M., Hollis, B.W., Litonjua, A.A., Weiss, S.T., 2017. The association of maternal asthma and early pregnancy vitamin d with risk of preeclampsia: an observation from vitamin d

- antenatal asthma reduction trial (VDAART). *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 6, 600–608.e2. doi: 10.1016/j.jaip.2017.07.018.
28. Behjat Sasan, S., Zandvakili, F., Soufizadeh, N., Baybordi, E., 2017. The effects of vitamin d supplement on prevention of recurrence of preeclampsia in pregnant women with a history of preeclampsia. *Obstet. Gynecol. Int.* 2017, 8249264. doi: 10.1155/2017/8249264.
29. Tamblyn, J.A., Susarla, R., Jenkinson, C., Jeffery, L.E., Ohizua, O., Chun, R.F., Chan, S.Y., Kilby, M.D., Hewison, M., 2017. Dysregulation of maternal and placental vitamin D metabolism in preeclampsia. *Placenta* 50, 70–77. doi: 10.1016/j.placenta.2016.12.019.
30. Serrano, N.C., Guío, E., Quintero-Lesmes, D.C., Becerra-Bayona, S., Luna- Gonzalez, M.L., Herrera, V.M., Prada, C.E., 2018. Vitamin D deficiency and pre-eclampsia in Colombia: PREVitD study. *Pregnancy Hypertens* 14, 240–244. doi: 10.1016/j.preghy.2018.03.006.
31. Benachi, A., Baptiste, A., Taieb, J., Tsatsaris, V., Guibourdenche, J., Senat, M.V., Haidar, H., Jani, J., Guizani, M., Jouannic, J.M., Haguet, M.C., Winer, N., Masson, D., Courbebaisse, M., Elie, C., Souberbielle, J.C., 2019. Relationship between vitamin D status in pregnancy and the risk for preeclampsia: a nested case-control study. *Clin. Nutr.* doi: 10.1016/j.clnu.2019.02.015.
32. Burris, H.H., Van Marter, L.J., McElrath, T.F., Tabatabai, P., Litonjua, A.A., Weiss, S.T., Christou, H., 2014b. Vitamin D status among preterm and full-term infants at birth. *Pediatr. Res.* 75, 75–80. doi: 10.1038/pr.2013.174.
33. Thota, C., Menon, R., Fortunato, S.J., Brou, L., Lee, J.-E., Al-Hendy, A., 2014. 1,25-Dihydroxyvitamin D deficiency is associated with preterm birth in African American and

- Caucasian women. *Reprod. Sci.* 21, 244–250. doi: 10.1177/1933719113493513.
34. Bodnar, L.M., Platt, R.W., Simhan, H.N., 2015. Early-pregnancy vitamin D deficiency and risk of preterm birth subtypes. *Obstet. Gynecol.* 125, 439–447. doi:10.1097/AOG.0000000000000621.
35. Choi, R., Kim, S., Yoo, H., Cho, Y.Y., Kim, S.W., Chung, J.H., Oh, S., Lee, S.-Y., 2015. High prevalence of vitamin D deficiency in pregnant Korean women: the first trimester and the winter season as risk factors for vitamin D deficiency. *Nutrients* 7, 3427–3448. doi: 10.3390/nu7053427.
36. Rodriguez, A., Garcia-Esteban, R., Basterretxea, M., Lertxundi, A., Rodriguez-Bernal, C., Iniguez, C., Rodriguez-Dehli, C., Tardon, A., Espada, M., Sunyer, J., Morales, E., 2015. Associations of maternal circulating 25-hydroxyvitamin D3 concentration with pregnancy and birth outcomes. *BJOG* 122, 1695–1704. doi: 10.1111/1471-0528.13074.
37. Miliku, K., Vinkhuyzen, A., Blanken, L.M., McGrath, J.J., Eyles, D.W., Burne, T.H., Hofman, A., Tiemeier, H., Steegers, E.A., Gaillard, R., Jaddoe, V.W., 2016. Maternal vitamin D concentrations during pregnancy, fetal growth patterns, and risks of adverse birth outcomes. *Am. J. Clin. Nutr.* 103, 1514–1522. doi: 10.3945/ajcn.115.123752.
38. Morgan, C., Dodds, L., Langille, D.B., Weiler, H.A., Armson, B.A., Forest, J.-C., Giguere, Y., Woolcott, C.G., 2016. Cord blood vitamin D status and neonatal outcomes in a birth cohort in Quebec, Canada. *Arch. Gynecol. Obstet.* 293, 731–738. doi: 10.1007/s00404-015-3899-3.
39. Baczyńska-Strzecha, M., Kalinka, J., 2017. Assessment of correlation between vitamin D level and prevalence of preterm births in the population of pregnant women in Poland. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 30, 933–941. doi: 10.13075/ijomeh.1896.01146.

