

ARTÍCULO ORIGINAL

Vitamina D y riesgo de preeclampsia: revisión sistemática y metaanálisis

Norma Cecilia Serrano-Díaz¹, Edna Magaly Gamboa-Delgado², Clara Lucía Domínguez-Urrego³,
Andrea Liliana Vesga-Varela⁴, Sergio Eduardo Serrano-Gómez⁵, Doris Cristina Quintero-Lesmes³

¹ Grupo de Investigación Biomédica Traslacional, Fundación Cardiovascular de Colombia, Bucaramanga, Colombia

² Grupo de Investigación en Demografía, Salud Pública y Sistemas de Salud, GUINDESS, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

³ Grupo de Investigación en Estudios Epidemiológicos y de Salud Pública, Fundación Cardiovascular de Colombia, Bucaramanga, Colombia

⁴ Grupo Latinoamericano de Investigaciones Epidemiológicas, Bucaramanga, Colombia

⁵ Grupo de Investigaciones Clínicas, Universidad Autónoma de Bucaramanga, Bucaramanga, Colombia

Introducción. Cada vez son más los hallazgos sobre la relación entre las concentraciones de vitamina D en el ser humano y diversas condiciones clínicas. Hay una gran cantidad de estudios que informan sobre dicha asociación, especialmente con complicaciones obstétricas, incluidas la preeclampsia y la diabetes mellitus de la gestación, entre otras, pero sus resultados todavía no son definitivos, por lo que se requieren estudios de intervención de calidad que confirmen la relación de la vitamina D con dichos resultados.

Objetivo. Revisar la información plasmada en estudios en torno al papel de la vitamina D materna y el desarrollo de la preeclampsia.

Materiales y métodos. La metodología usada siguió las recomendaciones de la guía Cochrane para la elaboración de revisiones sistemáticas y de la guía del grupo *Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology* (MOOSE) para los metaanálisis. La búsqueda incluyó estudios observacionales y ensayos clínicos controlados.

Resultados. Los niveles bajos de vitamina D, medida con el examen de 25-hidroxivitamina D, son comunes en el embarazo. Los resultados de esta revisión sistemática y del metaanálisis sugieren una asociación inversa entre los niveles de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia. Hubo heterogeneidad en los estudios en cuanto a su diseño, población y ubicación geográfica, así como a las definiciones de exposición y resultado. Los ensayos clínicos controlados aleatorizados se excluyeron del metaanálisis.

Conclusión. Se encontró una asociación inversa que sugiere que, a mayores concentraciones de vitamina D, menor es la probabilidad de desarrollar preeclampsia, a pesar de la heterogeneidad de la medida global en este tipo de análisis.

Palabras clave: vitamina D; preeclampsia; colecalciferol; calcitriol; calcifediol; embarazo; revisión; metaanálisis.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3683>

Vitamin D and risk of preeclampsia: A systematic review and meta-analysis

Introduction: Human vitamin D levels have been increasingly related to a wide range of clinical outcomes. There is a large amount of reports on its associations, especially with obstetric complications, including preeclampsia and gestational diabetes. These results are scarcely consistent and there is still a lack of quality intervention studies to confirm the role of vitamin D in those outcomes.

Objective: To review the available scientific evidence on the role of maternal vitamin D in the development of preeclampsia.

Materials and methods: The methodology used followed the recommendations of the Cochrane guide for the preparation of systematic reviews, and for metaanalysis, the Guide of the Metaanalysis of Observational Studies in Epidemiology group (MOOSE). The search included both observational studies and controlled clinical trials.

Contribución de los autores:

Norma Cecilia Serrano-Díaz y Edna Magaly Gamboa-Delgado: concepción y diseño del trabajo, análisis e interpretación de los datos y escritura del manuscrito

Clara Lucía Domínguez: recolección de los datos, elaboración de la base de datos de la revisión sistemática y escritura del manuscrito
Andrea Liliana Vesga-Varela: recolección y organización de datos, elaboración de la base de datos de la revisión sistemática y escritura del manuscrito

Sergio Serrano: elaboración de la base de datos y análisis de los datos del metaanálisis

Doris Cristina Quintero-Lesmes: análisis e interpretación de los datos del metaanálisis y escritura del manuscrito

Results: Low vitamin D levels, measured by the 25-hydroxyvitamin D test, are common in pregnancy. The results of this systematic review and metaanalysis suggest an inverse ratio between vitamin D levels and the development of preeclampsia. There was heterogeneity among the studies with regard to the design, population, geographic location, definitions of exposure, and the outcome. We excluded randomized controlled trials from this meta-analysis.

Conclusion: The inverse association we found suggests that the higher the levels of vitamin D the lesser the probability of developing preeclampsia, in spite of the heterogeneity of the global measurement in this type of analysis.

Key words: Vitamin D; pre-eclampsia; cholecalciferol; calcitriol; calcifediol; pregnancy; review; metaanalysis.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3683>

La deficiencia en los niveles de vitamina D es una condición muy prevalente en las mujeres durante el embarazo, con tasas que varían de acuerdo con la etnia y la exposición a la luz solar (1). En estudios recientes se ha demostrado la relación existente entre las bajas concentraciones de la 25-hidroxivitamina D [(25(OH)D)] durante el embarazo y el aumento del riesgo de desarrollar diabetes gestacional, preeclampsia, infecciones, retraso del crecimiento intrauterino o necesidad de recurrir a cesárea con restricción del crecimiento fetal, lo cual es de importancia evidente para la salud pública (2).

La preeclampsia es una complicación mayor del embarazo caracterizada por la aparición de hipertensión arterial sistémica y proteinuria (1), que afecta entre el 3 y el 10 % de las mujeres gestantes a nivel mundial (3), es responsable del 18 % de la mortalidad materna en los Estados Unidos, y del 20 al 80 % en los países en desarrollo (4,5). Las mujeres embarazadas con preeclampsia tienen un riesgo mayor de sufrir desprendimiento prematuro de la placenta, falla renal o hepática, y complicaciones neurológicas y cardiovasculares (6).

A pesar de los avances de la medicina en la comprensión de la preeclampsia, esta continúa siendo un reto de importancia clínica, cuya etiología no se ha esclarecido, y cuyo tratamiento se ve limitado por la terminación del embarazo (6). Se considera que la invasión anormal de trofoblastos, la respuesta inflamatoria, el estrés oxidativo y la disfunción endotelial son factores que pueden contribuir a la aparición de esta condición (1).

Correspondencia:

Doris Cristina Quintero-Lesmes, Grupo de Investigación en Estudios Epidemiológicos y de Salud Pública, Fundación Cardiovascular de Colombia, Calle 155AN° 23-58, Urbanización El Bosque, Oficina de Diseño y Desarrollo, Floridablanca, Colombia
Teléfono: (577) 639 9292, extensión 344
dorisquintero@fcv.org; dorisquql@gmail.com

Recibido: 12/12/16; aceptado: 23/05/17

Hay un creciente interés por indagar el papel de la vitamina D y sus efectos en la función placentaria y la respuesta inflamatoria (1). En diversos estudios se ha señalado que la deficiencia de la vitamina D constituye un factor de riesgo de la preeclampsia e, incluso, se ha sugerido que dicha deficiencia podría ser un factor de riesgo independiente para su desarrollo (1,6,7-13).

