



UNIVERSIDADE DE  
**COIMBRA**

FACULDADE  
DE  
MEDICINA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

BÁRBARA FILIPA REBELO RODRIGUES

***Fisiopatologia da Vitamina D3 no Parto Pré-termo***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE FISIOPATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA ANA LUÍSA FIALHO AMARAL DE AREIA

PROFESSORA DOUTORA ANABELA MOTA PINTO

SETEMBRO/2020

## **Fisiopatologia da Vitamina D3 no Parto Pré-termo**

Bárbara Filipa Rebelo Rodrigues<sup>1</sup>; Anabela Mota Pinto, MD, PhD<sup>1,2,3</sup>; Ana Luísa Fialho Amaral de Areia, MD, PhD<sup>1,4</sup>;

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra (FMUC), Portugal;

<sup>2</sup> Instituto de Patologia Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal;

<sup>3</sup> Centro de Investigação em Ambiente, Genética e Oncobiologia (CIMAGO), FMUC, Portugal;

<sup>4</sup> Serviço de Obstetrícia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE, Coimbra, Portugal.

# Índice

Lista de Abreviaturas.....	3
Resumo.....	4
<i>Abstract</i> .....	6
Introdução.....	8
Materiais e Métodos.....	9
Discussão.....	10
1. Fisiopatologia da Vitamina D3.....	10
1.1 Fisiologia e Metabolismo da vitamina D.....	10
1.2 Alterações na homeostasia da vitamina D durante a gravidez.....	12
1.3 Implicações da Vitamina D na gravidez e no feto.....	14
2. Parto Pré-termo.....	17
2.1 Etiologia do parto Pré-termo.....	18
2.2 Fatores de risco de parto Pré-termo.....	19
3. Influência da Vitamina D no parto Pré-termo.....	20
3.1. Vitamina D na saúde materna.....	20
3.2. Vitamina D e regulação da inflamação placentária.....	26
3.3. Vitamina D na saúde do recém-nascido prematuro.....	29
4. Perspetivas futuras.....	32
Conclusão.....	34
Agradecimentos.....	36
Referências Bibliográficas.....	37

## Lista de Abreviaturas

PPT - Parto Pré-Termo

25(OH)D3 - 25-hidroxivitamina D3 (calcidiol)

1,25(OH)<sub>2</sub>D3 - 1,25-dihidroxivitamina D3 (calcitriol)

DBP - Proteína de Ligação da Vitamina D

VDR(s) - Recetor(es) da Vitamina D

PTH - Paratormona

IOM - *Institute of medicine*

BPN - Baixo peso ao nascimento

LIG - Leves para idade gestacional

## Resumo

A vitamina D3, para além da sua ação no equilíbrio mineral ósseo, exibe efeitos extra-esqueléticos. A sua fisiopatologia está interligada com a sua deficiência, sendo que esta afeta cerca de 20 a 40% das grávidas a nível mundial, tendo sido proposto que poderá influenciar desfechos obstétricos e neonatais adversos. Destes, destaque para o parto pré-termo (PPT) que, perante a sua etiologia multifatorial, constitui a principal causa de morbilidade e mortalidade neonatal e, por isso, permanece uma preocupação para a comunidade científica.

O objetivo deste artigo de revisão bibliográfica foi efetuar uma atualização sobre o papel da vitamina D durante a gravidez, a associação entre baixos níveis de 25-hidroxitamina D3 (25(OH)D3) e o PPT e o conseqüente impacto na saúde da gestante e do recém-nascido prematuro. Adicionalmente, pretendeu-se analisar a forma como estes resultados podem contribuir para futuras orientações obstétricas. Tais factos irão ser suportados por artigos publicados nos últimos dez anos.

Na gravidez existem três mecanismos de adaptação na homeostasia da vitamina D3 materna: o aumento de 1,25-dihidroxitamina D3 (1,25(OH)<sub>2</sub>D3); a passagem da 25(OH)D3 através da placenta; e o aumento da concentração da proteína de ligação da vitamina D (DBP). Desta forma, a concentração de 25(OH)D materna na altura do parto apresenta uma estrita relação com a deficiência de vitamina D neonatal.

Os estudos sugerem que a deficiência de vitamina D (<30 nmol/L) no sangue materno e a sua insuficiência (<50 nmol/L) aumentam o risco de PPT (respetivamente, OR 1,23, 95% IC 1,05-1,43 e OR 1,28, 95% IC 1,08-1,52). Por outro lado, níveis de 25(OH)D de pelo menos 100 nmol/L reduziram em 60% o risco de PPT, espontâneo e iatrogénico, e, assim, a sua suficiência poderá ser encarada como um fator protetor. Os níveis insuficientes de 25(OH)D no sangue do cordão umbilical conduzem a uma intensificação da inflamação placentária no PPT, confirmando-se a atividade anti-inflamatória e imunorreguladora da vitamina D.

Os recém-nascidos prematuros são, quanto às reservas de vitamina D, um grupo vulnerável ao nascimento, devido à inadequada suplementação dos mesmos e à hipovitaminose materna, já que esta afeta negativamente o crescimento fetal. Verifica-se que a suplementação com uma dose mais elevada de vitamina D, na ordem dos 800 UI/dia, é mais eficaz e melhor tolerada neste grupo.

Em conclusão, a hipovitaminose D materna é um fator de risco modificável de PPT, que tem conseqüências adversas na saúde dos seus descendentes. No entanto, a suplementação com vitamina D3 isolada durante a gravidez ainda não é uma intervenção

preventiva com benefícios estatisticamente significativos no PPT, permanecendo ainda discutível a sua administração na rotina pré-natal. Assim, a extrapolação dos presentes resultados deve ser cautelosa e torna-se urgente consciencializar médicos e investigadores relativamente a estes tópicos, para que futuras investigações possam ser desenvolvidas neste âmbito, de forma a melhorar os cuidados pré-natais.

**Palavras-chave:** fisiopatologia da vitamina D3; parto pré-termo; gravidez.

## **Abstract**

In addition to its action on bone mineral balance, vitamin D3 displays extra-skeletal effects. Its pathophysiology is connected to its deficiency, which affects nearly 20 to 40% of pregnant women worldwide, and it has been suggested that it may influence adverse obstetric and neonatal outcomes. Among these, is preterm birth (PTB) which, given its multifactorial aetiology, constitutes the main cause of neonatal morbidity and mortality and, thus, remains a concern for the scientific community.

The purpose of this bibliographic review article was to provide an update on the role of vitamin D during pregnancy, the association between low levels of 25-hydroxyvitamin D3 (25(OH)D3) and PTB and its consequent impact on the health of pregnant women and premature newborns. Additionally, the intent was to analyse how these results can contribute to future obstetric guidance. These facts will be supported by articles published over the last ten years.

In pregnancy, there are three adaptation mechanisms in maternal vitamin D3 homeostasis: the increase in 1,25-dihydroxyvitamin D3 (1,25(OH)2D3); the passage of 25(OH)D3 through the placenta; and the increase in the concentration of the vitamin D binding protein (DBP). Thus, the concentration of maternal 25(OH)D at the time of delivery is closely related to neonatal vitamin D deficiency.

Studies suggest that vitamin D deficiency (<30 nmol/L) in maternal blood and its insufficiency (<50 nmol/L) increase the risk of PTB (respectively, RR 1.23, 95% CI 1.05-1.43 and RR 1.28, 95% CI 1.08-1.52). On the other hand, levels of 25(OH)D of at least 100 nmol/L reduced the risk of spontaneous and iatrogenic PTB by 60%. Therefore, its sufficiency can be perceived as a protective factor. Insufficient levels of 25(OH)D in umbilical cord blood lead to an intensification of placental inflammation during PTB, confirming the anti-inflammatory and immunoregulatory action of vitamin D.

Premature newborns are, in terms of vitamin D reserves, a vulnerable group at birth due to their inadequate supplementation and to maternal hypovitaminosis, as this negatively affects foetal growth. It appears that supplementation with a higher dose of vitamin D - around 800 UI/day - is more effective and better tolerated within this group.

In conclusion, maternal hypovitaminosis D is a PTB modifiable risk factor, which has adverse consequences on the health of offspring. However, supplementation with vitamin D3 alone during pregnancy is still not a preventive measure with statistically significant benefits in PTB, and its administration as part of the prenatal routine remains debatable. Therefore,

extrapolation of the present results must be cautious. It is urgent to make doctors and researchers aware of these topics so that future research may be developed within this area in order to improve prenatal care.

**Key words:** vitamin D3 pathophysiology; preterm birth; pregnancy.

## Introdução

A vitamina D é um nutriente largamente documentado cientificamente, dado o seu envolvimento no processo de regulação da homeostasia mineral óssea, porém cada vez mais são descritos os seus efeitos não clássicos e possível relação com outras patologias humanas. A população em geral, apresenta uma prevalência preocupante de deficiência de vitamina D, consistente em todas as faixas etárias, grupos raciais e étnicos, sendo vista, deste modo, como um problema de saúde pública. (1)

Por conseguinte, a deficiência de vitamina D nas mulheres em idade reprodutiva não foge ao padrão anteriormente referido, estimando-se que afete cerca de 20 a 40 % das grávidas a nível mundial, sendo estas últimas consideradas um grupo de risco. (2) Posto isto, na última década, aumentaram as evidências científicas que realçam o efeito da hipovitaminose D materna durante o período pré-natal com um aumento do risco de desfechos obstétricos adversos, nomeadamente, risco de diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, baixo peso e comprimento ao nascimento, PPT e depressão pós-parto. (3,4)

O PPT, definido como aquele que ocorre antes das 37 semanas de gestação, continua a ser alvo de preocupação, pois é a principal causa de morbilidade e mortalidade neonatal, com uma prevalência de 9.6% a nível global. (5) Estratégias para prevenir a ocorrência do PPT, bem como reduzir os seus efeitos em recém-nascidos prematuros, são necessárias e emergentes, particularmente em ambientes com poucos recursos, dado o seu elevado impacto económico anual. Pode ser considerado não como uma entidade singular, mas como uma síndrome com múltiplas causas potenciais, pois a sua etiologia ainda não está totalmente compreendida, permanecendo vários fatores de risco por identificar. (5,6)

Sabe-se que o nível de vitamina D neonatal está dependente dos níveis de 25(OH)D3 materna, logo a hipovitaminose D durante a gravidez pode ter consequências no desenvolvimento fetal e comprometer a saúde no período pós-parto. (7) Estudos recentes fornecem dados evidentes de que os baixos níveis de 25(OH)D3 materna estão intimamente relacionados com aumento do risco de PPT e ainda descrevem o papel da suplementação de vitamina D na sua prevenção; contudo, os resultados não são consistentes. De tal modo, existe um interesse acrescido em explorar o impacto dos níveis de vitamina D na gravidez e a sua influência na saúde materna e do recém-nascido prematuro. (4,6)

A presente revisão bibliográfica pretende à luz das novas evidências científicas reestruturar os conhecimentos relativos à fisiopatologia da vitamina D3 na gravidez, a sua associação com o PPT e de como estes resultados poderão constituir abordagens futuras.

