



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA DE NUTRIÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE**

**MARCOS PEREIRA SANTOS**

**DETERMINANTES SOCIOAMBIENTAIS DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE  
VITAMINA D EM GESTANTES**

**SALVADOR  
2014**

**MARCOS PEREIRA SANTOS**

**DETERMINANTES SOCIOAMBIENTAIS DAS CONCENTRAÇÕES  
SÉRICAS DE VITAMINA D EM GESTANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde.

Área de Concentração: Segurança Alimentar e Nutricional

Orientadora: Profa. Dra. Ana Marlúcia Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Djanilson Barbosa dos Santos

**SALVADOR  
2014**

Ficha Catalográfica elaborada pela BUS – Biblioteca Universitária de Saúde da UFBA

S237 Pereira-Santos, Marcos  
Determinantes socioambientais das concentrações séricas de vitamina D em gestantes / Marcos Pereira Santos. – Salvador, 2014.  
102 p. : il.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Marlúcia Oliveira.  
Co-Orientador: Djanilson Barbosa dos Santos.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Escola de Nutrição, 2014.

1. Vitamina D. 2. Gestação. 3. Exposição solar. 4. Estudo transversal. I. Universidade Federal da Bahia. Escola de Nutrição. II. Oliveira, Ana Marlúcia. III. Santos, Djanilson Barbosa dos. IV. Título.

CDU 612.392.015.6

## TERMO DE APROVAÇÃO

### MARCOS PEREIRA SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde.

#### DETERMINANTES SOCIOAMBIENTAIS DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE VITAMINA D EM GESTANTES: ESTUDO LONGITUDINAL

#### BANCA EXAMINADORA:

**Profa. Dra. Ana Marlúcia de Oliveira**  
Doutora em Saúde Pública pela Universidade Federal da Bahia  
Professora da Universidade Federal da Bahia

**Profa. Dra. Valterlinda Alves de Oliveira Queiroz**  
Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia  
Professora da Universidade Federal da Bahia

**Prof. Dr. Pedro Israel Cabral de Lira**  
PhD em Medicina - London School of Hygiene and Tropical Medicine  
Professor da Universidade Federal de Pernambuco

**Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Teles Santos**  
Doutor em Saúde pública pela Universidade Federal da Bahia  
Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana

**Prof. Dr. Djanilson Barbosa dos Santos**  
Doutor em Saúde pública-Epidemiologia pela Universidade Federal da Bahia  
Professor da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Salvador – Bahia, 07 de março de 2014

Aos meus pais e irmãos por todo o apoio e incentivo, aos orientadores pelos ensinamentos.

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo cuidado, proteção e presença em todos momentos, especialmente nas dificuldades.

Aos meus pais, Maria Nativa e Renê Café, por acreditarem e confiarem em meus sonhos e por todo cuidado e esforços empreendidos durante minha jornada.

Aos meus irmãos, Ronaldo e Danilo, pela atenção, palavras de confronto e incentivo nos momentos de dificuldades.

À minha querida orientadora prof<sup>ra</sup>. Ana Marlúcia, pelo cuidado acadêmico, ensinamentos e estímulos durante o percurso do mestrado.

Ao meu coorientador, prof<sup>o</sup>. Djanilson Barbosa, pelos ensinamentos na área da Epidemiologia e apoio durante a realização do estudo.

À equipe do Núcleo de Epidemiologia da Escola de Nutrição, em especial a Priscila, Mônica, Jaqueline, Bete e Valterlinda pelo suporte nos momentos de dúvidas.

Aos integrantes do Núcleo de Investigação em Saúde Nutrição Materno-Infantil da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em especial a Gisele, Jerusa e Sheila pelo companheirismo durante a coleta de dados, além de todos os bolsistas e voluntários que cuidadosamente contribuíram para produção dos dados.

Aos amigos, Jase, Jerusa, Vilma, Luana, Amélia, Priscila, Valter, Franklin, Cláudia, Jussara, Gisela, Erik e demais colegas por tornar meus dias mais agradáveis e alegres em Salvador.