En un estudio de casos y controles, se reportó una asociación entre la deficiencia de vitamina D y la preeclampsia, con un incremento de cinco veces en la probabilidad de desarrollarla entre las mujeres con deficiencia de la vitamina (14). La hipótesis que propone esta relación es biológicamente probable. Durante el embarazo, los niveles bajos de 25-hidroxivitamina D pueden predisponer a una respuesta inflamatoria, aumentar el estrés oxidativo y provocar disfunción endotelial (2). En la preeclampsia, el daño celular del endotelio parece ser una reacción fisiopatológica básica del sistema vascular materno (9). Asimismo, se ha encontrado un aumento de los niveles de las citocinas proinflamatorias en mujeres con bajas concentraciones de 25(OH)D y preeclampsia (1).

Sin embargo, los hallazgos de la asociación entre los niveles de vitamina D en el embarazo y el riesgo de desarrollar preeclampsia aún son contradictorios. Los resultados reportados en un meta-análisis de Tabesh, *et al.* (10), demuestran una relación significativa entre la deficiencia de vitamina D y un aumento del riesgo de preeclampsia, por lo que los autores señalan la necesidad de hacer investigaciones en los países en desarrollo. Por su parte, en un reciente estudio de cohorte, Bodnar, *et al.*, señalan que la deficiencia materna de vitamina D es un posible factor de riesgo de preeclampsia, aunque la asociación que hallaron no resultó significativa (11). En otro estudio de cohorte, Shand, *et al.*, determinaron que la deficiencia de vitamina D era un factor común en el grupo de mujeres con alto riesgo de preeclampsia,

pero no pudieron establecer la asociación entre una y otra (12). Por último, Burris, *et al.*, hicieron un estudio anidado en una cohorte, y no hallaron asociación entre las concentraciones séricas de (25(OH)D y la preeclampsia (13).

En este contexto, las investigaciones tendientes a evaluar si existe una asociación entre la deficiencia de vitamina D y la preeclampsia cobran especial relevancia, sobre todo teniendo en cuenta que la fortificación de alimentos y el suplemento de vitamina D constituyen estrategias preventivas relativamente fáciles de implementar y de bajo costo de gran importancia en el ámbito de la salud pública, ya que hay pocas intervenciones para contrarrestar la preeclampsia, por lo que la terminación temprana del embarazo continúa siendo la única estrategia eficaz disponible. Esto ha llevado a que la inducción del parto prematuro por esta causa se haya incrementado significativamente en las últimas cuatro décadas, ubicándola como una de las principales causas de parto prematuro y de bebés con bajo peso al nacer y, por ende, responsable de una de gran morbilidad y mortalidad maternas y perinatales (4,5).

Persiste el hecho, sin embargo, de que la relación entre la vitamina D y la preeclampsia no se haya demostrado, posiblemente por la presencia de un sesgo de confusión o de causalidad inversa en los estudios observacionales que se han adelantado hasta la fecha.

En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo hacer una revisión sistemática y un metaanálisis para evaluar la asociación entre los niveles séricos de vitamina D y el desarrollo de la preeclampsia.

Materiales y métodos

Los artículos se buscaron en las bases de datos de Medline, PubMed y Embase, así como en las bases de datos de revisiones sistemáticas y ensayos clínicos de Cochrane y Google académico, hasta mayo de 2015. La metodología usada siguió las recomendaciones de la guía Cochrane para la elaboración de revisiones sistemáticas y de la guía MOOSE para los metaanálisis (15-18). La búsqueda incluyó tanto estudios observacionales como ensayos clínicos controlados. Además, se revisaron las referencias citadas en diferentes artículos.

Búsqueda y fuentes de información

La búsqueda electrónica de bibliografía se centró en estudios sobre los niveles de vitamina D y la incidencia de preeclampsia durante el embarazo.

Para los artículos en inglés, se utilizaron las palabras clave seleccionadas en los *Medical Subject Headings* (MeSH) y, para aquellas en español, se utilizaron los mismos términos MeSH registrados en los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS). Los términos establecidos mediante operadores booleanos en los MeSH para la exposición de interés fueron: “Ergocalciferols” OR “Cholecalciferol” OR “Calcitriol” AND “Vitamin D” OR “25-hydroxyvitamin D”, y para las variables de resultado fueron: “Pregnancy” OR “Pre-eclampsia” AND “pregnancy outcome” OR “Pregnancy complications” (cuadros 1 y 2).

Criterios de selección

Los artículos se seleccionaron según los siguientes criterios de inclusión: (a) reporte de datos originales que incluyeran las variables de interés; (b) medición en sangre de los niveles de vitamina D, y (c) estudios observacionales o ensayos clínicos. Se excluyeron los reportes de caso, comentarios, cartas, revisiones sistemáticas, síntesis, editoriales y metaanálisis. No se aplicaron restricciones en cuanto al idioma ni el tiempo de publicación.

Los artículos se seleccionaron en dos etapas. Primero, dos revisores examinaron de forma independiente los títulos y los resúmenes de los artículos seleccionados en la búsqueda para su revisión posterior. Para determinar cuáles artículos serían utilizados, los dos revisores verificaron si cumplían con los criterios de inclusión o exclusión. En los casos de ‘duplicado’ en las publicaciones, se seleccionó la versión más completa. Los desacuerdos entre los revisores se sometieron a la evaluación de un tercer revisor. Esta primera parte del proceso dio como resultado 49 artículos para la revisión sistemática.

Cuadro 1. Términos MeSH utilizados en las bases de datos en inglés

(“Ergocalciferols”[Mesh] OR “Cholecalciferol”[Mesh] OR “Calcitriol”[Mesh] OR “Calcifediol”[Mesh] OR “Vitamin D”[Mesh] OR “25-hydroxyvitamin D”[Supplementary Concept]) ANExcluidos basados en el título y/o resumen (n=1242)
 “Pregnancy Outcome”[Mesh] OR “Pregnancy Complications”[Mesh]

Cuadro 2. Términos DeCS utilizados en las bases de datos en español

(“vitamina D” OR “Colecalciferol” OR “Calcitriol” OR “Calcifediol” OR “25-Hidroxivitamina D 2”) AND (“Preeclampsia”) AND (“Complicaciones del Embarazo” OR “embarazo” OR “resultado del embarazo”)

En un segundo momento, se seleccionaron los artículos que se incluirían en el metaanálisis (13 artículos) como resultado de la evaluación de la calidad metodológica de cada uno y del reporte de datos relevantes para el metaanálisis. Los indicadores clave para evaluar la calidad de un estudio fueron su diseño, la selección de los participantes, la definición de preeclampsia y la descripción de posibles factores de confusión.