## Materiais e Métodos

A revisão da literatura que serviu de base a este trabalho realizou-se com recurso a plataformas online de pesquisa como *Pubmed*, *Embase* e *The Cochrane Library*, utilizando como termos de pesquisa: “(vitamin d [Mesh Terms] OR cholecalciferol [Mesh Terms] OR pathophysiology [All Fields]) AND preterm birth [Mesh Terms] AND pregnancy [Mesh Terms]”.

Esta pesquisa teve por base artigos publicados no período entre 2010 e 2020, sendo que apenas foram incluídos estudos na língua inglesa, portuguesa ou espanhola, com os seguintes critérios de inclusão e exclusão: abordassem e estivessem relacionados com a fisiopatologia da vitamina D3 e a sua relação com o PPT. Assim, os que não se focavam no tema em questão ou que não cumpriam o período ou idioma previamente estabelecido foram excluídos.

Inicialmente, realizou-se a pesquisa com recurso às bases de dados escolhidas e foram eliminados os artigos duplicados. Em seguida, os estudos foram selecionados de acordo com a avaliação do título e do respetivo resumo inicial e, conseqüente, relevância e critérios de inclusão/exclusão, procedendo-se seguidamente à leitura integral.

As listas de referências bibliográficas dos estudos relevantes foram examinadas para identificar outras publicações potencialmente elegíveis. Complementou-se ainda a pesquisa de literatura *cinzenta* como normas ou recomendações de organizações para complementar esta pesquisa.

# Discussão

## 1. Fisiopatologia da Vitamina D3

A fisiopatologia da vitamina D está essencialmente interligada com a sua deficiência, e esta pode ser considerada como um fator de risco global, nomeadamente para a saúde materna e do recém-nascido. Na secção seguinte serão abordados aspetos gerais relativos à fisiologia da vitamina D; seguidamente, das adaptações que a gravidez terá sob o ponto de vista do seu metabolismo; e por fim, das suas definições e recomendações particulares durante a gravidez e período neonatal.

### 1.1 Fisiologia e Metabolismo da vitamina D

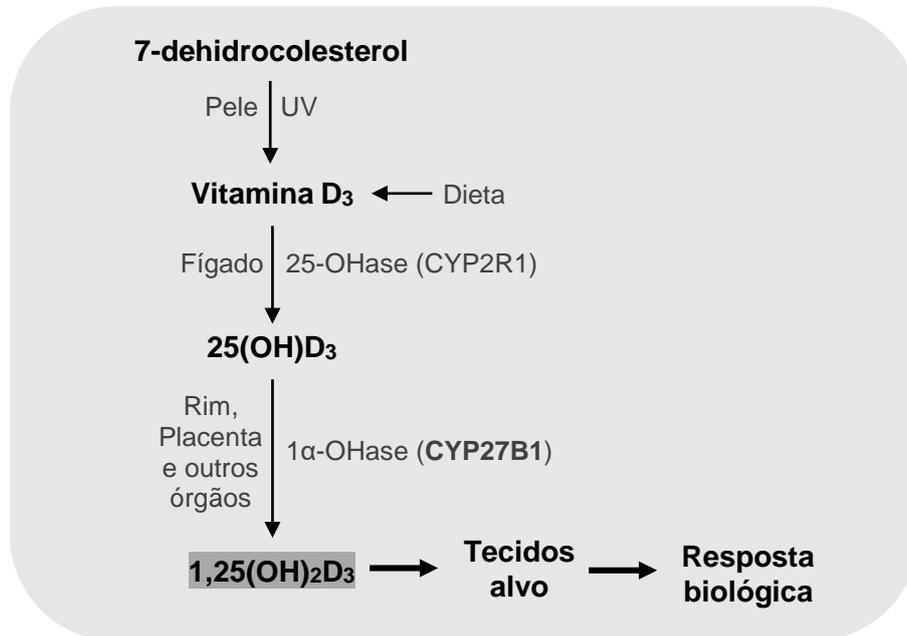
A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel que apresenta duas formas, ambas obtidas através da dieta, a vitamina D3 (coleciferol), de origem animal, em particular, peixes gordos e ovos e a vitamina D2 (ergocalciferol), de origem vegetal, sob forma de suplementos dietéticos. No entanto, esta fonte exógena tem um menor contributo no seu aporte. (1)

Dado o seu maior impacto a nível do organismo, destaca-se neste contexto a síntese e respetiva ativação da vitamina D3. Nos humanos, esta inicia a sua biossíntese a nível da pele e resulta da conversão da sua forma epidérmica, o 7-deidrocolesterol, através da exposição à radiação ultravioleta B, sendo esta fonte endógena muito eficaz e responsável por mais de 80% da sua produção. (1,8)

Inicialmente metabolizada no fígado, na primeira etapa de ativação, a vitamina D3 sofre hidroxilação e transforma-se no seu precursor imediato, a 25(OH)D3, que é o biomarcador de estado da vitamina D com uma longa semivida (2-3 semanas). Posteriormente, esta pró-hormona é convertida no rim em 1,25(OH)<sub>2</sub>D3, ou calcitriol, tornando-se biologicamente ativa. Esta segunda etapa de ativação é mediada no rim por enzimas do complexo do citocromo P450 nomeadamente a 25(OH)D3-1 $\alpha$ -hidroxilase (CYP27B1), que está também presente em tecidos extrarrenais, de forma independente, incluindo a placenta, sistema cardiovascular, neurológico, respiratório entre outros. (1,9) (Figura 1)

A atividade da CYP27B1 é estreitamente regulada pelo metabolismo mineral, especialmente pela paratormona (PTH), que tem por objetivo manter níveis plasmáticos de

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> adequados às necessidades e com uma semivida de 4-6 horas, de tal modo, que estes não refletem corretamente o estado de vitamina D. (1)



**Figura 1** – Síntese da forma ativa da vitamina D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>). Adaptado de *Cyprian F et al.* (9) (2019).

A vitamina D e os seus metabolitos, na corrente sanguínea, são transportados ligados principalmente à DBP, e em menor extensão pela albumina sérica ou circulando numa forma livre. Todavia a entrada nas células é realizada maioritariamente pelos metabolitos livres; por este motivo, a medição da 25(OH)D<sub>3</sub> livre pode ser útil em condições especiais com níveis alterados de DBP (por exemplo na gravidez, contraceção hormonal ou cirrose hepática); assim mais pesquisas são necessárias para clarificar a sua relevância. (1,8)

As ações celulares da vitamina D são mediadas por um recetor membranar e nuclear da vitamina D (VDR), expresso ubiquitariamente na maioria dos tecidos e células alvo, com ação subsequente na regulação da transcrição de múltiplos genes. Para além disso, apresenta uma ação não-genómica com efeitos rápidos sobre um grande número de mediadores biológicos e vias de sinalização celular, incluindo a estabilização do endotélio vascular. (1,8)

A forma ativa da vitamina D desempenha uma função fundamental na regulação do metabolismo ósseo e no equilíbrio do cálcio e fosfato. Mais recentemente tem sido amplamente aprofundado os potenciais efeitos extra-esqueléticos (não clássicos) que geram diversas respostas biológicas, como por exemplo, a modulação da imunidade inata e adaptativa, a homeostasia metabólica e o controlo do ciclo celular. (1)

## 1.2 Alterações na homeostasia da vitamina D durante a gravidez

Durante várias décadas julgou-se que o rim seria o único local de metabolismo da vitamina D, contudo as suas funções endócrinas, parácrinas e autócrinas ocorrem em todos os órgãos e sistemas. Particularmente, no sistema reprodutivo, alguns autores destacam o seu papel na concepção, evolução da gravidez e algumas complicações da mesma; e ainda, na saúde dos recém-nascidos. (8)

O metabolismo da vitamina D durante a gravidez manifesta alterações significativas em comparação com o estado de não gestação. Assim, a sua homeostasia é adaptada para responder a duas necessidades inerentes: permitir a mineralização óssea do feto no último trimestre por incremento da absorção materna de cálcio e reforçar a tolerância imunológica materna sistémica e local aos antígenos fetais. Têm sido sugeridas três potenciais modificações adaptativas da vitamina D durante a gravidez, a seguir discriminadas, sendo que ainda continua uma incógnita o mecanismo que as origina. (8)

A primeira adaptação consiste num aumento gradual de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  materna, cerca de 2 a 3 vezes durante a gestação, atingindo o pico máximo no terceiro trimestre. Tem sobretudo uma origem renal, independente dos níveis de PTH, porém sem afeção dos níveis de cálcio ionizado ou corrigido. Um dos propostos mecanismos para este aumento incorpora a elevada expressão de CYP27B1 na interface materno-fetal e nos tecidos fetais que origina vitamina D ativa em circulação, uma vez que esta forma não atravessa a placenta. (9) Os macrófagos renais desempenham uma resposta imunitária e são importantes mediadores do processo inflamatório, aumentando em circulação durante a gravidez normal. (8)

A segunda abrange a passagem da  $25(\text{OH})\text{D}_3$  materna através da placenta, representando a principal fonte de vitamina D no feto. Embriologicamente, a placenta é formada a partir da 4ª semana de gestação e é crucial no fornecimento de nutrientes para o desenvolvimento. Desde esse momento até ao parto, a  $25(\text{OH})\text{D}_3$  é transportada e atinge concentrações no sangue do cordão umbilical fetal equivalente a aproximadamente 50-75% do valor sanguíneo materno, com uma correlação forte entre ambas. (8)

A terceira assenta no aumento da concentração de DBP materna em 40-50%, que atinge o seu máximo no início do terceiro trimestre e depois decresce até ao parto. Esta proteína é expressa nas células do trofoblasto da placenta durante uma gravidez normal, o que sugere que o seu aumento possa advir de uma taxa elevada de renovação dos trofoblastos que se encontram em contato direto com o sangue materno, porém este mecanismo não está bem cimentado. (8)

As alterações enumeradas anteriormente estão evidentes, quer na circulação sistêmica, quer a nível da placenta, sendo esta um órgão vital de destaque, uma vez que suporta o desenvolvimento e programação fetal e tem os seus próprios mecanismos de regulação do metabolismo da vitamina D. (9)

Para complementar, o estudo de *Karras S.N. et al.* (2018) propõe que possíveis fenómenos biológicos adaptativos da homeostasia da vitamina D na gravidez possam estar relacionados com diversos desfechos obstétricos. Toma-se como exemplo, a desregulação da DBP estar envolvida na patogénese do PPT, pré-eclâmpsia e diabetes tipo 1 na descendência. (8) (Tabela I)

**Tabela I: Resumo das alterações da homeostasia da vitamina D na gravidez**

<b>Modificação adaptativa</b>	<b>Trimestre</b>	<b>Mecanismo</b>	<b>Desfechos</b>
Aumento de 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> materna	Início no 1º T e duplica até ao final do 3º T	Origem renal (atividade elevada da CYP27B1)  Diminuição do catabolismo	Pré-eclâmpsia revelou diminuição da ativação renal
Disponibilidade de 25(OH)D <sub>3</sub> materna e relação com 25(OH)D <sub>3</sub> neonatal	Redução de 25% níveis no sangue do cordão	25(OH)D <sub>3</sub> materna atravessa a placenta	Hipovitaminose D materna na gravidez resulta num estado de 25(OH)D <sub>3</sub> neonatal afetado
Aumento da DBP materna	Máximo com início no 3º T	Aumento da taxa de renovação de trofoblastos	Desregulação da DBP associada a parto pré-termo, pré-eclâmpsia, e diabetes tipo 1

**Legenda:** 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> -1,25-dihidroxitamina D3; 25(OH)D<sub>3</sub> - 25-hidroxitamina D3; DBP - proteína de ligação da vitamina D; T-Trimestre. Adaptado de *Karras S.N. et al.* (8) (2018).