Aos amigos que muito me ajudaram durante meus dias em Santo Antônio de Jesus. Muito obrigado Sirley, Silvio e Marcele por tudo.

Ao Sr. José Carlos, secretário PGNUT, pelas orientações, descontração nos momentos necessários. Você é uma pedra fundamental no Programa. Obrigado JC!

Aos docentes da Pós-graduação por compartilhar o conhecimento.

A equipe do Laboratório Fernando Queiroz, em especial ao Adriano Queiroz, pela parceria e colaboração na coleta sanguínea

A Secretária de Saúde do município de Santo Antônio de Jesus concessão para a realização da pesquisa.

Obrigado à todos que contribuíram de alguma forma para o meu crescimento pessoal e profissional e para construção de quem sou hoje. Fica um muito obrigado!!!!!!

*“Saúdo-os e desejo-lhes sol!”*

Fernando Pessoa

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

### **Artigo 1. Determinantes socioambientais da deficiência de vitamina D em gestantes de cidade com elevada exposição solar**

**Figura 1.** Modelo teórico do estudo sobre concentrações séricas de vitamina D em gestantes...

**Tabela 1.** Características sócio demográficas de gestantes, Santo Antônio de Jesus-Bahia-Brasil. 2013-2014.

**Gráfico 1.** Concentrações de 25(OH)D em gestantes segundo estação do ano, Santo Antônio de Jesus, Bahia-Brasil, 2013-14.

**Tabela 2.** Características das gestantes segundo grupo sérico de vitamina D deficiente e não deficiente, Santo Antônio de Jesus Bahia-Brasil, 2013-14.

**Tabela 3.** Razão de Prevalência bruta e ajustada de deficiência de vitamina D em gestantes e fatores associados

### **Artigo 2. Obesity and Vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis**

**Figura 1.** Fluxograma de seleção dos artigos

**Tabela 1.** Tabela. Características dos estudos incluídos na metanálise de associação entre deficiência de vitamina D e obesidade.

**Figura 2.** Razão de prevalência e gráfico de funil da associação entre deficiência de vitamina D em obesos comparados com eutróficos.

**Figura 3.** Razão de prevalência e gráfico de funil da associação entre deficiência de vitamina D em obesos comparados com sobrepeso.



## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>ARTIGO 1-11DETERMINANTES SOCIOAMBIENTAIS DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM GESTANTES DE CIDADE COM ELEVADA EXPOSIÇÃO SOLAR .....</b>	<b>11</b>
RESUMO .....	12
ABSTRACT .....	13
INTRODUÇÃO.....	14
METODOLOGIA.....	16
RESULTADOS .....	20
DISCUSSÃO.....	21
REFERÊNCIAS .....	25
<b>ARTIGO 2-OBESITY AND VITAMIN D DEFICIENCY: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS.....</b>	<b>33</b>
SUMMARY .....	34
METHODOLOGY.....	36
RESULTS.....	38
DISCUSSION.....	40
REFERENCES .....	44
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>52</b>
<b>PROJETO DE QUALIFICAÇÃO .....</b>	<b>52</b>
APRESENTAÇÃO.....	55
LISTA DE ABREVIATURAS.....	56
INTRODUÇÃO.....	57
QUADRO TEÓRICO.....	58
OBJETIVO .....	76
CONSIDERAÇÕES TEÓRICO-METODOLÓGICAS .....	77
CRONOGRAMA PRELIMINAR.....	94
REFERÊNCIAS .....	96

## APRESENTAÇÃO

Esta dissertação intitulada “Determinantes socioambientais das concentrações de vitamina D em gestantes” objetiva avaliar os fatores de risco associados a deficiência de vitamina D em gestantes residentes em município do Recôncavo da Bahia.