Extracción y tabulación de los datos

Se diseñó un formato para recopilar los siguientes datos de los 49 artículos seleccionados: apellido del primer autor, año de la publicación, país, diseño del estudio, edad de gestación en el momento de la toma de la muestra sanguínea, método de cuantificación de la vitamina D, puntos de corte de la vitamina D, efecto ajustado, suplemento y dosis de vitamina D y posibles factores de confusión.

Se incluyó la medición inicial de los niveles de vitamina D para el análisis de aquellos estudios que reportaron múltiples mediciones durante el seguimiento. Además, se intentó contactar a los autores de aquellos estudios con datos incompletos o poco claros, con el fin de completar la información necesaria.

Análisis estadístico

En los artículos, las asociaciones entre las concentraciones séricas de vitamina D y el riesgo de preeclampsia se reportaron de diferentes formas: proporciones, razones de probabilidades (*odds ratios*) con intervalos de confianza (IC) del 95 %, medias (desviaciones estándar) y medianas (rangos intercuartílicos). Los estudios variaron según la definición de los puntos de corte de los niveles de vitamina D y el metabolito usado. Para garantizar la inclusión de la mayoría de los estudios disponibles, no se definieron *a priori* los puntos de corte para los niveles de vitamina D y, en su lugar, se utilizaron aquellos propuestos en los estudios.

Las medidas de asociación usadas fueron las de mayor ajuste según el reporte, dado que el control por potenciales factores de confusión se hizo en diferentes formas y grados en los estudios.

Se utilizó el comando “metan” en Stata™ en el análisis de los estudios y los gráficos de efectos (*forest plots*) para evaluar visualmente la agrupación de las estimaciones y los correspondientes intervalos de confianza de 95 %. Para la evaluación de la heterogeneidad, se utilizó la prueba Q de Cochran y el parámetro estadístico I^2 . Se usaron modelos de efectos aleatorios y fijos.

Además, se hizo un análisis de sensibilidad para explorar el grado en que las inferencias dependían del diseño particular. Por último, se determinó el sesgo de publicación mediante el test de Egger y se hizo la evaluación visual de los gráficos de embudo mediante el test de Harbord. Todos los análisis se hicieron con el programa Stata™ 14.0.

Resultados

Hallazgos de la revisión sistemática

En la revisión bibliográfica se encontraron 1.366 artículos que cumplían con los términos MeSH y DeCS relativos a la exposición y a la variable de resultado de interés (figura 1). Después de la selección inicial por títulos y resúmenes, quedaron 124 artículos para la revisión de su texto completo. Además, se incluyeron nueve artículos que aparecían como referencia bibliográfica en otros artículos.

Después de la revisión del texto completo, se excluyeron 84 artículos, con lo cual quedaron 49 artículos para evaluar la asociación entre la deficiencia de vitamina D y la preeclampsia, e incluirlos en la revisión sistemática. Por último, se excluyeron 37 artículos por no presentar los datos completos necesarios para el análisis, con lo cual quedaron 13 artículos incluidos en el metaanálisis.

Características de los estudios

En el cuadro 3 se presentan las características de los 49 artículos en los que se evaluaba la asociación entre los niveles séricos de vitamina D y la preeclampsia (2,6-9, 11-14,19-58). En la revisión sistemática se recopilaron estudios publicados entre 1937 y 2015; el número de participantes por estudio fluctuó entre 16 y 5.109.

La preeclampsia se definió como la presencia de hipertensión arterial sistémica después de la semana 20 de gestación (presión sistólica mayor de 140 mm Hg o presión diastólica mayor de 90 mm Hg) y proteinuria ($\geq 0,3$ g o ≥ 2 cruces). En la mayoría de estudios no se reportó el trimestre en el cual se cuantificó la vitamina D en sangre.

Tipos de diseño de los estudios

En la revisión sistemática, 13 de los estudios eran de casos y controles, 10 de cohorte, 5 eran ensayos clínicos controlados y 21 tenían otro diseño (cuadro 3).

Ajuste por factores de confusión

El número y el tipo de factores de confusión que se sometieron a control variaron entre los estudios. Sin embargo, en la mayoría (30 artículos) de ellos,

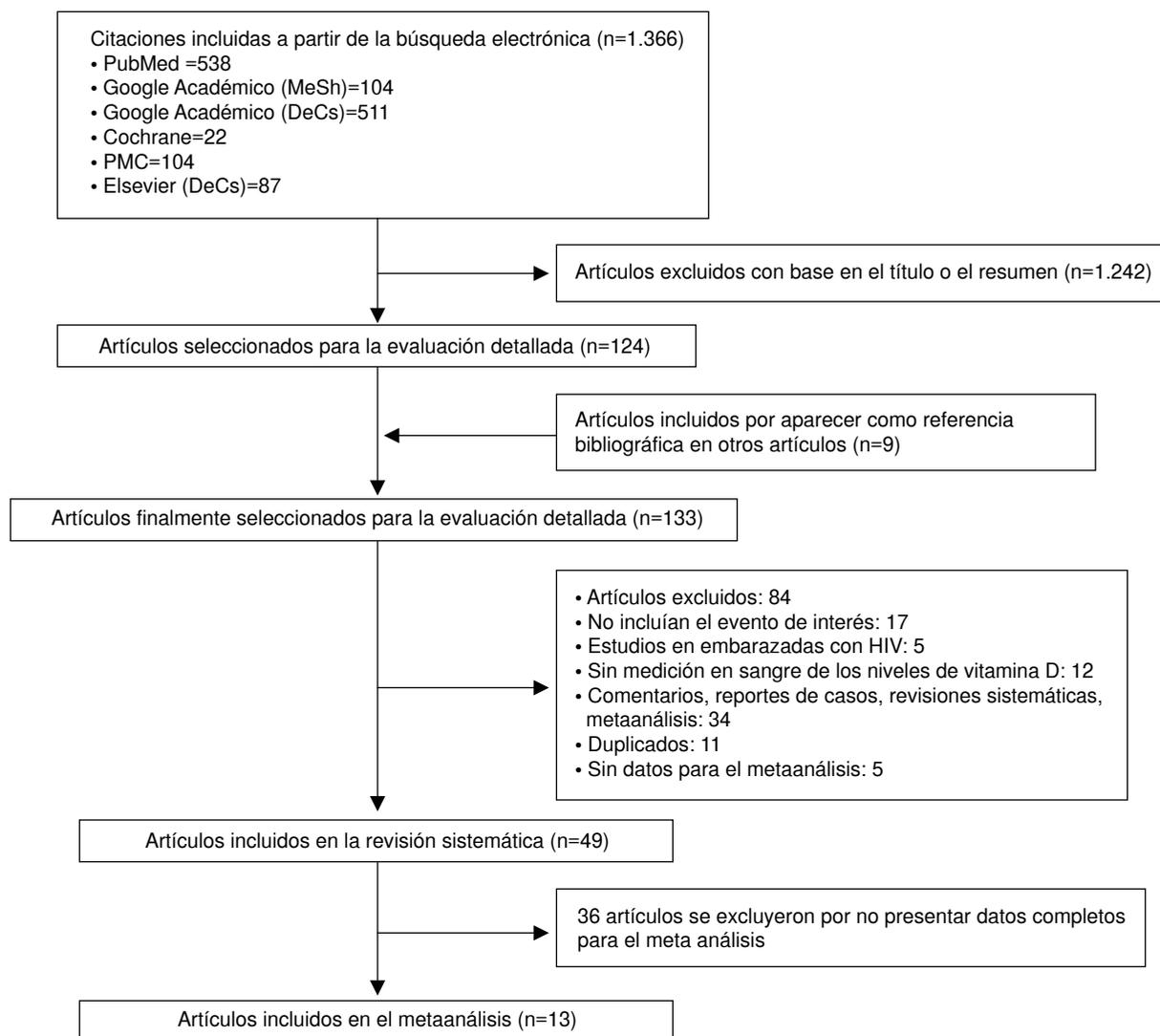


Figura 1. Flujo del proceso de selección de los estudios mediante la revisión sistemática