Em suma, a vitamina D na gravidez desempenha uma ação fulcral na placentação, na manutenção da homeostasia do cálcio com conseqüente crescimento fetal (esquelético e cerebral) e na imunomodulação materno-fetal. (8)

### 1.3 Implicações da Vitamina D na gravidez e no feto

Historicamente, a primeira indicação do uso de vitamina D foi essencialmente para prevenção e tratamento do raquitismo, caracterizado por deformações ósseas em crianças. Posteriormente, numerosas ligações têm sido estabelecidas entre baixos níveis desta vitamina e o desenvolvimento de diversas doenças humanas; porém não existe nenhum fundamento científico consistente de relação causa-efeito. (1)

A deficiência de vitamina D é muito prevalente nas mulheres grávidas, apresentando-se como um grupo de risco acrescido. (2) A literatura recente, que aborda os determinantes desta deficiência, consiste maioritariamente em estudos observacionais e de qualidade variável; ainda assim, existem evidências de que, por exemplo, o aumento do índice de massa corporal, baixa exposição solar (como meses de Inverno e alta latitude) e as minorias étnicas em particular com pigmentação escura da pele, são fatores de risco para baixos níveis de vitamina D na gravidez. Para além disto, é significativamente mais prevalente em grávidas que nasceram no Sul da Ásia e na África. Não foi demonstrado, por outro lado, que fatores genéticos, aspetos culturais ou baixos níveis socioeconómicos sejam relevantes. (2,3)

Como anteriormente referido, a 25(OH)D é considerada como o principal indicador funcional do estado da Vitamina D, e inclui ambas as formas 25(OH)D<sub>2</sub> e 25(OH)D<sub>3</sub>, refletindo um balanço de síntese endógena e exógena. Até ao momento, as indicações normativas baseadas na evidência são consensuais de que a monitorização do nível de 25(OH)D não deve ser efetuado na mulher grávida por rotina, salvo se apresentarem um ou mais fatores de risco acima mencionados, devendo os seus resultados ser integrados com a situação clínica de forma individualizada. (3)

O *Institute of Medicine* (IOM), propõe que uma concentração sérica de 50 nmol/L de 25(OH)D é o valor adequado para manter uma saúde óssea, enquanto que a *Endocrine Society*, defende níveis mais elevados para manter esta homeostasia, especificamente valores de 75 nmol/L. (10,11) Apesar das definições e consensos variarem de acordo com as entidades acima mencionadas, a premissa do ponto de corte abaixo de 50 nmol/L na grávida como inadequado e de elevado risco, é foco predominante nas diversas recomendações atuais, ainda assim, permanece controverso qual o nível ideal de vitamina D na gravidez. (2)

A definição de insuficiência e deficiência é realizada com base na concentração sérica de 25(OH)D, e encontra-se representada na tabela II.

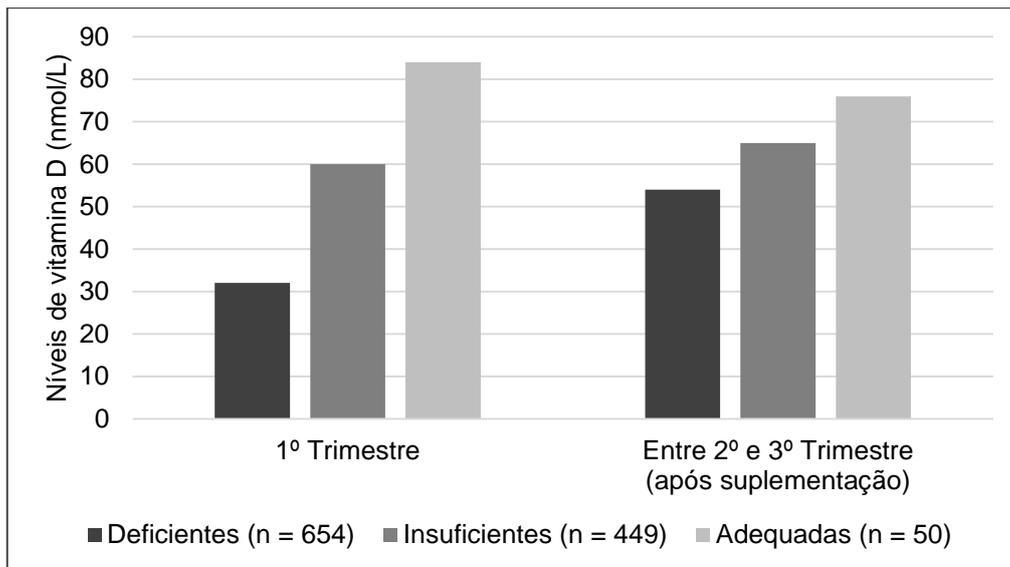
**Tabela II: Níveis de vitamina D, definições e recomendações**

	Níveis séricos de 25(OH)D		Doses diárias recomendadas (em categorias especiais)
	Insuficiência	Deficiência	
<b>Idade pediátrica</b> ( <i>IOM</i> )	30-50 nmol/L (12-20 ng/mL)	< 30 nmol/L (< 12 ng/ml)	0-6 meses: 400 UI 0-12 meses: 400-600 UI
<b>Adulto</b> ( <i>Endocrine Society</i> )	50-75 nmol/L (20-30 ng/mL)	< 50 nmol/L (< 20 ng/ml)	Grávida e Lactação: 600 UI

**Legenda:** UI - unidades internacionais (Adaptado de “Prevenção e Tratamento da Deficiência de Vitamina D” Norma da Direção Geral de Saúde nº004/2019 de 14/08/2019).

Segundo um estudo de coorte, realizado na Grécia, que incluiu um total de 129 mulheres grávidas e recém-nascidos classificados em três grupos de acordo com a concentração de 25(OH)D neonatal ao nascimento como deficiência (<30 nmo/L), insuficiência (30-50 nmol/L) e suficiência (>50 nmol/L), conclui-se que existe uma associação entre a deficiência de vitamina D neonatal e a concentração de 25(OH)D materna na altura do parto. Perante os factos, a ausência de uma suplementação adequada de vitamina D e a diminuição da exposição materna à radiação ultravioleta durante a gravidez são determinantes chave para a manifestação de hipovitaminose D neonatal ao nascimento. (12)

De acordo com uma pesquisa de *Davies-Tuck Met al*, realizada na Austrália a 1550 mulheres no início da gravidez (média de 13.7 semanas de idade gestacional) 55% delas tinham défice de vitamina D (< 50 nmol/L), 37 % eram insuficientes (50-74 nmol/L) e apenas 8% tinham níveis adequados ( $\geq$  75 nmol/L), apesar de ser um país com elevada exposição solar. (1,3) Às mulheres que eram insuficientes e deficientes no início da gravidez foi recomendada suplementação com 1000 UI diárias de vitamina D. Posteriormente, voltaram a avaliar-se os níveis de vitamina D na fase tardia da gravidez (28-30 semanas), a 1153 mulheres das atrás mencionadas (81%) e constatou-se que as insuficientes ou deficientes aumentaram significativamente a sua concentração ( $p < 0.001$  para ambos os grupos), e pelo contrário, os valores diminuíram em mulheres que inicialmente apresentavam níveis adequados e não foram suplementadas ( $p = 0.012$ ) (Figura 2). Provando-se que as concentrações de vitamina D não aumentam durante a gravidez sem suplementação ou mudança comportamental, é provável que o incremento observado nestas mulheres se deva à suplementação implementada. (3)



**Figura 2:** Variação dos níveis de vitamina D ao longo da gravidez, diferença entre fase precoce e tardia após suplementação. Adaptado de *Davies-Tuck Met al (3) (2015)*.

Na mulher grávida, permanece ainda questionável a necessidade e a eficácia da suplementação com vitamina D além da dieta, em contraste com outros nutrientes como o ácido fólico e o ferro que são unânimes a nível das recomendações. (2) Quando a deficiência de vitamina D é identificada, e segundo o comité da *American College of Obstetricians and Gynecologists*, deve ser iniciada a suplementação com 1.000 a 2.000 UI/dia de vitamina D. Porém, não está bem definido qual a dose de suplementação de vitamina D essencial para aumentar de forma adequada o seu nível na gravidez, o que sugere a necessidade de mais ensaios clínicos randomizados. Apesar de inconclusivo, existe a probabilidade de serem precisos ainda níveis mais elevados, na ordem de 4000 UI/dia. (13)

A suplementação padronizada durante o primeiro ano de vida em todas as crianças saudáveis é de 400 UI via oral, independentemente do tipo de alimentação. Atualmente a suplementação com vitamina D em recém-nascidos prematuros é recomendada por muitas organizações, mas as doses mais adequadas permanecem dúbias. A Academia Americana de Pediatria (AAP) defende valores de 200-400 UI/dia, enquanto que a Sociedade Endócrina e a Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (ESPGHAN) de 800-1000 UI/dia, desde os primeiros dias pós-natais. A monitorização dos níveis de 25(OH)D durante o período de internamento na unidade de neonatologia está indicada, pois o excesso desta é tóxica e pode levar a complicações, como, por exemplo, a hipercalciúria. (2,7)

## 2. Parto Pré-termo

O trabalho de PPT é definido como um parto que ocorre antes de completas as 37 semanas de gestação. (5)

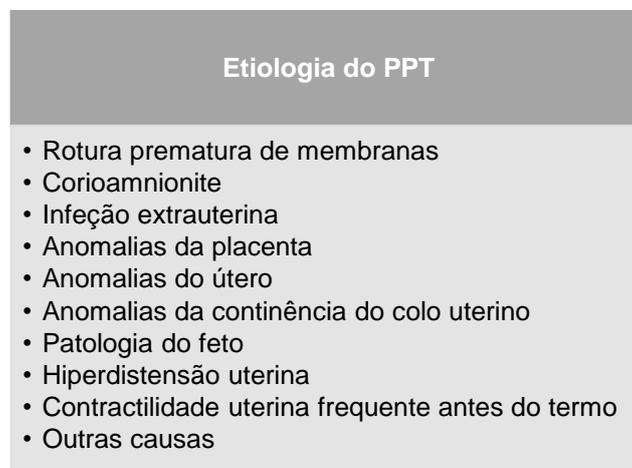
Existem diversos sistemas de classificação do PPT, nomeadamente um relacionado com a idade gestacional e o outro com o modo como este ocorre. Em função das semanas de gestação pode ser designado como prematuridade extrema (menos de 28 semanas), prematuridade grave (29 a 30 semanas), prematuridade moderada (31 a 33 semanas) e prematuridade tardia (34-37 semanas). O limite inferior da viabilidade não se encontra bem estabelecido, sendo as 24 semanas de gestação comumente considerado. Em função do modo em que ocorre, o mesmo pode ser espontâneo (com ou sem rutura prematura das membranas pré-termo) ou medicamente indicado (realizada indução do parto ou cesariana por indicação médica materna ou fetal), numa proporção relativa de 70% para 30%, respetivamente. (5)