Nesta perspectiva, esta dissertação foi estruturada em duas partes: I- artigos científicos e considerações finais e na parte II encontra-se o projeto de qualificação. O primeiro artigo objetiva analisar as concentrações séricas de vitamina D e identificar os fatores de socioambientais associados a deficiência de vitamina D em gestantes; e o segundo, é um artigo adicional de revisão sistemática com metanálise que analisa a associação ente obesidade e deficiência de vitamina D. Assim, a composição desta dissertação inclui os seguintes manuscritos:

I. Determinantes socioambientais da deficiência de vitamina D em gestantes de cidade com elevada exposição solar;

II. Associação entre obesidade e deficiência de vitamina D: revisão sistemática e metanálise.

Na segunda parte, encontra-se o projeto de pesquisa que registra um panorama teórico e epidemiológico. No quadro teórico registra-se um resgate histórico de estudos que enfocam a vitamina D, apresenta os aspectos fisiológicos, metabólicos, os fatores de risco associados à insuficiência e deficiência de vitamina D e o papel fisiológico da vitamina D na gestação. Na abordagem metodológica apresenta-se a teorização científica, a caracterização e o cenário dos estudos e os aspectos analíticos, bem como a logística do estudo.

## **ARTIGO 1**

# **DETERMINANTES SOCIOAMBIENTAIS DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM GESTANTES DE CIDADE COM ELEVADA EXPOSIÇÃO SOLAR**

*Pereira-Santos M<sup>1</sup>*

---

<sup>1</sup>Nutricionista. Mestrando em Alimentos, Nutrição e Saúde. Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia.

## RESUMO

Concentrações séricas deficientes de vitamina D (25OHD) durante a gestação são associadas com condições adversas a saúde materna. Neste sentido, este estudo tem como objetivo analisar as concentrações séricas de vitamina D e identificar os fatores de socioambientais associados a deficiência de vitamina D em gestantes. Para tanto, realizou-se estudo transversal com amostra de 190 gestantes residentes na cidade de Santo Antônio de Jesus-Bahia- Brasil. Foi aplicado questionário contendo informações socioambientais, de estilo de vida e biológicas e realizado coleta sanguínea para determinação das concentrações séricas de 25(OH)D. O teste T *student* e regressão de Poisson foram utilizados para análise dos dados. A média das concentrações de 25(OH)D foi de 78.66 (32,11) nmol/l. Observou-se que 14,21% e 44,74% das gestantes apresentavam deficiência e insuficiente de 25(OH)D, respectivamente. As maiores concentrações desta vitamina foram observadas durante a primavera/verão (89.46, DP: 36.06 nmol/l) e as menores no inverno (66.08-DP: 25.93 nmol/l). Condições elevadas de renda e de escolaridade foram estatisticamente significantes com deficiência de vitamina D. Além disso, gestantes que deslocavam-se para o trabalho com meios automobilísticos apresentaram chance de deficiência de vitamina D em 180% em comparação com aquelas não deficientes; observou-se também que a estação do ano inverno aumentou em 160% a prevalência dessa deficiência. Observou-se também associação estatisticamente significativa para as variáveis exposição de apenas mãos e rosto ao sol e estado civil não casado com a deficiência de vitamina D. Estes resultados evidenciam a necessidade de avaliação das concentrações de vitamina D durante a gestação, bem como a necessidade de orientação sobre adequada exposição solar, visto que estação do ano inverno e hábitos de estilo de vida se associam com a deficiência de vitamina D. Estudos longitudinais sobre vitamina D em gestantes brasileiras são necessários para substanciar o conhecimento atual e fornecer subsídios para a prevenção da insuficiência/ deficiência de vitamina D na gestação.