el control fue la edad materna. Además, en cinco estudios se ajustó con base en la edad de gestación en el momento de la medición en sangre, en el uso de suplementos de vitamina D, la actividad física, y la ingestión de calcio. Para evitar el posible efecto de confusión de algunas variables, se excluyeron las mujeres con enfermedades preexistentes como diabetes mellitus y enfermedad renal, así como aquellas con historia de preeclampsia.

Evaluación de los niveles de vitamina D

En 30 de los estudios se cuantificaron los niveles séricos de la prohormona calcifediol (25(OH) D) para determinar los de vitamina D, en tanto que en ocho estudios se midieron los niveles del metabolito activo calcitriol (1,25(OH)2D), en dos, se cuantificaron los dos metabolitos y, en nueve, no

se informó sobre el metabolito analizado. En 27 de los estudios se utilizó el inmunoensayo (radioinmunoensayo o inmunoensayo enzimático) como método para cuantificar la vitamina D, en tanto que solo en ocho estudios se utilizaron métodos cromatográficos de detección directa (HPLC o LC-MS/MS), y en 14 no se reportó el método utilizado para cuantificar la vitamina D.

Evaluación de la preeclampsia

En la mayoría (34) de los estudios, la preeclampsia se definió con base en una presión arterial $\geq 140/90$ mm Hg después de la semana 20 de gestación, acompañada de una proteinuria $\geq 0,3$ g en orina recolectada durante 24 horas, o un resultado de dos o más trazas en la tira reactiva de orina (59).

Cuadro 3. Artículos incluidos en la revisión sistemática

Ref.	Primer autor	Año	País	Ciudad	Diseño del estudio	Tamaño muestral	Preeclampsia	Otra enfermedad	Metabolito analizado	Método de análisis
2	Davies-Tuck	2015	Australia	Clayton	Transversal	1.550	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
6	Bomba-Opon	2014	Polonia	Varsovia	Caso-cohorte	280	151	129	25(OH)D	Inmunoensayo
7	Abedi	2014	Irán	Ahvaz	Caso-control	118	59	59	25(OH)D	Inmunoensayo
8	Asemi	2012	Irán	Kashan	Ensayo clínico controlado	49	24	25	*	*
9	August	1992	*	*	*	*	11	21	1,25(OH)2D	*
11	Bodnar	2014	Estados Unidos	Varias ciudades	Caso-cohorte	3.703	717	2.986	25(OH)D	Detección directa
12	Shand	2010	Canadá	Vancouver	*	*	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
13	Burris	2014	Estados Unidos	Massachusetts	Cohorte	1.591	1.591		25(OH)D	Inmunoensayo
14	Baker	2010	*	*	Caso-control (anidado)	241	43	198	25(OH)D	Detección directa
19	Bodnar	2007	Estados Unidos	Pittsburgh	Caso-control	274	55	219	25(OH)D	Inmunoensayo
20	Xu	2014	Estados Unidos	Pittsburgh	Cohorte	200	100	100	25(OH)D	Inmunoensayo
21	Fernández-Alonso	2012	España	Almería	Transversal	466	148	318	25(OH)D	Inmunoensayo
22	Frolich	1992	Dinamarca	Copenhague	Caso-control	*	*	*	1,25(OH)2D	Detección directa
23	Halhali	2007	México	Tlalpan	Transversal	52	26	26	1,25(OH)2D	Inmunoensayo
24	Halhali	2014	México	Tlalpan	Transversal	16	8	8	1,25(OH)2D	Inmunoensayo
25	Halhali	2000	México	Tlalpan	Transversal	48	24	24	1,25(OH)2D	Inmunoensayo
26	Halhali	2004	México	Tlalpan	*	50	10	40	1,25(OH)2D	Inmunoensayo
27	Haugen	2009	Noruega	Oslo	Cohorte	1.798	134	1.664	*	*
28	Hollis	2013	Estados Unidos	Charleston	Ensayo clínico controlado	*	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
29	Hollis	2011	Estados Unidos	Charleston	Ensayo clínico controlado	*	*	*	25(OH)D	*
30	Hossain	2014	Pakistán	Karachi	Ensayo clínico controlado	193	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
31	Hyponen	2007	Finlandia	*	Cohorte	2.969	68	*	*	*
32	Cruikshank	1992	Estados Unidos	Virginia	Caso-control	22	15	7	25(OH)D y 1,25(OH)2D	Detección directa
33	Ito	1994	*	*	*	666	113	553	*	*
34	Kolusari	2015	Turquía	Van	*	*	*	*	*	*
35	Halhali	1995	México	Tlalpan	Transversal	52	26	26	1,25(OH)2D	*
36	Lalau	1993	*	*	*	*	*	*	*	*
37	Marya	1987	India	Rohtak	*	*	*	*	1,25(OH)2D	*
38	Powe	2010	Estados Unidos	Massachusetts	Caso-control (anidado)	170	39	131	25(OH)D	Detección directa
39	Robinson	2010	Estados Unidos	Charleston	Caso-control	150	50	100	25(OH)D	Inmunoensayo
40	Robinson	2011	Estados Unidos	Charleston	*	*	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
41	Robinson	2013	Estados Unidos	Charleston	Caso-control	80	40	40	25(OH)D	Inmunoensayo
42	Scholl	2013	Estados Unidos	Jersey City	Cohorte	1.141	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
43	Seely	1992	Estados Unidos	Massachusetts	*	*	12	*	25(OH)D	Inmunoensayo
44	Schneuer	2013	Australia	Sidney	Caso-control (anidado)	5.109	*	*	25(OH)D	*
45	The People's League of Health	1935	*	*	*	*	*	*	25(OH)D y 1,25(OH)2D	Inmunoensayo
46	Theobald	1937	Inglaterra	Londres	*	100	50	50	*	*
47	Ullah	2013	Estados Unidos	Mississippi	Caso-control	188	112	76	25(OH)D	Inmunoensayo
48	Wagner	2013	*	*	Ensayo clínico controlado	22	15	7	25(OH)D	Inmunoensayo
49	Wei	2012	Canadá	Montreal	Cohorte	697	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
50	Wei	2013	Canadá	Montreal	Cohorte	697	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
51	Wetta	2014	Reino Unido	Birmingham	Caso-control (anidado)	266	89	177	25(OH)D	Detección directa
52	Woodham	2011	Estados Unidos	Capel Hill	Caso-control (anidado)	164	41	123	25(OH)D	Detección directa
53	Yu	2013	Reino Unido	Londres	Caso-control	*	90	*	*	*
54	Zhou	2014	China	Guangzhou	Cohorte	1.953	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
55	Singla	2012	India	Rohtak	Caso-control	*	*	*	*	*
56	Rabelo	2014	Brasil	Recife	Transversal	*	*	*	25(OH)D	Inmunoensayo
57	Bener	2013	Catar	Doha	Cohorte	1.873	129	1.744	25(OH)D	Inmunoensayo
58	Azar	2011	*	*	Cohorte	175	151	24	25(OH)D	Detección directa