Segundo as estatísticas, a nível global, com dados referentes de 92 países, o PPT exhibe uma prevalência estimada de 9,6%, mais especificamente de 5% na Europa e de 18% no continente Africano. Estas percentagens variam entre várias regiões geográficas sendo que os países com baixo nível socioeconómico são os mais afetados. O nascimento antes do termo é a principal causa de mortalidade e morbidade perinatal, com resultados tanto mais graves quanto menor o tempo de duração da gestação. As estimativas mais recentes sugerem ainda que as complicações do PPT representam aproximadamente 16% de todas as mortes em crianças com menos de cinco anos de idade e 35% das mortes entre os recém-nascidos. Perante este cenário, é primordial que a investigação se centre na sua prevenção e tratamento. (5)

A prematuridade tem como consequências uma maior incidência de sequelas a curto e a longo prazo, como por exemplo, aumento do risco de patologia respiratória (tais como displasia broncopulmonar e síndrome de dificuldade respiratória), patologia neurológica (leucomalácia periventricular, convulsões, paralisia cerebral, hemorragia intraventricular e encefalopatia hipóxico-isquémica), enterocolite necrotizante, sépsis neonatal, problemas visuais e auditivos. A administração de corticosteróides antes do parto, tem demonstrado o declínio da incidência destas complicações neonatais. Consequentemente para o recém-nascido, o PPT denota um impacto negativo na sua saúde, bem-estar e desenvolvimento mesmo na idade adulta. (5)

## 2.1 Etiologia do parto Pré-termo

Apesar da crescente preocupação médica quanto ao PPT, a sua fisiopatologia ainda não se encontra totalmente estabelecida. De facto, pensa-se que poderá ser devido a uma ativação precoce das vias normais do parto de termo, de uma forma idiopática ou de uma etiologia singular. Não obstante os diversos fatores como sociodemográficos, médicos, obstétricos, nutricionais e ambientais terem demonstrado aumentar o risco de PPT, a sua etiologia permanece ainda inadequadamente clarificada. Os quatro principais mecanismos fisiopatológicos, que desencadeiam um trabalho de PPT espontâneo, são: infeção/inflamação intrauterina, hiperdistensão uterina, hemorragia decidual e stress materno-fetal. (5)



**Figura 3:** Resumo das possíveis causas do PPT. (Adaptado de Graça, Luís Mendes da. Medicina Materno-Fetal, 5ª edição Lidel, 2017).

O início do trabalho de parto pode ser desencadeado quando os fatores locais uterinos estimulam precocemente a cascata de contratilidade uterina e dilatam o colo; ou quando os fatores que a inibem são suprimidos. Por conseguinte, origina-se uma resposta pró-inflamatória com libertação de uma quantidade considerável de citocinas, nomeadamente fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-8), e com a ativação de células T na interface materno-fetal e no colo uterino. Em particular, um subtipo de células Th1 tem sido estudado, verificando-se estar presente no sangue do cordão umbilical dos recém-nascidos prematuros, em contraste com os de termo. Posto isto, uma ativação prematura destas vias inflamatórias justifica um PPT, sendo este o mecanismo mais relevante. (9)

## 2.2 Fatores de risco de parto Pré-termo

Existem múltiplos fatores de risco para PPT a ter em consideração, detalhadamente os fatores de risco gerais, a história obstétrica e os específicos relacionados com a gravidez. Encontram-se esquematizados na Figura 4. Normalmente estão moderadamente associados, levando a um aumento de risco sem que os mecanismos e patogenia sejam conhecidos. Apresentam-se, por ordem de relevância, diferentes fatores de risco que podem interagir entre si, como por exemplo: baixo índice de massa corporal (odds ratio (OR): 1.35); bacteriúria assintomática (OR: 1.5); etnia negra (OR: 2.0); cirurgia cervical (risk ratio (RR): 2.04); técnicas de fertilização in vitro (RR: 2.13); vaginose bacteriana (RR: 2.19); tabagismo (OR: 3.21); encurtamento cervical  $\leq 25$  mm (RR: 6.19); em todos com intervalos de confiança a 95% estatisticamente significativos. (5,14)

Características Maternas	História Obstétrica	Gravidez Atual
<ul style="list-style-type: none"><li>• Hábitos (tabaco e drogas)</li><li>• Baixo nível socioeconómico</li><li>• Etnicidade</li><li>• Idade avançada</li><li>• Stress na gravidez</li><li>• Baixo IMC e aumento ponderal</li><li>• Défice de vitamina D</li><li>• Doença periodontal</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• PPT prévio</li><li>• Pré-eclâmpsia</li><li>• Diabetes gestacional</li><li>• Insuficiência cervical</li><li>• Anomalias uterinas, leiomiomas</li><li>• Rotura prematura de membranas</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Condições Infeciosas:<ul style="list-style-type: none"><li>• Vaginose bacteriana;</li><li>• Infecções urinárias;</li><li>• HIV;</li></ul></li><li>• Corioamnionite</li><li>• Gravidez múltipla</li><li>• Hemorragia</li><li>• Procriação medicamente assistida</li></ul>

**Figura 4:** Fatores de risco de parto pré-termo. Adaptado de *Koullali B et al.*(14) (2016).

Por tudo o que já foi explanado, é fundamental para os cuidados obstétricos o reconhecimento destes fatores individuais no início da gravidez, uma vez que intervenções precoces podem ser eficazes na redução da incidência de PPT em geral. Torna-se essencial realizar estudos adicionais, sobre a etiopatogenia, para melhor compreensão e possível intervenção na prevenção do PPT, destacando-se a cessação tabágica, o uso de suplementos nutricionais, mudanças de estilos de vida e uso de progesterona. (14)

A deficiência de vitamina D tem sido também apontada como um fator de risco para o desenvolvimento de PPT, sugerindo que a mesma tenha um papel importante na supressão da resposta imune materna e das vias inflamatórias Th1-mediadas, que levam ao início do parto, cujo tema será abordado na seguinte secção. (9)

### 3. Influência da Vitamina D no parto Pré-termo

É cada vez maior o número de evidências científicas que colocam em hipótese uma relação entre a deficiência de vitamina D materna e o risco de diversos desfechos obstétricos e neonatais adversos, entre os quais se inclui o risco aumentado de PPT, de pré-eclâmpsia, de aborto espontâneo, de depressão pós-parto e de diabetes gestacional, tendo repercussões negativas na saúde materna. Além disso, também se propõem perturbações no crescimento e nas medidas antropométricas fetais, influenciando a saúde do recém-nascido. (4,6,15)

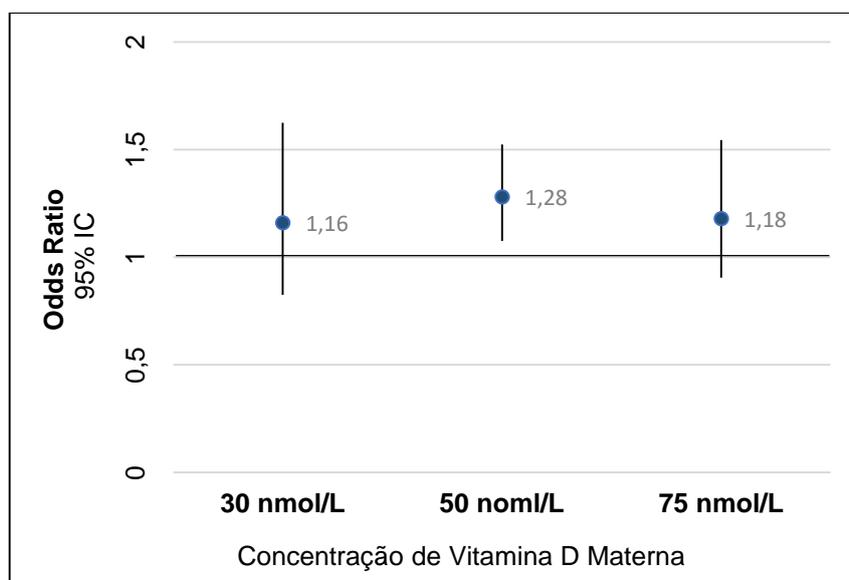
#### 3.1. Vitamina D na saúde materna

Uma revisão sistemática e meta-análise recente de *Tous M et al.* identificou 54 artigos, dos quais foram selecionados 19 artigos originais, com o objetivo de avaliar se a concentração pré-natal de vitamina D no sangue materno está associada a um aumento do risco de PPT. Os mesmos encontram-se detalhadamente caracterizados na tabela III. Em particular, nessa análise foram aplicados três diferentes pontos de corte da concentração de 25(OH)D, sendo classificados em subgrupos (30, 50 e 75 nmol/L), baseados nas definições de deficiência e insuficiência de vitamina D do IOM e subótimos da *Endocrine Society*, como previamente exposto. Nos casos reportados como concentrações em ng/mL foram convertidos para nmol/L multiplicando por 2.5 ( $2.5 \times \text{ng/mL} = \text{nmol/L}$ ). (10,11,15)

Todos os 19 artigos incluídos utilizaram uma das 5 técnicas laboratoriais diferentes para quantificar os níveis séricos de 25(OH)D materna. Quanto a estas técnicas, na investigação científica, a espectrometria de massa (LC-MS/MS) é usada como referência, utilizada em 10 artigos (16–25), deixando para segundo plano a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), em apenas 1 artigo (26), uma vez que, estas permitem diferenciar a vitamina D3 da D2. Já na rotina laboratorial, as técnicas de imunoensaio, como a quimioluminescência (CLIA), o radioimunoensaio (RIA) e a imunoabsorção enzimática (ELISA), são os mais adotados, sendo utilizados nos restantes 8 artigos (27–34). Estas últimas quantificam níveis de vitamina D total, sobrestimando a concentração de 25(OH)D e a influência da DBP, que circula em elevadas concentrações na mulher grávida, motivo pelo qual não são ideais para investigação científica. Posto isto, questões metodológicas limitam a comparação entre os estudos, não existindo ainda uma técnica padronizada e reprodutível. (15,20)

Na generalidade dos artigos confirmou-se a elevada prevalência de deficiência de vitamina D nas gestantes, quer se tenha descoberto ou não uma associação com o PPT.

Os resultados desta meta-análise indicaram que a carência de vitamina D materna, que resulta em desfechos obstétricos adversos, está subordinada ao seu grau de deficiência. Verificou-se que uma concentração de 25(OH)D inferior a 50 nmol/L é suficiente para aumentar em 28% o risco de PPT e que, por outro lado, níveis subótimos de vitamina D (ponte de corte 75nmol/L) não têm influência no aumento deste risco. No início desta análise de resultados não foi encontrada qualquer associação significativa entre deficiência de vitamina D (ponte de corte 30nmol/L) e PPT, devido ao intervalo de confiança amplo apresentado (OR 1,16, 95% IC 0,83-1,62), contudo, os autores após exclusão dos estudos de *Fernández Alonso et al.* e *Shand et al.*, que causavam evidente assimetria, reformularam os resultados expondo um valor estatisticamente significativo (OR 1,23, 95% IC 1,05-1,43). (15,32) (Figura 5)



**Figura 5:** Associação entre o parto pré-termo e as diferentes concentrações de vitamina D materna (30, 50, e 75 nmol/L). Adaptado de *Tous M et al.* (15) (2018).