## ABSTRACT

Vitamin D (25OHD) deficiency during pregnancy are associated with adverse maternal health conditions. Thus, this study aims to analyze serum concentrations of vitamin D and identify the social and environmental factors associated with vitamin D deficiency in pregnant women. This is a cross-sectional study with a sample of 190 pregnant women living in Santo Antônio de Jesus city- Bahia-Brazil. Satisfaction questionnaire socioeconomic, lifestyle and biological information was applied and performed blood collection for determination of serum 25 (OH) D. The Student *T* test and Poisson regression were used for data analysis. The mean concentrations of 25 (OH) D was 78.66 (32.11) nmol / l. It was observed that 14.21% and 44.74% of the women had deficient and insufficient 25 (OH) D, respectively. The highest concentrations of this vitamin were observed during the spring / summer (89.46, SD = 36.06 nmol / l) and the lowest in winter (66.08-SD: 25.93 nmol / l). Conditions of high income and education were statistically significant with vitamin D deficiency. Additionally, pregnant who drove automobile for going to work the chance of vitamin D deficiency in 180% compared with those without disabilities; it was also noted that the winter season has increased 160% the prevalence of this deficiency. We also observed a statistically significant association for the variables exposure in only the hands and face to the sun and not married to vitamin D deficiency. These results highlight the need for assessment of concentrations of vitamin D during pregnancy, as well as the need guidance on adequate sun exposure and lifestyle are associated with a vitamin D deficiency. Longitudinal studies on vitamin D in brazilian pregnant women are needed to substantiate the current knowledge and provide subsidies for the prevention of vitamin D insufficiency / deficiency in pregnancy.

## INTRODUÇÃO

A gestação é uma fase de suscetibilidade à deficiência de vitamina D, uma vez que a demanda deste nutriente aumenta, não só para suprir as necessidades da própria gestante e manter suas próprias reservas, mas também para atender as demandas do feto. (Fleischman *et al*, 1980; Hilman & Haddad, 1974; Kovacs *et al*, 2011). A vitamina D exerce funções na regulação e diferenciação celular, no desenvolvimento do sistema imunitário e cerebral (Liu & Hewison, 2011), além de se constituir em transportador placentário do cálcio e de atuar na sua homeostase; regulando assim o processo de osteogênese fetal. Neste sentido, a deficiência desta vitamina na gestação pode comprometer o desenvolvimento e crescimento do feto.

A deficiência de vitamina D associa-se a resultados adversos à saúde das gestantes, a exemplo da ocorrência de pré-eclâmpsia, infecções geniturinárias, diabetes gestacional e risco de cesariana (Liu & Hewison, 2011). Resultados de metanálise desenvolvida por Aghajafari *et al* (2013) englobando 31 artigos publicados no período de 1980 a 2012, indicam que a deficiência de 25(OH)D em gestantes aumenta as chances em 79% da ocorrência de pré-eclâmpsia (OR:1,79; IC95%: 1,25-2,58) e 49% de diabetes gestacional (OR:1,49; IC 95%: 1,18-1,89). Além disso, as concentrações inadequadas de vitamina D durante a gravidez podem aumentar o risco de eventos adversos à saúde dos recém-nascidos, a exemplo do baixo peso ao nascer (Mannion *et al*, 2006; Viljakainen *et al*, 200; Leffelaar *et al*, 2010; Morley *et al*, 2006), de nascimentos pequenos para a idade gestacional (Leffelaar *et al*, 2010; Bodnar *et al*, 2007) e em fases posteriores da vida registam-se o risco de alergias alimentantes (Weisse *et al*, 2013), ocorrência da asma (Han *et al*, 2013), raquitismo e doenças endócrino metabólicas (Holick, 2004).

Dessa maneira, esforços científicos têm sido empreendidos na identificação de fatores associados à deficiência de vitamina D em gestantes, com destaque para os fatores ambientais

e individuais. Entre os fatores ambientais encontram-se a elevada poluição atmosférica, alta latitude, período de inverno e duração da exposição solar (Tsiaras & Weinstock, 2011). Quanto aos fatores individuais os estudos identificam excesso de peso pré-gestacional, pigmentação negra da pele, consumo etílico elevado, o uso de tabaco e desordens metabólicas como importantes fatores riscos para a deficiência da vitamina D (Tsiaras & Weinstock, 2011), bem como, baixo nível de escolaridade materna e baixa renda (Martini *et al*, 2013; Ganmaa *et al*, 2004; Leffelaar *et al*, 2010; Bodnar *et al*, 2010, Scholl 2009).