*Sin información

Hallazgos del metaanálisis

De los 49 artículos encontrados en la revisión sistemática, 36 se excluyeron porque no contenían datos completos para el metaanálisis o por tener diseños de ensayo clínico controlado, por lo que, finalmente, se incluyeron 13 artículos (11,13,14,19-21,27,31,38,47,50,51,57). Las variables de resultado medidas en estos artículos originales fueron los puntos de corte usados para establecer la deficiencia o la normalidad de los niveles de vitamina D sérica. Solo en uno de los estudios analizados, se reportó el uso de suplemento y su dosis; en cuatro estudios, el método utilizado fue la detección directa; en siete, el inmunoensayo, y en dos no se reportó. El metabolito analizado fue la 25(OH)D en 11 estudios.

En la figura 2 se presenta la gráfica de los efectos de la relación entre la vitamina D materna y el riesgo de preeclampsia según el tipo de estudio observacional; en ella, se evaluó la agrupación de las estimaciones y los correspondientes intervalos de confianza. El índice I^2 para efectos aleatorios evidenció una gran heterogeneidad de los artículos incluidos en el metaanálisis ($I^2=86,2\%$; $p=0,000$). Sin embargo, en el análisis por subgrupos y según el tipo de diseño, la heterogeneidad disminuyó a 35 % en los estudios de casos y controles anidados ($p=0,215$). Para los estudios de casos y controles, el I^2 fue de 63 % ($p=0,100$), en tanto que para los estudios de cohorte fue de 93,1 % ($p=0,000$).

Los resultados de la revisión sistemática y el metaanálisis sugieren una asociación inversa entre los niveles de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia, a pesar de la heterogeneidad de la medida global en este tipo de análisis.

El test de Egger y la evaluación visual de los gráficos de embudo mediante el test de Harbord, permitieron corroborar un sesgo de publicación, por cuanto la distribución de los puntos que representan los artículos analizados en el meta-análisis se concentraron en la parte izquierda de la gráfica.

Discusión

El metaanálisis evidenció una relación inversa entre los niveles de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia. A pesar de que esta asociación inversa es biológicamente posible, la inferencia causal de estos hallazgos se ve limitada por la naturaleza observacional de los estudios analizados.

Los resultados del presente estudio concuerdan con otros que han hallado la misma tendencia en

la asociación entre los niveles de vitamina D y la preeclampsia (14,19,27,31,39,47,49,50).

En la revisión sistemática, la gran mayoría de estudios seleccionados se llevó a cabo en países de Norteamérica y Europa. Solo se encontró un estudio en Latinoamérica, lo cual evidencia la necesidad de evaluar los niveles de vitamina D en mujeres gestantes de otras regiones y de Latinoamérica y del Caribe, donde la incidencia de preeclampsia llega a ser siete veces mayor comparada con la de países de mayor ingreso en Norteamérica y Europa (60).

En cuanto a la coherencia de los hallazgos, cabe resaltar la importancia de los métodos empleados para la cuantificación de la vitamina D. La revisión también evidenció que el metabolito más frecuentemente cuantificado para determinar el estado de la vitamina D fue la 25-hidroxivitamina D, que, aunque es un metabolito inactivo y en la mayoría de los casos se reporta como la suma de 25(OH)D2 y 25(OH)D3, sigue considerándose como el mejor biomarcador para evaluar el estado de la vitamina D en la sangre (61).

Este metabolito tiene varias ventajas como indicador bioquímico, debido a que:

- refleja tanto la producción endógena de vitamina D como la proveniente de la dieta;
- es un metabolito inactivo, por lo tanto, no está muy regulado;
- la concentración de 25(OH)D es relativamente alta en comparación con otros metabolitos, por ejemplo, es 1.000 veces más alta que la de 1,25(OH)2D3 (principal metabolito activo), y
- tiene una vida media relativamente larga, de cerca de tres semanas (62).

El método utilizado para cuantificar los niveles de 25(OH)D puede ser un factor importante a la hora de evaluar el riesgo de deficiencia de vitamina D. La cuantificación de 25(OH)D mediante inmunoensayo sigue siendo el método de elección por razones de conveniencia, velocidad y costo. Sin embargo, estos ensayos, si bien son sencillos y de alto rendimiento, han sacrificado el rigor analítico de la cuantificación, pues solo proporcionan datos sobre el estado relativo de la vitamina D en términos semicuantitativos (63).

En esta revisión sistemática, 27 de 49 estudios utilizaron como método de cuantificación el inmunoensayo. También, se registró el uso de ensayos