40. Bhupornvivat, N. , Phupong, V. , 2017. Serum 25-hydroxyvitamin D in pregnant women during preterm labor. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 26, 287–290.
41. McDonnell, S.L., Baggerly, K.A., Baggerly, C.A., Aliano, J.L., French, C.B., Baggerly, L.L., Ebeling, M.D., Rittenberg, C.S., Goodier, C.G., Mateus Nino, J.F., Wineland, R.J., Newman, R.B., Hollis, B.W., Wagner, C.L., 2017. Maternal 25(OH)D concentrations  $\geq$  40 ng/mL associated with 60% lower preterm birth risk among general obstetrical patients at an urban medical center. *PLoS One* 12, e0180483. doi: 10.1371/journal.pone.0180483.
42. Mohamed, S.A., El Andaloussi, A., Al-Hendy, A., Menon, R., Behnia, F., Schulkin, J., Power, M.L., 2017. Vitamin D and corticotropin-releasing hormone in term and preterm birth: potential contributions to preterm labor and birth outcome. *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.* 31, 2911–2917. doi: 10.1080/14767058.2017.1359534.
43. Tabatabaei, N., Auger, N., Herba, C.M., Wei, S., Allard, C., Fink, G.D., Fraser, W.D., 2017. Maternal vitamin D insufficiency early in pregnancy is associated with increased risk of preterm birth in ethnic minority women in Canada. *J. Nutr.* 147, 1145–1151. doi: 10.3945/jn.116.241216.
44. Chen, Y.-H., Fu, L., Hao, J.-H., Wang, H., Zhang, C., Tao, F.-B., Xu, D.-X., 2018. Influential factors of gestational vitamin D deficiency and its relation to an increased risk of preterm delivery in Chinese population. *Sci. Rep.* 8, 3608. doi: 10.1038/s41598-018-21944-3.
45. Hossain, N., Kanani, F.H., Ramzan, S., Kausar, R., Ayaz, S., Khanani, R., Pal, L., 2014. 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.* 99, 2448–2455. doi: 10.1210/jc.2013-3491.
46. Schneuer, F.J., Roberts, C.L., Guilbert, C., Simpson, J.M., Algert, C.S., Khambalia, A.Z., Tasevski, V., Ashton, A.W., Morris, J.M., Nassar, N., 2014. Effects of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the first trimester on subsequent pregnancy outcomes in an Australian population. *Am. J. Clin. Nutr.* 99, 287–295. doi: 10.3945/ajcn.113.065672.
47. Wetta, L.A., Biggio, J.R., Cliver, S., Abramovici, A., Barnes, S., Tita, A.T.N., 2014. Is midtrimester vitamin D status associated with spontaneous preterm birth and preeclampsia? *Am. J. Perinatol.* 31, 541–546. doi: 10.1055/s-0033-1356483.
48. Zhou, J., Su, L., Liu, M., Liu, Y., Cao, X., Wang, Z., Xiao, H., 2014. Associations between 25-hydroxyvitamin D levels and pregnancy outcomes: a prospective observational study in southern China. *Eur. J. Clin. Nutr.* 68, 925–930. doi: 10.1038/ejcn.2014.99.
49. Flood-Nichols, S.K., Tinnemore, D., Huang, R.R., Napolitano, P.G., Ippolito, D.L., 2015. Vitamin D deficiency in early pregnancy. *PLoS One* 10, e0123763. doi: 10.1371/journal.pone.0123763.
50. Sablok, A., Batra, Aruna, Thariani, K., Batra, Achla, Bharti, R., Aggarwal, A.R., Kabi, B.C., Chellani, H., 2015. Supplementation of vitamin D in pregnancy and its correlation with fetomaternal outcome. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 83, 536–541. doi: 10.1111/cen.12751.
51. Al-Shaikh, G.K., Ibrahim, G.H., Fayed, A.A., Al-Mandeel, H., 2016. Impact of vitamin D deficiency on maternal and birth outcomes in the Saudi population: a cross-sectional study. *BMC Pregnancy Childbirth* 16, 119. doi: 10.1186/s12884-016-0901-4.
52. Naghshineh, E., Sheikhalian, S., 2016. Effect of vitamin D supplementation in the

- reduce risk of preeclampsia in nulliparous women. *Adv Biomed Res.* 5, 7.
53. Samimi, M., Kashi, M., Foroozanfard, F., Karamali, M., Bahmani, F., Asemi, Z., Hamidian, Y., Talari, H.R., Esmailzadeh, A., 2016. 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.* 29, 505–515. doi: 10.1111/jhn.12339.
54. Zhao, X., Fang, R., Yu, R., Chen, D., Zhao, J., Xiao, J., 2017. Maternal Vitamin D status in the late second trimester and the risk of severe preeclampsia in southeastern China. *Nutrients* 9. doi: 10.3390/nu9020138.
55. Ali, A.M., Alobaid, A., Malhis, T.N., Khattab, A.F., 2019. Effect of vitamin D3 supplementation in pregnancy on risk of pre-eclampsia –randomized controlled trial. *Clin. Nutr.* 38, 557–563. doi: 10.1016/j.clnu.2018.02.023.