Em relação aos subtipos de PPT, espontâneo e medicamente indicado, apresentaram redução do risco em gestantes com concentrações de 25(OH)D  $\geq$ 100 nmol/L versus 50 nmol/L para ambos os subtipos, respetivamente de 58% e 61%. (21) Deste modo, a vitamina D pode atuar como um fator etiológico do PPT medicamente indicado, por estado fetal não tranquilizador ou por hipertensão materna, e, portanto, aumentando as reservas de vitamina D em mulheres com as condições subjacentes impedirá a emergência do mesmo. (18,21) Uma análise de *Bodnar et al.*, corroborou de forma similar que há diminuição do risco de PPT

(curva não linear) com o aumento de 25(OH)D até 90 nmol/L e alcançando em seguida um plateau, apoiando a suficiência de vitamina D materna como protetora. (18)

Entre estes vários estudos, o estado da vitamina D materna foi testado em diferentes idades gestacionais. De ressaltar que a hipótese de existir uma janela temporal durante a gravidez em que os efeitos metabólicos e imunológicos da vitamina D se fazem sentir neste desfecho adverso não foi mensurada.

A idade gestacional em que ocorreu o parto pode ser outro fator que influencia os resultados. A prevalência de deficiência de vitamina D, segundo *Zhu et al.*; surgiu em 63,04% das grávidas do grupo prematuridade extrema-grave (antes das 31 semanas), em contraste com 31,34% no grupo prematuridade moderada-tardia (depois das 31 semanas) e 36,61% no grupo de termo. Como tal, demonstraram existência de uma diferença significativa entre o nível de vitamina D do grupo prematuridade extrema-grave e o moderada-tardia ( $p < 0,01$ ). De facto, estes valores confirmam uma associação entre aqueles em que o parto ocorreu apenas antes das 31 semanas e a deficiência materna de vitamina D. (34)

De acordo com *Perez-Ferre et al.* existe uma correlação inversa entre a concentração de 25(OH)D e os níveis de glicose em jejum e no teste de tolerância à glicose oral na primeira hora. (30) Já num estudo anterior, de *Davies-Tuck et al.*, encontraram que níveis de vitamina D materna  $< 50$  nmol/L ( $p=0.008$ ) ou 50-74 nmol/L ( $p=0.005$ ) estavam relacionados com um aumento do risco de diabetes gestacional, apesar de *Schneuer et al.* contrariar estes resultados. Perante estes resultados a deficiência desta vitamina pode estar relacionada com distúrbios do metabolismo da glicose, sendo ambos os fatores considerados de risco do PPT. (3,31)

Em *Tabatabaei et al.*, evidenciou-se que a insuficiência de vitamina D no primeiro trimestre da gravidez está relacionada a um aumento do risco de PPT especificamente em mulheres de minorias étnicas (IC 95%: 1.16, 14.12  $p=0.028$ ), como por exemplo da África subsariana e Ásia ocidental, apesar de não ter sido demonstrada em toda a população. As diferenças entre a etnicidade e vitamina D no PPT podem ser explicadas por uma diversidade de fatores, sobretudo relacionados com a afinidade e concentração da DBP que varia com a etnia e com a pigmentação cutânea. Deste modo, a hipovitaminose D tem sido proposta como uma possível explicação biológica para as disparidades raciais notadas nos desfechos adversos na gravidez, nomeadamente no PPT. (23)

A informação limitada acerca de marcadores do metabolismo da vitamina D também constitui um obstáculo. Pois, a DBP interfere com a biodisponibilidade de 25(OH)D e, visto que, ambas se encontram ligadas em circulação, possivelmente a 25(OH)D sérica isolada não será o melhor indicador funcional do estado da vitamina D. (18)

Os níveis de 25(OH)D, registados no primeiro e terceiro trimestres, nas gestantes cujo primeiro trimestre decorreu no outono/inverno revelaram ser inferiores aos daquelas em que o mesmo ocorreu na primavera/verão. Apesar disso, constatou-se que independentemente da estação do ano em que a amostragem inicialmente foi realizada, os níveis de 25(OH)D reduziram do primeiro para o terceiro trimestre. (28)

No que concerne à interpretação e à comparação destes estudos observacionais, a meta-análise possui algumas limitações, principalmente pela existência de múltiplas variáveis de confundimento, tais como: idade gestacional na amostragem (no início ou no final da gravidez), metodologia para quantificar a 25(OH)D, desenho do estudo (transversal, coorte e caso controlo), diferenças sazonais (verão versus inverno) e etnicidade. De igual forma, diferenças na adiposidade corporal entre as gestantes podem contribuir para a alta heterogeneidade da amostra. Todavia, na maioria dos estudos, após controlo desta heterogeneidade, permaneceu uma relação estatisticamente significativa. (18–20,24,26,29,32,33)

A revisão sistemática e metanálise exhibe vários pontos fortes, como reunir uma amostra total de 23316 mulheres grávidas de culturas, grupos étnicos, latitudes, estações e idades variadas, que podem universalizar estes resultados para uma população de maior dimensão. (15)

No final, a revisão identificou a deficiência (<30 nmol/L) e insuficiência (<50 nmol/L) de vitamina D no sangue materno como fatores de risco modificáveis para desenvolvimento de PPT. Desta forma novos estudos experimentais são imprescindíveis, em várias etapas da gravidez e com mais níveis de corte, para confirmar estes resultados, isto porque a extrapolação dos presentes resultados precisa de ser cautelosa, não permitindo recomendar ainda rotineiramente a suplementação materna de vitamina D devido à sua natureza e limitações. (15)

**Tabela III: Características dos artigos sobre a associação entre os níveis de Vitamina D no sangue materno e o parto Pré-Termo**

1º Autor/ Ano de Publicação	País	Desenho do estudo	Amostra (n), Idade gestacional	Método de doseamento 25(OH)D, Nível referência nmol/L	Resultados
<i>Shand et al.</i> (2010)(32)	Canadá	Coorte prospetivo	Grávidas entre as 10- 21 semanas (n=227)	RIA Def. severa <37.5; Def. <50; Suf. >75	Sem associação encontrada em 30 e 50 nmol/L
<i>Baker et al.</i> (2011)(16)	Estados Unidos	<i>Nested</i> caso controlo	Grávidas entre as 11- 14 semanas (n=160)	LC-MS/MS Def. < 50; Insuf. 50- 75; Suf. ≥75	Sem associação encontrada em 50 e 75 nmol/L
<i>Fernandez Alonso et al.</i> (2012)(28)	Espanha	Coorte prospetivo	Grávidas entre 11-14 semanas (n=466)	RIA Hipovitaminose <50 CLIA Def. <50; Insuf. 50- 74.5; Suf. ≥75	Sem associação encontrada em 50 nmol/L
<i>Perez Ferre et al.</i> (2012)(30)	Espanha	Coorte prospetivo	Grávidas entre as 24- 28 semanas (n=266)	CLIA Def. < 50	Maior risco de ocorrência de PPT em <30 e <50 nmol/L
<i>Thorp et al.</i> (2012)(24)	Estados Unidos	<i>Nested</i> caso controlo	Grávidas entre as 16- 22 semanas (n=265)	LC-MS Def.<50	Sem associação encontrada em 50 nmol/L
<i>Arija et al.</i> (2014)(27)	Espanha	Coorte	Grávidas com < 12 semanas (n=428)	ELISA Def. <50	Sem associação encontrada em 30, 50 e 75 nmol/L
<i>Schneuer et al.</i> (2014)(31)	Austrália	<i>Nested</i> caso controlo	Grávidas entre as 10- 14 semanas (n=5109)	CLIA Def. <37.5; Insuf.<75	Sem associação encontrada em 30 e 50 nmol/L
<i>Wetta et al.</i> (2014)(25)	Estados Unidos	<i>Nested</i> caso controlo	Grávidas entre as 15- 21 semanas (n=200)	LC-MS Def. <37.5; Insuf. <75	Sem associação encontrada em 30 nmol/L
<i>Bodnar et al.</i> (2015)(18)	Estados Unidos	<i>Nested</i> caso controlo (caso- coorte)	Grávidas com < 20 semanas (n=2327)	LC-MS/MS Def. <50; Insuf. 50- 74.9; Suf. ≥75	Maior risco de ocorrência de PPT em <50 e <75 nmol/L
<i>Choi et al.</i> (2015)(20)	Coreia	Coorte prospetivo	Qualquer trimestre da gravidez (n=220)	LC-MS/MS Def. <50; Subótimo 50-75; Suf. ≥75	Sem associação encontrada em 50 nmol/L
<i>Flood- Nichols et al.</i> (2015)(29)	Estados Unidos	Coorte retrospectivo	Grávidas entre as 5-12 semanas (n= 235)	ELISA Def. severa <50; Insuf. 51-74; Suf. >75	Sem associação encontrada em 50 e 75 nmol/L
<i>Wagner et al.</i> (2015)(33)	Estados Unidos	Transversal (análise <i>Post Hoc</i> )	Na altura do parto (n=50)	RIA Def. ≤50; Insuf. <50- 100; Suf. ≥100	Maior risco de ocorrência de PPT em <50 nmol/L

<i>Zhu et al.</i> (2015)(34)	China	Coorte prospetivo	Na altura do parto (n=821)	ELISA Def. severa $\leq 25$ ; Def. moderada 25-50; Insuf. 50-75	Sem associação encontrada em 75 nmol/L  PPT com <31 semanas associado a <50 nmol/L
<i>Boyle et al.</i> (2016)(19)	Nova Zelândia	Coorte prospetivo	Grávidas com < 15 semanas (n=1710)	LC-MS Def. severa <25; Def. < 50; Insuf. < 75	Sem associação encontrada em 30, 50, 75 nmol/L
<i>Miliku et al.</i> (2016)(22)	Holanda	Coorte prospetivo	Grávidas com média de 20,3 semanas (n=7098)	LC-MS Def. severa <25; Def. 25-49.9; Suf. 50- 74.9; Ótimo $\geq 75$	Maior risco de ocorrência de PPT em <30, <50 e <75 nmol/L
<i>Yang et al.</i> (2016)(26)	China	Coorte prospetivo	Não disponível (n=138)	HPLC Def. <50	Sem associação encontrada em 50 nmol/L
<i>Mcdonnell et al.</i> (2017)(21)	Estados Unidos	Coorte prospetivo	Grávidas entre as 24– 28 semanas (n=1064)	LC-MS Def. <50; Insuf. 50– 75; Suf. 75–100	Maior risco de ocorrência de PPT em <50 nmol/L
<i>Tabatabaei et al.</i> (2017)(23)	Canadá	Caso controlo	Grávidas entre as 8–14 semanas (n=480)	LC-MS Def. <50; Insuf. 50- 75; Suf. >75	Sem associação encontrada em 50 nmol/L
<i>Bärebring et al.</i> (2018)(17)	Suécia	Coorte prospetivo	Grávidas entre as 8–12 semanas (n=2052)	LC-MS/MS Insuf. 30–50; Suf. $\geq 50$ ; Ótimo $\geq 75$ ou 100	Sem associação encontrada em 30, 50 e 75 nmol/L

**Legenda:** Def. - deficiência; Insuf. - insuficiência; Suf. - suficiência; ELISA - ensaio de imunoabsorção enzimática; CLIA – imunoensaio de quimioluminescência; RIA - radioimunoensaio; LC-MS/MS - cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas; HPLC - cromatografia líquida de alta eficiência. Adaptado de *Tous M et al.* (15) (2018).