No que se refere aos aspectos metabólicos, estima-se que 80 a 90% da vitamina D do organismo humano sejam provenientes da síntese cutânea do 7-dehidocolesterol e o restante é fornecido pelos alimentos, cujas fontes mais expressivas são manteiga, queijo, ovos, fígado e o óleo de peixe (Holick,1994). Neste sentido, em regiões com baixa latitude é possível fotossintetizar esta vitamina em concentrações adequadas durante todas as estações do ano, devido à disponibilidade de raios ultravioleta – UVB (Tsiaras & Weinstock, 2011). Paradoxalmente, estudos realizados com populações de países com clima tropical, a exemplo do Brasil, registram elevada prevalência de insuficiência de vitamina D (Unger *et al*, 2010). O aumento da ocorrência da deficiência em crianças, adultos e idosos, pode estar relacionado às mudanças comportamentais e ambientais que resultam na exposição diminuída a radiação ultravioleta.

Estudos sobre prevalência e determinantes de deficiência de vitamina D em gestantes brasileiras, ainda expressam importante lacuna, visto que os estudos são realizados, em sua maioria, em países com reduzida incidência solar (Palacios *et al*, 2013). Sendo assim, este estudo objetiva analisar as concentrações séricas de vitamina D e identificar e identificar os fatores de socioambientais associados a deficiência de vitamina D em gestantes.

## **METODOLOGIA**

### **População e amostra**

Estudo transversal envolvendo uma amostra de 190 gestantes captadas no *baseline* da coorte “*Fatores de riscos nutricionais e genéticos durante a gestação associados a baixo peso ao nascer/prematuridade*”<sup>2</sup>. O estudo foi desenvolvido no município de Santo Antônio de Jesus, localizado no Recôncavo Sul Baiano, com área territorial de 261 Km<sup>2</sup>, distando 187 Km da cidade de Salvador, capital do Estado da Bahia. Esta cidade conta com 90.949 habitantes, 79.271 residentes na zona urbana, 11.6763 na zona rural, distribuídos em 47.963 mulheres e 42.986 homens.

Para identificar fatores de risco associados às concentrações de vitamina D elaborou-se o modelo teórico apresentado na figurar 1, cuja a hipótese central deste estudo é que as concentrações inadequadas de vitamina D são determinadas por fatores associados ao ambiente, hábitos de exposição solar e também influenciada, em menor risco, por condições sociodemográficas e biológicas das gestantes.

Para testar este modelo teórico e identificar possíveis fatores de risco associado as concentrações de vitamina D foi calculada amostra de 161 mulheres. Para tanto, estimou-se prevalência de 73,5% de hipovitaminose D [25(OH)D <80nmol/l], em gestantes eutróficas norte-americanas (Bodnar *et al*, 2007), com estimativa de variação de 10% dessas concentrações em função da localização geográfica do município em questão. Adotou-se erro tipo I ( $\alpha$ ) de 5% e de poder de 80%. Mas, neste, estudo optou-se pela inclusão de todas as gestantes elegíveis que participaram do *baseline* da pesquisa, totalizando 190 mulheres.

### **Critérios de elegibilidade**

Adotou-se como critérios de inclusão mulheres clinicamente saudáveis, residentes e domiciliadas na zona urbana do município, com idade de dezoito anos ou mais, idade

---

<sup>2</sup> Coorte coordenada pelo professor Dr. Djanilson Barbosa dos Santos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), processo nº481509/2012-7/ 2013.



gestacional de até 32 semanas no momento da captação e que frequentavam o serviço de atenção ao pré-natal do Sistema Único de Saúde. Foram excluídas mulheres com gestação múltipla, aquelas que apresentaram problemas de saúde como: pré-eclâmpsia, problemas renais, HIV e gestantes que não estavam em jejum para a coleta sanguínea. No entanto, estas condições não foram identificadas entre gestantes selecionados.

### **Coleta de dados**

As gestantes foram selecionadas nas unidades de saúde do município por ocasião das consultas de pré-natal. Equipe treinada entrevistou as gestantes e registrou as respostas relativas às condições socioeconômicas, demográficos e de estilo de vida e hábitos de exposição solar em questionário padronizado.