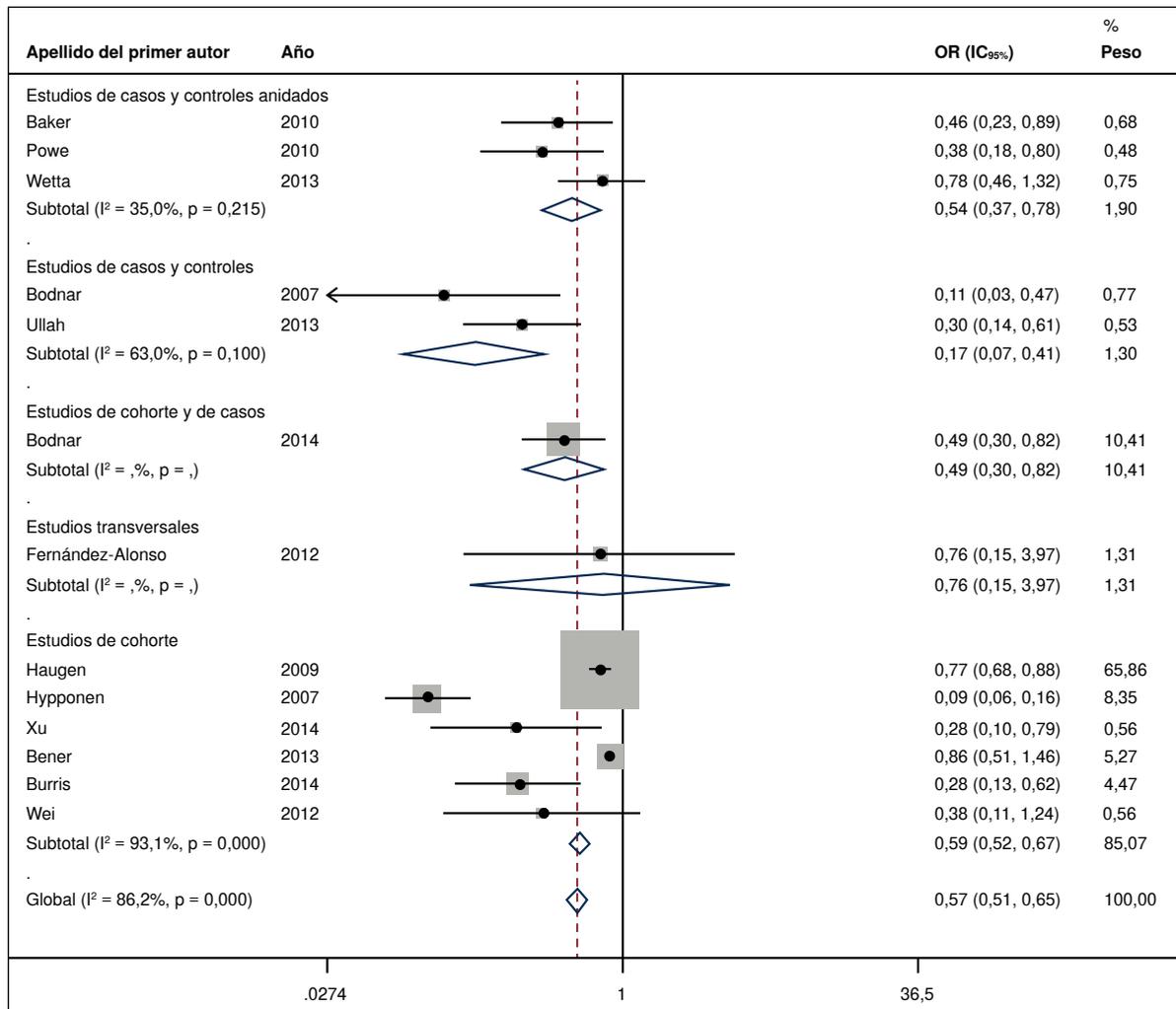


Figura 2. Gráfica de efectos de la relación entre la vitamina D materna y el riesgo de preeclampsia según el tipo de estudio observacional

de detección directa mediante cromatografía líquida de alta eficacia (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) o de cromatografía líquida con espectrómetro de masas en tándem (*Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry*, LC-MS/MS), los cuales emplean una separación cromatográfica (HPLC o LC) para aislar el 25(OH)D2 y el 25(OH)D3, y un sistema para detectar y cuantificar estos compuestos específicos de manera individual (MS/MS).

En el presente estudio se encontró que ocho de 49 estudios utilizaron el método de detección directa, lo cual es particularmente relevante si se tiene en cuenta que existen diferencias en la actividad biológica y la toxicidad de las vitaminas D2 y D3, y que el método permite cuantificar el metabolito activo 1,25(OH)2D3. Por ello, este método es el

recomendado para la medición del estado de la vitamina D en la sangre, tanto en la investigación como en la asistencia clínica, y debe hacerse en un laboratorio con experiencia y con historia registrada de buen rendimiento (64).

En cuanto a los sesgos detectados que podrían afectar los resultados del metaanálisis, se encontró que el punto de corte usado en los artículos incluidos en la revisión sistemática difería. Los rangos de los puntos de corte para determinar la deficiencia de vitamina D sérica en los artículos fueron <20, <25, <30 o <50 ng/ml. En cuatro de los 13 estudios considerados en el metaanálisis, el punto de corte fue menor de 20 ng/ml; en otro fue menor de 25 ng/ml; en otros dos, menor de 30 ng/ml; en otros dos, menor de 50 ng/ml, y en cuatro estudios no se reportaron los puntos de

corte. Además, la toma de la muestra sanguínea también se hizo de forma diferente según la edad de gestación de las mujeres participantes. En siete de los 13 estudios del metaanálisis, se reportó la edad de gestación en el momento de la toma de la muestra, la cual osciló entre 10,5 y 26 semanas.

Los resultados de este estudio deben considerarse con precaución. Los hallazgos indican una relación inversa entre el nivel de vitamina D y el desarrollo de preeclampsia. Sin embargo, las limitaciones mencionadas en cuanto al contexto geográfico de los estudios revisados, los métodos de cuantificación de la vitamina D, los metabolitos analizados, los puntos de corte usados para establecer la deficiencia sérica de vitamina D, y la edad de gestación de las mujeres en el momento de la toma de la muestra de sangre, hacen que los principales resultados tengan poca validez externa.

Estos aspectos limitan la posibilidad de adoptar políticas como el suplemento con vitamina D, ya que para ello deben despejarse varios interrogantes relacionados con el efecto de la dosis en la respuesta, lo cual permitiría diferenciar si existe o no un efecto umbral de la vitamina D en la preeclampsia y facilitaría la selección de la dosis más efectiva. Además, se requieren estudios para evaluar los efectos modificadores de la vitamina D según las características individuales, los cuales podrían considerarse luego en la selección de los pacientes que deben recibir el suplemento. Asimismo, deberá verificarse si el efecto de la vitamina D es diferencial o específico según los fenotipos de gravedad de la preeclampsia, como el síndrome HELLP, y la presencia de preeclampsia temprana y de eclampsia.

Teniendo en cuenta el incremento de la incidencia de la preeclampsia, la carga que representa en cuanto a morbilidad y mortalidad materno-fetal y la evidencia creciente que sugiere que la deficiencia de vitamina D es frecuente durante el embarazo (10), es necesario hacer estudios sobre el impacto del uso controlado de suplementos de vitamina D antes del embarazo y durante las primeras semanas de gestación en el desarrollo de la preeclampsia. Esta sería una estrategia sencilla, económica y de uso masivo para reducir su riesgo, especialmente en poblaciones vulnerables como las mujeres con tono de piel oscuro, con baja exposición a la luz solar, o que usan permanentemente bloqueadores solares.

Agradecimientos

A Colciencias, por la financiación del proyecto (contrato CT-492-2012).

Conflictos de interés

No existen conflictos de intereses.

Financiación

Proyecto financiado por Colciencias, Colombia (contrato CT-492-2012).