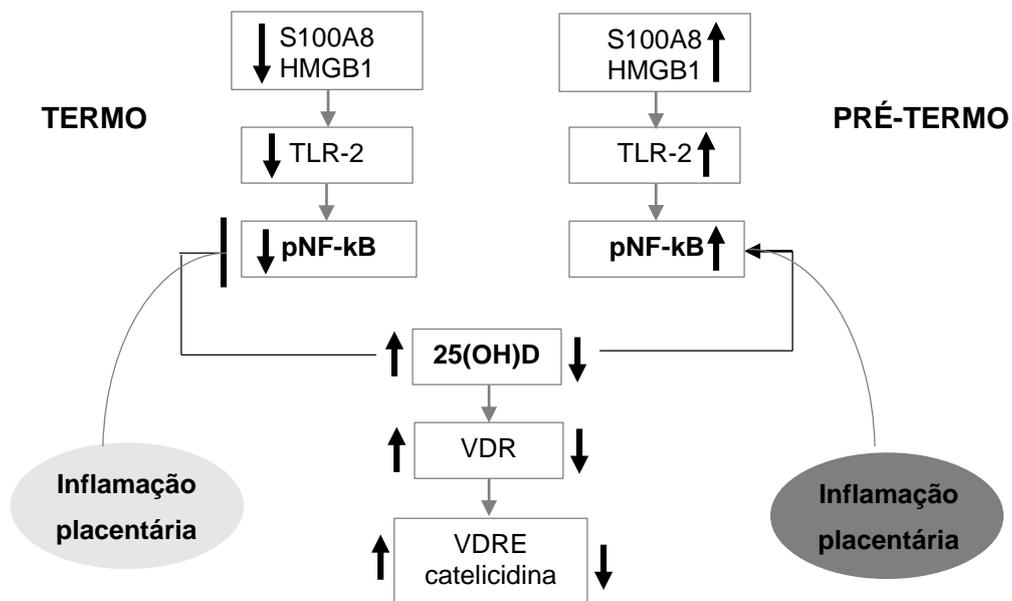
### 3.2. Vitamina D e regulação da inflamação placentária

Na interface materno-fetal é necessário um equilíbrio inflamatório do sistema imunitário para o sucesso da gravidez, e como previamente abordado, uma desregulação neste, que leve a uma excessiva resposta pró-inflamatória pode levar a um PPT, sendo esta considerada a sua principal causa.

A vitamina D apresenta propriedades anti-inflamatórias e imunorreguladoras, podendo assim ter um potencial de modulação da resposta inflamatória placentária. Uma vez que a deficiência materna desta culmina com um aumento do risco de PPT, existe a hipótese de alterações na sinalização da vitamina D, presente na interface materno-fetal, estarem na gênese desta relação. (35)

Por esse motivo, um estudo observacional de *Budhwar S et al.*, teve como objetivo avaliar o impacto da alteração da concentração de 25(OH)D no sangue do cordão umbilical e a sua correlação com a inflamação placentária durante o PPT. Para isso, quantificaram os níveis séricos de 25(OH)D do cordão em recém-nascidos de termo (n=20) e prematuros (n=20). Em seguida, analisaram a expressão de marcadores inflamatórios na placenta, como por exemplo: padrões moleculares associados aos patogénios (S100A8, HMGB1), recetores de reconhecimento de padrões (TLR2) e de um fator de transcrição inflamatório (p-NF-kappaB) em ambos os grupos, através de técnicas de biologia molecular e de imunohistoquímica. Para além de avaliarem o impacto inflamatório na placenta, através da colheita de tecido na altura do parto, avaliaram as suas alterações histológicas. Em complemento, investigaram a expressão de mediadores de sinalização da vitamina D (VDR, CYP27B1, catelicidina) na placenta. (35)

Os resultados evidenciaram, no grupo de prematuros, um aumento da expressão dos marcadores de inflamação placentária e uma diminuição da expressão de mediadores de sinalização da vitamina D. Um ponto chave foi a concentração de 25(OH)D apresentar uma correlação negativa com o p-NF-kappaB, sugerindo que a sua diminuição pode levar ao aumento da expressão deste fator inflamatório. Em relação às alterações histológicas no PPT, a camada de sinciotrofoblasto encontrava-se distorcida, com deposição de tecido fibroso no estroma e redução da sua vascularização. O conjunto destas alterações enunciadas culminam num estado inflamatório desfavorável que pode levar a uma ativação espontânea do trabalho de PPT. Por outro lado, nos controlos de termo permaneceu uma arquitetura vascularizada da placenta, uma vez que, uma concentração adequada de 25(OH)D manteve um balanço do estado inflamatório na interface materno-fetal. (35) (Figura 6)



**Figura 6.** – Representação da análise de marcadores inflamatórios (S100A8, HMGB1, TLR2, p-NF-Kb) na placenta, do controlo e gravidez pré-termo. Necessário uma [25(OH)D] ótima para equilibrar o estado de inflamação placentária, regulando negativamente o p-NF-kappaB. Adaptado de *BudhWar et al.* (35) (2019).

Resumindo, este estudo foi primordial em evidenciar uma correlação entre níveis insuficientes de 25(OH)D no sangue do cordão umbilical e a alteração da sua sinalização anti-inflamatória em acentuar a inflamação placentária durante o PPT. No entanto, continua controverso se os baixos níveis de vitamina D são uma causa ou uma consequência da inflamação, pelo que há necessidade de se realizar mais estudos para confirmar estes resultados. (35)

A vitamina D influencia não só a imunidade inata como também a adaptativa. Para além da sobre-regulação dos genes envolvidos no controlo da inflamação, também um aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias pela ativação de células T desencadeiam um PPT. Verifica-se igualmente, através da expressão de citocinas, que os linfócitos T intrauterinos se compõem de diferentes fenótipos, como por exemplo: as citocinas Th2 (IL-4, IL-10) podem diminuir as respostas Th1 (IL-2 e IFN-g), formando um microambiente essencial para uma boa evolução da gravidez. (9)

Segundo *Cyprian F et al.*, um fenótipo de células Th1 foi encontrado no sangue do cordão umbilical dos recém-nascidos prematuros, em comparação com os de termo, comprovando a ativação do perfil inflamatório Th1 (em oposição ao Th2) e, portanto, as alterações na dicotomia Th1/Th2 podem auxiliar na explicação do PPT. Assim, a vitamina D,

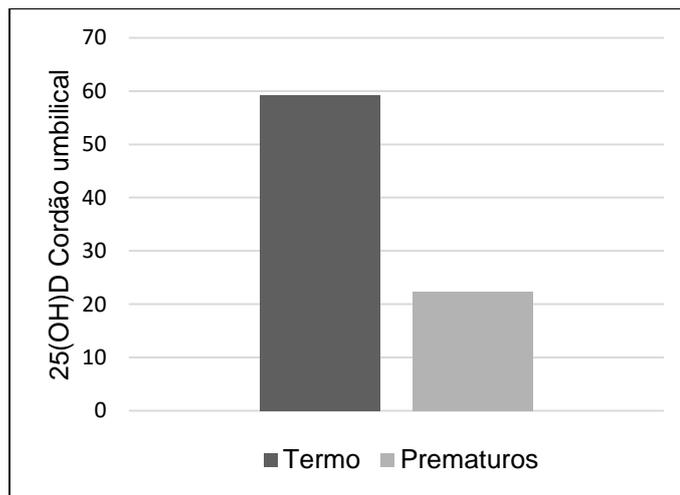
como resposta aos sinais inflamatórios, tem a capacidade de reduzir a apresentação de antígenos pelas células dendríticas e de citocinas importantes para o recrutamento e ativação dos linfócitos Th1 (redução da expressão de IL-2 e aumento de IL-10) e, conseqüentemente, suprimir a propagação da resposta imunológica celular que pode levar à indução do trabalho de parto. Além do mais, foi provada uma conexão significativa entre níveis séricos de vitamina D e células T reguladoras nos prematuros. (9)

Em conclusão, o uso de vitamina D, que tanto pela inibição da ativação de NF-kappaB como pela supressão da diferenciação de Th1, pode ser uma estratégia atrativa na prevenção do PPT, dada a diminuição da magnitude da inflamação placentária. Apesar de estes resultados parecerem promissores, existem ainda poucos estudos que permitam retirar conclusões mais concretas. (9,35)

### 3.3. Vitamina D na saúde do recém-nascido prematuro

Após o nascimento, com a súbita cessação da fonte de vitamina D por transferência transplacentar, sobretudo no último trimestre da gravidez, o recém-nascido prematuro fica em risco de carência desta e de outros micronutrientes. As suas necessidades nutricionais divergem das dos de termo, visto que o seu metabolismo apresenta imaturidade de diversos órgãos e uma acelerada velocidade de crescimento. (12,35)

Efetivamente, os prematuros exibem um declínio da concentração de 25(OH)D no sangue do cordão umbilical em comparação com os recém-nascidos de termo (Figura 7), tendo esta uma correlação positiva com a idade gestacional ( $r = 0.936$ ,  $p < 0.0001$ ) e com o peso ao nascimento ( $r = 0.9559$ ,  $p < 0.0001$ ). Portanto, a relação entre menor idade gestacional no parto e níveis baixos de 25(OH)D, faz com que os recém-nascidos prematuros sejam uma população vulnerável no que concerne às reservas diminutas de vitamina D. (35)



**Figura 7:** Gráfico que demonstra a 25(OH)D no sangue do cordão umbilical entre prematuros e recém-nascidos de termo. Adaptado de *Budhwar S et al.* (35) (2019).