O peso pré-gestacional foi coletado do cartão da gestante e quando não disponível foi referido por ela. A altura foi aferida na unidade de saúde, pela equipe de saúde do serviço, treinada segundo as recomendações de Lohman *et al* (1998). Após a coleta de tais informações, realizou-se o agendamento da gestante para coleta sanguínea em dias previamente definidos.

A idade gestacional no momento da coleta sanguínea foi calculada com base na data da última menstruação disponível no cartão da gestante ou por meio do registro da idade gestacional da primeira ultrassonografia realizada até o final do primeiro trimestre gestacional.

### **Mensuração das concentrações séricas de vitamina D**

A coleta sanguínea foi realizada pela manhã das 7:00 as 9:00 horas adotando-se jejum de no mínimo 8 horas. No dia antecedente a coleta sanguínea a gestante recebeu orientações nutricionais para a realização dos exames, via contato telefônico. No laboratório de referência o técnico treinado realizou a coleta de 6 ml sangue com tubo à vácuo do tipo BD Vacutainer® para determinação da 25(OH)D, cálcio total e hemograma.

Após a coleta, o tubo foi centrifugado por 15 minutos a 2000rpm, em ambiente protegido da luz ultravioleta, para separação do soro. As amostras sorológicas foram identificadas por códigos e armazenadas a  $-32^{\circ}\text{C}$  em freezer, até o momento da dosagem da 25(OH)D. Para tanto, utilizou-se o método de determinação quantitativo, baseado no princípio de quimioluminescência (CLIA). Foi utilizado o kit de dosagem de 25(OH)D (DiaSorin®); com coeficiente de variação (CV) intraensaio de 8,4% a 12,5% e CV interensaio de 8,6% a 11,0%.

Utilizou-se a concentração sérica de 25-hidroxivitamina D - 25(OH)D como indicador do estado nutricional relativo a vitamina D, pois este metabólito reflete o fornecimento de metabólitos da vitamina D tanto da dieta, quanto da síntese cutânea; além disso, a hidroxilação da 25(OH)D a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (vitamina D ativa) ocorre em diversos tecidos, sendo que a meia-vida da 25-OH-D é de duas a três semanas, enquanto a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  é de aproximadamente seis horas (Hollis, 2005).

O hemograma foi realizado em equipamento da marca Sismex XT 1800i® e o cálcio total mensurado pelo método química seca vitros (Johnson & Johnson®) em laboratório de referência do município.

### **Variáveis resposta e de exposição**

As concentrações séricas de 25 (OH)D foram definidas como variável resposta e classificadas como deficiente ( $<50$  nmol/L), insuficiente (50 nmol/L e 80nmol/L) e suficiente  $>80$  nmol/L) (Holick, 2007, Hollis, 2005). Na análise multivariada as concentrações de 25 (OH)D foram categorizadas em deficientes ( $<50$  nmol/L) e não deficientes ( $\geq 50$  nmol/L).

As variáveis de exposição são representadas pelas condições sociodemográficas, biológicas e de atenção à saúde; incluindo a idade materna [18 a 25 anos (0),  $>25$  a 30 (1),  $\geq 30$  anos (2)], renda familiar [0 -2 salários mínimos (0),  $\geq 2$ -4 salários mínimos (1),  $\geq 5$  salários mínimos (2)], escolaridade materna ( $<11$  anos de estudo (1),  $\geq 11$  anos de estudo (0)],

cor de pele [branco, amarelo, indígena (0); pardo (1), negra (2)], situação conjugal [casada (0); não casada (1)], situação de trabalho [ativa (0), inativa (1)]. Dentre aquelas biológicas, foram selecionadas: idade gestacional no momento da coleta sanguínea [6 a 13 semanas gestacionais (0);  $\geq 13$  a 26 semanas gestacionais (1),  $\geq 26$  semanas gestacionais ], e dentre as variáveis relacionadas à atenção à saúde, foram adotadas: o início do pré-natal no primeiro trimestre [sim (0), não (1)] recebeu orientações nutricionais nas consultas de pré-natal [sim (0), não (1)]. Foram adotadas ainda aquelas variáveis relacionadas aos hábitos e estilo de vida: tempo de exposição solar semanal [ $\geq 4$ -6 vezes por semana (0),  $<4$  vezes por semana (1)], parte do corpo que se expõe ao sol [membros superiores/inferiores (0), rosto e mãos (1)], e uso de protetor solar [não (0), sim (1)].