Referencias

1. **Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O'Beirne M, Rabi DM.** Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ.* 2013;346:f1169. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1169>
2. **Davies-Tuck M, Yim C, Knight M, Hodges R, Doery JC, Wallace E.** Vitamin D testing in pregnancy: Does one size fit all? *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2015;55:149-55. <https://doi.org/10.1111/ajo.12278>
3. **De-Regil LM, Palacios C, Ansary A, Kulier R, Peña-Rosas JP.** Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;2:CD008873. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008873.pub2>
4. **World Health Organization.** Trends in maternal mortality: 1990 to 2015: Estimates by WHO, UNICEF, UNFPA, World Bank Group and the United Nations Population Division. Geneva: World Health Organization; 2015. p. 16.
5. **UNICEF, Instituto Nacional de Higiene y Epidemiología.** La morbilidad materna extremadamente grave, un reto actual para la reducción de la mortalidad materna. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2012. p. 13-23.
6. **Bomba-Opon DA, Brawura-Biskupski-Samaha R, Kozlowski S, Kosinski P, Bartoszewicz Z, Bednarczuk T, et al.** First trimester maternal serum vitamin D and markers of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27:1078-9. <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.846318>
7. **Abedi P, Mohaghegh Z, Afshary P, Latifi M.** The relationship of serum vitamin D with pre-eclampsia in the Iranian women. *Matern Child Nutr.* 2014;10:206-12. <https://doi.org/10.1111/mcn.12058>
8. **Asemi Z, Tabassi Z, Heidarzade Z, Khorammian H, Sabihi S-S, Samimi M.** Effect of calcium-vitamin D supplementation on metabolic profiles in pregnant women at risk for pre-eclampsia: A randomized placebo-controlled trial. *Pak J Biol Sci.* 2012;15:316-24. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.316.324>
9. **August P, Marcaccio B, Gertner JM, Druzin ML, Resnick LM, Laragh JH.** Abnormal 1,25-dihydroxyvitamin D metabolism in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;166:1295-9. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(11\)90625-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(11)90625-5)
10. **Tabesh M, Amin Salehi-Abargouei A, Tabesh MM, Esmailzadeh A.** Maternal vitamin D status and risk of pre-eclampsia: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:3165-73. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1257>
11. **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;25:207-14. <https://dx.doi.org/10.1097/EDE.000000000000039>

12. **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 preeclampsia. *BJOG.* 2010;117:1593-8. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2010.02742.x>
13. **Burris HH, Rifas-Shiman SL, Huh SY, Kleinman K, Litonjua A, Oken E, et al.** Vitamin D status and hypertensive disorders in pregnancy. *Ann Epidemiol.* 2014;24:399-403. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2014.02.001>
14. **Baker AM, Haeri S, Camargo CA, Espinola JA, Stuebe AM.** A nested case-control study of midgestation vitamin D deficiency and risk of severe preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:5105-9. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0996>
15. **Higgins JPT, Green SM, editors.** *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions.* Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011. Fecha de consulta: 12 de junio de 2015. Disponible en: www.cochrane-handbook.org
16. **Egger M, Smith GD, Altman DG.** *Systematic reviews in health care: Meta-analysis in context.* Second edition. Oxford: John Wiley & Sons; 2001. p. 498. <https://doi.org/10.1002/9780470693926>
17. **Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, et al.** Meta-analysis of observational studies in epidemiology: A proposal for reporting. *JAMA.* 2000; 283:2008-12. <https://doi.org/10.1001/jama.283.15.2008>
18. **Ferreira-González I, Urrútia G, Alonso-Coello P.** Revisiones sistemáticas y metaanálisis: bases conceptuales e interpretación. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64:688-96. <https://doi.org/10.1016/j.recresp.2011.03.029>
19. **Bodnar LM, Catov JM, Simhan HN, Holick MF, Powers RW, Roberts JM.** Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92:3517-22. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-0718>
20. **Xu L, Lee M, Jeyabalan A, Roberts JM.** The relationship of hypovitaminosis D and IL-6 in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210:149.e1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.09.037>
21. **Fernández-Alonso AM, Dionis-Sánchez EC, Chedraui P, González-Salmerón MD, Pérez-López FR.** First-trimester maternal serum 25-hydroxyvitamin D3 status and pregnancy outcome. *Int J Gynecol Obstet.* 2012;116:6-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2011.07.029>
22. **Frølich A, Rudnicki M, Storm T, Rasmussen N, Hegedüs L.** Impaired 1,25-dihydroxyvitamin D production in pregnancy-induced hypertension. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1992;47:25-9. [https://doi.org/10.1016/0028-2243\(92\)90210-P](https://doi.org/10.1016/0028-2243(92)90210-P)
23. **Halhali A, Díaz L, Ávila E, Ariza AC, Garabedian M, Larrea F.** Decreased fractional urinary calcium excretion and serum 1,25-dihydroxyvitamin D and IGF-I levels in preeclampsia. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007;103:803-6. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.12.055>
24. **Halhali A, Díaz L, Barrera D, Ávila E, Larrea F.** Placental calcitriol synthesis and IGF-I levels in normal and preeclamptic pregnancies. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014; 144:44-9. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.12.014>
25. **Halhali A, Tovar AR, Torres N, Bourges H, Garabedian M, Larrea F.** Preeclampsia is associated with low circulating levels of insulin-like growth factor I and 1,25-dihydroxyvitamin D in maternal and umbilical cord compartments. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1828-33. <https://doi.org/10.1210/jcem.85.5.6528>
26. **Halhali A, Villa AR, Madrazo E, Soria MC, Mercado E, Díaz L, et al.** Longitudinal changes in maternal serum 1,25-dihydroxyvitamin D and insulin like growth factor I levels in pregnant women who developed preeclampsia: Comparison with normotensive pregnant women. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;89-90:553-6. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2004.03.069>
27. **Haugen M, Brantsaeter AL, Trogstad L, Alexander J, Roth C, Magnus P, et al.** Vitamin D supplementation and reduced risk of preeclampsia in nulliparous women. *Epidemiology.* 2009;20:720-6. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181a70f08>
28. **Hollis BW, Wagner CL.** Vitamin D and pregnancy: Skeletal effects, nonskeletal effects, and birth outcomes. *Calcif Tissue Int.* 2013;92:128-39. <https://doi.org/10.1007/s00223-012-9607-4>
29. **Hollis BW, Johnson D, Hulsey TC, Ebeling M, Wagner CL.** Vitamin D supplementation during pregnancy: Double-blind, randomized clinical trial of safety and effectiveness. *J Bone Miner Res.* 2011;26:2341-57. <https://doi.org/10.1002/jbmr.463>
30. **Hossain N, Kanani FH, Ramzan S, Kausar R, Ayaz S, Khanani R, et al.** Obstetric and neonatal outcomes of maternal vitamin D supplementation: Results of an open label randomized controlled trial of antenatal vitamin D supplementation in Pakistani women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:2448-55. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-3491>
31. **Hypönen E, Hartikainen A-L, Sovio U, Järvelin M-R, Pouta A.** Does vitamin D supplementation in infancy reduce the risk of pre-eclampsia? *Eur J Clin Nutr.* 2007;61:1136-9. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602625>
32. **Cruikshank DP, Chan GM, Doerrfeld D.** Alterations in vitamin D and calcium metabolism with magnesium sulfate treatment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;168: 1170-6. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(93\)90363-N](https://doi.org/10.1016/0002-9378(93)90363-N)
33. **Ito M, Koyama H, Ohshige A, Maeda T, Yoshimura T, Okamura H.** Prevention of preeclampsia with calcium supplementation and vitamin D3 in an antenatal protocol. *Int J Gynaecol Obstet.* 1994;47:115-20.
34. **Kolusari A, Kurdoglu M, Yildizhan R, Adali E, Edirne T, Cebi A, et al.** Catalase activity, serum trace element and heavy metal concentrations, and vitamin A, D and E levels in preeclampsia. *J Int Med Res.* 2008;36:1335-41. <https://doi.org/10.1177/147323000803600622>
35. **Halhali A, Bourges H, Carrillo A, Garabedian M.** Lower circulating insulin-like growth factor I and 1,25-dihydroxyvitamin D levels in preeclampsia. *Rev Invest Clin.* 1995;47:259-66.
36. **Lalau JD, Jans I, el Esper N, Bouillon R, Fournier A.** Calcium metabolism, plasma parathyroid hormone, and calcitriol in transient hypertension of pregnancy. *Am J Hypertens.* 1993;6:522-7.
37. **Marya R, Rathee S, Manrow M.** Effect of calcium and vitamin D supplementation on toxemia of pregnancy. *Gynecol Obs Invest.* 1987;24:38-42.