Nas primeiras seis a oito semanas de vida pós-natal, os níveis de vitamina D dos recém-nascidos dependem dos níveis maternos *in útero*. A maior parte dos recém-nascidos prematuros tem baixo peso ao nascimento (BPN – inferior a 2500g), incluindo aqueles considerados leves para a idade gestacional (LIG – abaixo do percentil 10), e como consequência estão em risco de restrição do conteúdo mineral ósseo, podendo manter-se até 6 meses de idade corrigida. Deste modo, há evidência de que a deficiência de vitamina D materna ( $< 30$  nmol/L) se relaciona com alterações nas medidas antropométricas ao

nascimento, tais como a diminuição média de 87,82 g (95% IC -119,73, -55,91) do peso e a diminuição média de 0,19 cm (95% IC -0,32, -0,06) do perímetro cefálico, não se verificando nenhuma alteração estatisticamente significativa quanto ao comprimento. Adicionalmente observou-se uma associação entre a insuficiência de vitamina D (<50 nmol/L) e um aumento do risco de recém-nascidos LIG (OR 1,43, 95% IC 1,08-1,91). Estes resultados apresentados parecem plausíveis, dado que a vitamina D tem um papel determinante no metabolismo do cálcio e, naturalmente, no crescimento fetal. (15,22)

Apesar do número considerável de estudos a confirmar que a deficiência de vitamina D no sangue materno tem uma repercussão negativa na saúde dos descendentes, são escassos os que investigam uma relação com os seus níveis no sangue do cordão umbilical. Exemplo disso é *Morgan et al.* (2016), um estudo de caso-controlo dirigido no Canadá, que teve como intuito avaliar a associação entre a concentração de 25(OH)D no cordão umbilical no momento do parto e alguns desfechos neonatais, mostrando não existir associação significativa com o PPT e com recém-nascidos LIG. Porém, para uma concentração <50 nmol/L (OR 0,47 IC 95% 0,23-0,97) houve uma redução do risco de BPN comparado com  $\geq 75$  nmol/L, sugerindo uma possível causalidade reversa nesta relação. (36)

Quanto à suplementação da vitamina D3, um ensaio clínico testou a eficácia de duas doses diferentes, numa população nascida entre as 24 e 32 semanas de gestação e internada numa unidade de cuidados intensivos neonatais americana. De forma randomizada, receberam 400 ou 800 UI de vitamina D3 por dia e, após 4 semanas de suplementação, os níveis médios de 25(OH)D3 foram significativamente superiores no grupo de 800 UI (105,3 nmol/L), contrastando com o grupo de 400 UI (84 nmol/L). Prematuros com 400 UI tiveram significativamente maior probabilidade de valores abaixo do percentil 10 na densitometria óssea (56% versus 16%). Os investigadores concluíram que uma dose diária de 800 UI tem maior eficácia nos prematuros, com benefícios acrescidos na densidade mineral óssea e no crescimento. Perante o não registo de hipervitaminose D nestas dosagens, resta testar se doses mais elevadas, como por exemplo de 1000 UI/dia, são bem toleradas. (37)

Complementando estes achados, um estudo observacional prospetivo, realizado na Austrália, constatou que um protocolo nutricional com uma ingesta média de 643.6 UI/dia, resultou num decréscimo significativo da proporção de recém-nascidos prematuros considerados com deficiência desta nas 36 semanas de idade pós-menstrual ou na alta hospitalar. Neste estudo, de forma similar ao anterior, foram inexistentes eventos adversos relacionados com a toma de vitamina D, sendo uma aparente administração segura. (7)

A teoria “origem fetal de doenças do adulto”, sugere que a exposição fetal, numa fase precoce do desenvolvimento, a um desfavorável ambiente materno predispõe a um aumento do risco de doenças na idade adulta. Neste contexto, a deficiência de vitamina D num período crítico pode originar uma adaptação metabólica e/ou estrutural permanente durante a programação fetal *in útero*, o que para além dos efeitos esqueléticos, parece aumentar o risco de doenças inflamatórias respiratórias, incluindo a asma. Níveis de vitamina D insuficientes no período pré-natal foram ainda associados a perturbações do neurodesenvolvimento, com deterioração no desenvolvimento cognitivo e na linguagem. Por oposição, o desenvolvimento motor pareceu ser independente do estado materno da vitamina. Um dos fatores que explica estas ações multissistémicas da vitamina D é a presença de VDRs em diferentes células e tecidos, quer nas vias aéreas respiratórias, quer no tecido cerebral fetal. (9,15)

Estes resultados comprovam que a manutenção de níveis adequados de vitamina D são fundamentais no feto, nos primeiros anos de vida e na infância, em especial no recém-nascido prematuro que se encontra em risco de hipovitaminose D, de forma a não contribuir para complicações e doenças crónicas futuras. (9,22,37)

#### 4. Perspetivas futuras

Os cuidados pré-natais têm sofrido um desenvolvimento considerável nos últimos anos, abrangendo a promoção da saúde, o rastreio, o diagnóstico e a prevenção das doenças. Uma abordagem holística deve ser tida em conta na prática clínica, de forma que as mulheres sejam aconselhadas sobre os riscos e benefícios da exposição solar e de um aporte alimentar adequado. Portugal faz parte dos países mediterrâneos com uma boa exposição à luz solar, devendo sempre ter em ponderação as horas e o tempo cumulativo de exposição. (2)

A suplementação de vitamina D3 durante a gravidez tem estado muito em voga e tem sido proposta como uma intervenção para prevenir desfechos adversos maternos e neonatais. Neste sentido, foi realizada uma revisão sistemática da *Cochrane*, atualizada em 2019, que teve como finalidade testar se a suplementação oral de vitamina D3 em mulheres grávidas, isolada ou em combinação com cálcio e outros micronutrientes, tem os seus benefícios, como por exemplo, no PPT. Comparativamente com a não intervenção ou o placebo, a suplementação de vitamina D3 isolada na gravidez não notou uma redução do risco de PPT (RR 0.66, 95% CI 0.34-1.30, evidência baixa). Não obstante, houve um aumento do risco de PPT em 52% (RR 1.52, 95% CI 1.01-2.28, evidência baixa), quando combinada com o cálcio. Através destes resultados, confirma-se que a ingestão de suplementos de vitamina D3 (em dose única ou contínua) aumenta os níveis séricos de 25(OH)D na gestante, sem reduzir o risco de PPT. Adicionalmente, avaliaram outros desfechos adversos, tais como o BPN, pré-eclâmpsia e diabetes gestacional, que demonstraram ser estatisticamente significativos, constatando-se redução do seu risco com suplementação isolada de vitamina D3. No entanto, a maior parte dos ensaios clínicos aleatorizados ou quase-aleatorizados, incluídos em *Palacios et al.* apresenta uma qualidade metodológica fraca. (38)

Baseado na evidência disponível até ao momento, ainda é incerto afirmar que a suplementação de vitamina D3 isoladamente, por rotina pré-natal a todas as mulheres grávidas, melhore os resultados já obtidos nos cuidados de saúde materna e infantil. Os estudos realizados sobre este tópico são escassos, pelo que devem ser contestados os seus achados. Além do mais, desconhece-se a segurança da sua administração na gravidez, não existindo qualquer informação acerca dos seus efeitos adversos e eventuais riscos, a curto ou longo prazo. (38)

Assim sendo, as pesquisas iminentes devem focar-se na elaboração de um maior número de ensaios clínicos randomizados, rigorosos e de elevada qualidade, sobretudo em relação ao perfil de segurança durante a gravidez. Importa ainda salientar outras questões, das quais se destacam: altura ideal para começar a suplementação, posologia recomendada

(dose diária, intermitente ou única), dose mais eficaz para atingir os níveis maternos adequados, aprofundamento dos benefícios ou malefícios adicionais quando combinada com outras vitaminas e minerais, reservas pré-concepcionais de vitamina D e potenciais mecanismos de ação que estão por de trás dos efeitos encontrados. (38)

Com o avanço da medicina personalizada e dirigida, certas características individuais específicas influenciam a resposta à suplementação, inclusive fatores genéticos, que terão um papel adjuvante em novas condutas e terapêuticas. Recentemente, dois polimorfismos no gene do VDR (FokI e Cdx-2) foram associados a maior suscetibilidade a PPT espontâneo, sendo este recetor reconhecido pelos investigadores como um potencial biomarcador. Por conseguinte, propõe-se durante as avaliações pré-natais, para além da identificação da história familiar de prematuridade ou antecedente pessoal de PPT prévio, a pesquisa de marcadores bioquímicos de suscetibilidade genética para o PPT. Estas características, ainda não consideradas na prática clínica atual, poderão constituir novas abordagens num futuro próximo. (39)

Para finalizar, a prevenção do PPT tem sido complexa e pouco eficaz devido à sua etiologia multifatorial e incompreendida. Na posteridade, um claro entendimento sobre os mecanismos fisiopatológicos implicados nesta patologia poderá ajudar na melhor orientação diagnóstica e terapêutica. (38,39)

## Conclusão

Existem duas formas de vitamina D no organismo: a vitamina D2 e a D3. Durante a gravidez, a adaptação existente na homeostasia desta pró-hormona é explicada por três mecanismos, mais especificamente pelo aumento de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  materna, pela passagem da  $25(\text{OH})\text{D}_3$  materna através da placenta e pelo aumento da concentração de DBP materna, estando este último intimamente ligada à patogênese de alguns desfechos obstétricos, entre os quais se destaca o PPT.

A prevalência, a nível mundial, da deficiência de vitamina D nas mulheres grávidas tem aumentado claramente, situada entre 20 e 40 %. Nesta população, a monitorização dos níveis de  $25(\text{OH})\text{D}$  não está recomendada por rotina, salvo se pertencerem ao grupo de alto risco, consoante determinantes como a etnia, a exposição inadequada à luz solar, o baixo aporte alimentar e o elevado índice de massa corporal, sendo que os seus valores devem ser interpretados num contexto clínico o mais particular possível. No entanto, os seus limiares ótimos durante a gravidez ainda não se encontram estabelecidos. Quanto à deficiência de vitamina D neonatal corroborou-se uma relação direta com a concentração de  $25(\text{OH})\text{D}$  materna, avaliada na altura do parto.

Dada a hipovitaminose D materna ser tão universal e dada a sua possível associação com desfechos obstétricos adversos, especialmente com o PPT, tornou-se uma área problemática em saúde pública. Esta revisão da literatura permitiu concluir que a deficiência ( $<30 \text{ nmol/L}$ ) de vitamina D no sangue materno e a sua insuficiência ( $<50 \text{ nmol/L}$ ) são fatores de risco modificáveis de PPT, o que respeita as recomendações do IOM, em ser importante atingir níveis acima de  $50 \text{ nmol/L}$ . Conclui-se ainda que níveis de  $25(\text{OH})\text{D}$  de pelo menos  $100 \text{ nmol/L}$  durante a gravidez, têm um efeito protetor, já que reduziram em cerca de 60% o risco de PPT, espontâneo e medicamente indicado, permitindo que a  $25(\text{OH})\text{D}$  se converta em  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ . Solicita-se cautela quanto a estas conclusões pois existe um número limitado de estudos publicados sobre o assunto, e aqueles que estavam disponíveis diferem no desenho do estudo, nas populações das amostras, nas metodologias para a exposição e na avaliação dos resultados.

Um equilíbrio entre o sistema imune inato e adaptativo é necessário para manter uma gravidez, pelo que, em consequência, a inflamação intrauterina constitui a principal causa de PPT, contribuindo para a sua etiologia multifatorial. A revisão feita nesta dissertação permitiu concluir que níveis insuficientes de  $25(\text{OH})\text{D}$  no sangue do cordão umbilical acentuam a inflamação placentária durante o PPT, confirmando neste as propriedades anti-inflamatórias e imunorreguladoras da vitamina D. Desta forma, níveis ótimos de vitamina D na gravidez, ao

regularmente negativamente o NF-kappaB e ao suprimirem a diferenciação de Th1, aparentam proteger contra o PPT. Existe um déficit evidente de investigação neste tópico, pelo que, do meu ponto de vista, será oportuno estudos mais aprofundados sobre o mesmo.