### **Plano de análise**

A prevalência foi adotada para descrever as variáveis categóricas e para as variáveis contínuas adotou-se a média e desvio padrão. A comparação das médias das concentrações de 25(OH)D segundo as variáveis de exposição foi realizada por meio do teste T de *Student* para variâncias iguais. A comparação entre as prevalências das variáveis categóricas de interesse e concentrações de vitamina D foi realizada utilizando-se análise bivariada na regressão de *Poisson* para identificar a medida de associação bruta e a significância. As variáveis que integraram o modelo multivariado de *Poisson* foram selecionadas com base na técnica *backward* (Hosmer; Lemeshow, 2000), a qual consiste em incluir todas as variáveis no modelo e em desprezar aquelas de menores significâncias estatísticas consecutivamente, até que permaneçam somente as variáveis com valor de  $p < 0,05$ . Utilizou-se a razão de prevalência (RP) como medida de associação e o valor de  $p (< 0,05)$  para avaliar a magnitude da associação encontrada. As análises foram realizadas no programa *Stata/IC for Mac* (*StataCorp, College Station*), versão 12.0.

## RESULTADOS

As características descritivas das 190 gestantes estão apresentadas nas tabelas 1. Predominou a idade de 18 a 30 anos (63,16%) entre as mães, a baixa renda (60,11%) e escolaridade maior ou igual a 11 anos de estudo (71,05%). Observou-se também que 42,9% da categoria do IMC pré-gestacional foi classificado como excesso de peso, a anemia atingiu 22,4% das mães e a hipocalcemia foi identificada em 12,64% das gestantes.

A frequência de exposição solar de 4 a 6 vezes por semana foi identificada em 38,95% (74) das gestantes, o hábito de se expor ao sol diariamente por até 45 minutos foi relatado por 45% das gestantes e o uso de vestuários que possibilitavam a exposição solar dos membros superiores foi referido por 73,37% (135) das gestantes. Entretanto, o filtro solar era usado cotidianamente por 52,15% (97) das gestantes e 4,84% (9) faziam uso de suplemento alimentar fonte de vitamina D.

A média das concentrações de 25(OH)D foi de 78,66 (DP=32,11) nmol/L. As concentrações de vitamina D insuficientes e deficientes foram encontradas em 14,21% e 44,74% das gestantes, respectivamente. As maiores concentrações desta vitamina foram observadas durante a primavera/verão (89,46, DP: 36,06 nmol) e as menores no inverno (66,08-DP: 25,93 nmol/L- figura 1). Nesta estação, a prevalência de deficiência de vitamina D foi de 57,33% (43), enquanto na primavera e verão essa prevalência declinou para 33,7% (28). Observou-se que 53,68% (102) das gestantes apresentavam vínculo empregatício e 52,11% (99) se deslocavam caminhando para o trabalho.

As características maternas estão apresentadas na tabela 2 segundo as concentrações de 25(OH)D deficientes (<50 nmol/L) e não deficientes (>50 nmol/L). Observou-se que a concentração média da vitamina D foi mais elevada quando a renda familiar era maior ( $p=0,001$ ), o nível educacional era mais elevado ( $p=0,032$ ), quando a concentração total de cálcio era menor ( $p=0,0629$ ). Acrescenta-se, que não foram observadas diferenças

estatisticamente significantes entre as concentrações médias deficientes e não deficientes de 25(OH)D para idade da gestante, IMC pré-gestacional, concentração sérica de hemoglobina, tempo de exposição solar e idade gestacional (tabela 2).