38. **Powe CE, Seely EW, Rana S, Bhan I, Ecker J, Karumanchi SA, et al.** First trimester vitamin D, vitamin D binding protein, and subsequent preeclampsia. *Hypertension*. 2010;56:758-63. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.158238>
39. **Robinson CJ, Alanis MC, Wagner CL, Hollis BW, Johnson DD.** Plasma 25-hydroxyvitamin D levels in early-onset severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;203:366.e1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.06.036>
40. **Robinson CJ, Wagner CL, Hollis BW, Baatz JE, Johnson DD.** Maternal vitamin D and fetal growth in early-onset severe preeclampsia. *Am J Obs Gynecol*. 2011;204:556e1-4. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2011.03.022>
41. **Robinson C, Wagner C, Hollis B, Baatz J, Johnson DD.** Association of maternal vitamin D and placenta growth factor with the diagnosis of early onset severe preeclampsia. *Am J Perinatol*. 2013;30:167-72. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1322514>
42. **Scholl TO, Chen X, Peter Stein T.** Vitamin D, secondary hyperparathyroidism, and preeclampsia. *Am J Clin Nutr*. 2013;98:787-93. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.055871>
43. **Seely EW, Graves SW, Wood J.** Lower serum ionized calcitriol hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;74:1436-40. <https://doi.org/10.1210/jcem.74.6.1592891>
44. **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*. 2013;99:287-95. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.065672>
45. **The People's League of Health.** The nutrition of expectant and nursing mothers in relation to maternal and infant mortality and morbidity. 1935. *J Obstet Gynaecol Br Emp*. 1946;53:498-509.
46. **Theobald GW.** Effect of calcium and vitamins A and D on incidence of pregnancy toxemia. *Lancet*. 1937;229:1397-9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)83249-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)83249-3)
47. **Ullah MI, Koch CA, Tamanna S, Rouf S, Shamsuddin L.** Vitamin D deficiency and the risk of preeclampsia and eclampsia in Bangladesh. *Horm Metab Res*. 2013;45:682-7. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1345199>
48. **Wagner CL, McNeil RB, Johnson DD, Hulsey TC, Ebeling M, Robinson C, et al.** Health characteristics and outcomes of two randomized vitamin D supplementation trials during pregnancy: A combined analysis *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013;136:313-20. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.01.002>
49. **Wei SQ, Audibert F, Hidioglou N, Sarafin K, Julien P, Wu Y, et al.** Longitudinal vitamin D status in pregnancy and the risk of pre-eclampsia. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2012;119:832-9. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2012.03307.x>
50. **Wei S-Q, Audibert F, Luo Z-C, Nuyt AM, Masse B, Julien P, et al.** Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D levels, angiogenic factors, and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208:390.e1-390.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.03.025>
51. **Wetta LA, Biggio JR, Cliver S, Abramovici A, Barnes S, Tita AT.** Is midtrimester vitamin D status associated with spontaneous preterm birth and preeclampsia? *Am J Perinatol*. 2014;31:541-6. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1356483>
52. **Woodham PC, Brittain JE, Baker AM, Leann Long D, Haeri S, Camargo CA, et al.** Midgestation maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and soluble fms-like tyrosine kinase 1/placental growth factor ratio as predictors of severe preeclampsia. *Hypertension*. 2011;58:1120-5. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.179069>
53. **Yu CK, Ertl R, Skyfta E, Akolekar R, Nicolaides KH.** Maternal serum vitamin D levels at 11–13 weeks of gestation in preeclampsia. *J Hum Hypertens*. 2013;27:115-8. <https://doi.org/10.1038/jhh.2012.1>
54. **Zhou J, Su L, Liu M, Liu Y, Cao X, Wang Z, et al.** Associations between 25-hydroxyvitamin D levels and pregnancy outcomes: A prospective observational study in southern China. *Eur J Clin Nutr*. 2014;68:925-30. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.99>
55. **Singla P, Parkash AA, Lal H, Nanda S.** Benefits of vitamin D supplementation in pregnancy for prevention of preeclampsia. *Int J Pharm Biol Sci*. 2012;2:144-50.
56. **Rabelo Pena H.** Níveis maternos e neonatais de vitamina D: interferência da pré-eclâmpsia e da obesidade gestacional. Tesis. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2014. p. 16-86.
57. **Bener A, Al-Hamaq A, Saleh NM.** Association between vitamin D insufficiency and adverse pregnancy outcome: Global comparisons. *Int J Womens Health*. 2013;5:523-31. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S51403>
58. **Azar M, Basu A, Jenkins AJ, Nankervis AJ, Hanssen KF, Scholz H, et al.** Serum carotenoids and fat-soluble vitamins in women with type 1 diabetes and preeclampsia: A longitudinal study. *Diabetes Care*. 2011;34:1258-64. <https://doi.org/10.2337/dc10-2145>
59. **Stegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R.** Pre-eclampsia. *Lancet*. 2010;376:631-644. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60279-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60279-6)
60. **Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, van Look PF.** WHO analysis of causes of maternal death: A systematic review. *Lancet*. 2006;367:1066-74. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68397-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68397-9)
61. **Seamans KM, Cashman KD.** Existing and potentially novel functional markers of vitamin D status: A systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2009;89:1997S-2008S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27230D>
62. **Albahrani AA, Greaves RF.** Fat-soluble vitamins: Clinical indications and current challenges for chromatographic measurement. *Clin Biochem Rev*. 2016;37:27-47.
63. **Holick MF.** Vitamin D status: Measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol*. 2009;19:73-8. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2007.12.001>
64. **de la Hunty A, Wallace AM, Gibson S, Viljakainen H, Lamberg-Allardt C, Ashwell M.** UK Food Standards Agency Workshop Consensus Report: The choice of method for measuring 25-hydroxyvitamin D to estimate vitamin D status for the UK National Diet and Nutrition Survey. *Br J Nutr*. 2010;104:612-9. <https://doi.org/10.1017/S000711451000214X>