Os recém-nascidos prematuros evidenciam ao nascimento um decréscimo na concentração de 25(OH)D, sendo uma população desfavorável quanto às suas reservas, em comparação com os de termo. Esta revisão permite concluir que o impacto da hipovitaminose D materna não se restringe à prematuridade, tendo repercussões no crescimento fetal, diminuindo o peso e o perímetro cefálico ao nascimento, contudo estes resultados necessitam de confirmação. No que toca ao efeito da deficiência de vitamina D no sangue do cordão umbilical e ao risco de desfechos neonatais adversos, as conclusões não são uniformes, sendo ainda discutível se esta afeta ou não o PPT. No que concerne à suplementação de vitamina D3 nos recém-nascidos prematuros esta é inadequada na maioria dos casos e, apesar de as recomendações atuais não serem consensuais, comprovou-se que uma dose mais elevada na ordem dos 800 UI/dia é mais eficaz e bem tolerada.

Ainda não está claro se, atualmente, a suplementação materna de vitamina D3 possa prevenir o PPT ou fazer parte da rotina de cuidados pré-natais, pela evidência científica ainda limitada sobre os seus benefícios e riscos, mas foi possível provar boa capacidade em melhorar outros desfechos adversos. Torna-se fundamental a realização de novos ensaios clínicos, conduzidos com indispensável rigor metodológico para assegurar esses efeitos e se obter resultados mais robustos. Na minha opinião, outro campo importante para investigar, futuramente, é o perfil de segurança e outros dados farmacocinéticos e farmacodinâmicos da administração de vitamina D na gravidez. À medida que a medicina personalizada progride vão sendo descobertos novos potenciais biomarcadores, como por exemplo polimorfismos no gene do VDR, que poderão coadjuvar numa melhor orientação diagnóstica e terapêutica do PPT.

A presente revisão bibliográfica, embora muito pertinente, defrontou-se com uma clara carência de literatura, principalmente por falta de meta-análises e estudos randomizados e controlados que estudem a real associação entre a deficiência de vitamina D e o PPT. Esta temática tem sido alvo de discussões científicas controversas e díspares, como tal, tornou-se um desafio navegar na literatura em expansão da vitamina D na gravidez. As estratégias adotadas no sentido de prevenir o PPT são claramente escassas, esperando-se que na posteridade as evidências mencionadas neste artigo do papel da vitamina D possam auxiliar na redução da incidência de PPT e, conseqüentemente, da sua mortalidade e, como tal, melhorar a saúde das gestantes e dos seus, respetivos, descendentes.

## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Ana Luísa Areia, pela disponibilidade e contribuição fulcral na orientação desta dissertação. A abordagem simples, com rigor científico, demonstrada na área de obstetrícia e fisiopatologia tornaram-se inspiradores para mim.

À Professora Doutora Anabela Mota Pinto, pelo voto de confiança e pela proposta deste desafio.

Aos meus pais, família e amigos pelo apoio, motivação, amor e paciência ao longo do meu percurso académico.

## Referências Bibliográficas

1. Pilz S, Zittermann A, Trummer C, Theiler-Schwetz V, Lerchbaum E, Keppel MH, et al. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence. *Endocr Connect*. 16 de Janeiro de 2019;8(2):R27–43.
2. Sotunde OF, Laliberte A, Weiler HA. Maternal risk factors and newborn infant vitamin D status: a scoping literature review. *Nutr Res*. 1 de Março de 2019;63:1–20.
3. Davies-Tuck M, Yim C, Knight M, Hodges R, Doery JCG, Wallace E. Vitamin D testing in pregnancy: Does one size fit all? *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2015;55(2):149–55.
4. 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 Int J Obstet Gynaecol*. 2015;122(12):1695–704.
5. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller A-B, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 1 de Outubro de 2018;52:3–12.
6. 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*. Fevereiro de 2017;43(2):247–56.
7. Pinto K, Collins CT, Gibson RA, Andersen CC. Vitamin D in preterm infants: A prospective observational study. *J Paediatr Child Health*. 2015;51(7):679–81.
8. Karras SN, Wagner CL, Castracane VD. Understanding vitamin D metabolism in pregnancy: From physiology to pathophysiology and clinical outcomes. *Metab - Clin Exp*. 1 de Setembro de 2018;86:112–23.
9. Cyprian F, Lefkou E, Varoudi K, Girardi G. Immunomodulatory Effects of Vitamin D in Pregnancy and Beyond. *Front Immunol [Internet]*. 22 de Novembro de 2019 [citado 7 de Março de 2020];10. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6883724/>
10. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D [Internet]*. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editores. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011 [citado 19 de Abril de 2020]. (The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>
11. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. Julho de 2011;96(7):1911–30.
12. Karras SN, Koufakis T, Antonopoulou V, Goulis DG, Annweiler C, Pilz S, et al. Characterizing neonatal vitamin D deficiency in the modern era: A maternal-neonatal birth cohort from Southern Europe. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1 de Abril de 2020;198:105555.

13. ACOG Committee on Obstetric Practice. ACOG Committee Opinion No. 495: Vitamin D: Screening and supplementation during pregnancy. *Obstet Gynecol.* Julho de 2011;118(1):197–8.
14. Koullali B, Oudijk MA, Nijman T a. J, Mol BWJ, Pajkrt E. Risk assessment and management to prevent preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* Abril de 2016;21(2):80–8.
15. Tous M, Villalobos M, Iglesias L, Fernández-Barrés S, Arija V. Vitamin D status during pregnancy and offspring outcomes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Clin Nutr.* Janeiro de 2020;74(1):36–53.
16. Baker AM, Haeri S, Camargo CA, Stuebe AM, Boggess KA. A Nested Case-Control Study of First-Trimester Maternal Vitamin D Status and Risk for Spontaneous Preterm Birth. *Am J Perinatol.* Outubro de 2011;28(9):667–72.
17. Bärebring L, Bullarbo M, Glantz A, Hulthén L, Ellis J, Jagner Å, et al. Trajectory of vitamin D status during pregnancy in relation to neonatal birth size and fetal survival: a prospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth* [Internet]. 13 de Fevereiro de 2018 [citado 29 de Julho de 2020];18. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5812027/>
18. Bodnar LM, Platt RW, Simhan HN. Early-Pregnancy Vitamin D Deficiency and Risk of Preterm Birth Subtypes. *Obstet Gynecol.* Fevereiro de 2015;125(2):439–47.
19. Boyle VT, Thorstensen EB, Mourath D, Jones MB, McCowan LME, Kenny LC, et al. The relationship between 25-hydroxyvitamin D concentration in early pregnancy and pregnancy outcomes in a large, prospective cohort. *Br J Nutr.* Outubro de 2016;116(8):1409–15.
20. 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.* 11 de Maio de 2015;7(5):3427–48.
21. 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.
22. Miliku K, Vinkhuyzen A, Blanken LME, 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.* Junho de 2016;103(6):1514–22.
23. Tabatabaei N, Auger N, Herba CM, Wei S, Allard C, Fink GD, et al. Maternal Vitamin D Insufficiency Early in Pregnancy Is Associated with Increased Risk of Preterm Birth in Ethnic Minority Women in Canada. *J Nutr.* 2017;147(6):1145–51.
24. Thorp JM, Camargo CA, McGee PL, Harper M, Klebanoff MA, Sorokin Y, et al. VITAMIN D STATUS AND RECURRENT PRETERM BIRTH: A nested case-control study in high-risk women. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* Dezembro de 2012;119(13):1617–23.
25. Wetta LA, Biggio JR, Cliver MS, Abramovici A, Barnes S, Tita AT. Is Midtrimester Vitamin D Status Associated with Spontaneous Preterm Birth and Preeclampsia? *Am J Perinatol.* Junho de 2014;31(6):541.

26. Yang L, Pan S, Zhou Y, Wang X, Qin A, Huang Y, et al. The Correlation Between Serum Vitamin D Deficiency and Preterm Birth. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 16 de Novembro de 2016;22:4401–5.
27. Arija V, Fargas F, March G, Abajo S, Basora J, Canals J, et al. Adapting iron dose supplementation in pregnancy for greater effectiveness on mother and child health: protocol of the ECLIPSES randomized clinical trial. *BMC Pregnancy Childbirth*. 18 de Janeiro de 2014;14:33.
28. Fernández-Alonso AM, Dionis-Sánchez EC, Chedraui P, González-Salmerón MD, Pérez-López FR, Spanish Vitamin D and Women's Health Research Group. First-trimester maternal serum 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> status and pregnancy outcome. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. Janeiro de 2012;116(1):6–9.
29. Flood-Nichols SK, Tinnemore D, Huang RR, Napolitano PG, Ippolito DL. Vitamin D deficiency in early pregnancy. *PloS One*. 2015;10(4):e0123763.
30. 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 Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol*. Outubro de 2012;18(5):676–84.
31. Schneuer FJ, Roberts CL, Guilbert C, Simpson JM, Algert CS, Khambalia AZ, et al. Effects of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the first trimester on subsequent pregnancy outcomes in an Australian population. *Am J Clin Nutr*. Fevereiro de 2014;99(2):287–95.
32. Shand AW, Nassar N, Von Dadelszen P, Innis SM, Green TJ. Maternal vitamin D status in pregnancy and adverse pregnancy outcomes in a group at high risk for pre-eclampsia. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. Dezembro de 2010;117(13):1593–8.
33. Wagner CL, Baggerly C, McDonnell S, Baggerly KA, French CB, Baggerly L, et al. Post-hoc analysis of vitamin D status and reduced risk of preterm birth in two vitamin D pregnancy cohorts compared with South Carolina March of Dimes 2009-2011 rates. *J Steroid Biochem Mol Biol*. Janeiro de 2016;155(Pt B):245–51.
34. T Z, Tj L, X G, J K, Lj Z, Q Z. High prevalence of maternal vitamin D deficiency in preterm births in northeast China, Shenyang. *Int J Clin Exp Pathol*. 1 de Fevereiro de 2015;8(2):1459–65.
35. Budhwar S, Verma P, Verma R, Gupta S, Rai S, Rajender S, et al. Altered cord serum 25-hydroxyvitamin D signaling and placental inflammation is associated with pre-term birth. *Am J Reprod Immunol*. 2020;83(2):e13201.
36. 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*. Abril de 2016;293(4):731–8.
37. Anderson-Berry A, Thoene M, Wagner J, Lyden E, Jones G, Kaufmann M, et al. Randomized trial of two doses of vitamin D3 in preterm infants <32 weeks: Dose impact on achieving desired serum 25(OH)D3 in a NICU population. *PLoS ONE [Internet]*. 10 de Outubro de 2017 [citado 3 de Fevereiro de 2020];12(10). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5634602/>

38. Palacios C, Kostiuk LK, Peña-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 26 de 2019;7:CD008873.
39. Javorski N, Lima C a. D, Silva LVC, Crovella S, de Azêvedo Silva J. Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms are associated to spontaneous preterm birth and maternal aspects. *Gene.* 5 de Fevereiro de 2018;642:58–63.