Os resultados da regressão de *Poisson* para a associação entre os determinantes socioambientais selecionados e as concentrações deficientes de 25(OH)D estão apresentados na tabela 3. Observou-se que expor apenas as mãos e rosto ao sol foi estatisticamente associado com a deficiência de vitamina D (RP=2.96; IC 95%: 1.33- 6.59). No inverno a prevalência de deficiência de vitamina D aumentou 160%.. Observou-se também que a associação entre duração da exposição solar não se associou significativamente com a deficiência de vitamina D.

## **DISCUSSÃO**

A elevada prevalência de insuficiência e deficiência de vitamina D em gestantes identificadas neste estudo segue a tendência de países com reduzida disponibilidade de incidência solar. Desta forma, a deficiência de vitamina D em gestantes é importante problema de saúde em diferentes países, como observado em 90% em gestantes na cidade de Beijing (Song *et al*, 2013) 31% no sudeste da Índia (Sahu *et al*, 2009) e 19,5% da Grécia (Nicolaidou *et al*, 2009).

Embora não foi identificado na literatura pesquisas sobre o estado nutricional relativo as concentrações de vitamina D em gestantes brasileiras, os estudos realizados com adultos, crianças e idosos no Brasil registram elevadas prevalências de deficiência e insuficiência de vitamina D (Unger *et al*, 2010; Santos *et al*, 2012, Oliveira *et al*, 2013). No Brasil a ingestão de vitamina D é baixa e as pequenas quantidades disponíveis nos alimentos fortificados são insuficientes para suprir as necessidades fisiológicas de vitamina D no organismo humano (Peters *et al*, 2009). Dessa forma, a principal fonte de vitamina D é a exposição ocasional à

luz solar. Outra possível causa da reduzida síntese de vitamina D é a recomendação de se evitar exposição ao sol, usando protetor solar, que é fortemente recomendado em nosso país por dermatologistas (Peters *et al*, 2009).

No presente trabalho, as menores concentrações de vitamina D foram associadas estatisticamente com escolaridade materna elevada e renda familiar elevada. Entretanto, essa co-variáveis não permaneceram estatisticamente significante quando inseridas na regressão de Poisson.

A insuficiência de vitamina D tem sido também associada à baixa condição socioeconômica de gestantes. Estudo de coorte realizado em Amsterdam (N= 2.274 gestantes) indicou que gestantes de baixa escolaridade apresentaram menores concentrações de 25(OH)D (X= 60.09 nmol/L, DP: 36.83) quando comparadas àquelas de maior escolaridade (X= 68.27 nmol/L, DP: 27.15 (Van den Berg *et al*, 2013). Todavia, essa tendência não foi identificada entre as gestantes analisadas, uma vez que melhores condições socioeconômicas apresentaram resultado estatisticamente significante com deficiência de vitamina D.

Possível explicação para a relação entre deficiência de vitamina D em gestantes com condições socioeconômicas mais elevadas é a de que o acesso a bens e serviços, como transporte, atividades de lazer e trabalho em ambientes fechados, diminuem a exposição do tecido epitelial aos raios solares. Por conseguinte, atenua-se a fotoprodução de vitamina D, o que favorece a ocorrência de deficiência de vitamina D neste grupo. Outra hipótese é a de que gestantes com menores condições socioeconômicas realizam maior tempo de trabalho ao ar livre, bem como, realizam caminhada expostas ao sol nas atividades cotidianas. Isso favorece a fotoprodução de vitamina D e é capaz de suprir os requerimentos nutricionais e metabólicos desta vitamina durante a gestação.

Neste estudo, observou-se que no inverno as gestantes apresentavam elevada prevalência de deficiência de vitamina D e concentrações mais elevadas desta vitamina

durante o verão e outono. Em tais estações, a ativação do 7-dehidocolesterol cutâneo, o precursor inicial da vitamina D, é mais acentuada devido ao aumento da disponibilidade solar e intensidade dos raios ultravioleta.

Assim, regiões de baixa latitude, como a cidade de Santo Antônio de Jesus (latitude 12° e longitude 39°) apresenta elevada disponibilidade solar e maior incidência de raios UVB, o que pode favorecer a fotoprodução de vitamina D. No entanto, reduzidas concentrações séricas de vitamina D em gestantes foram encontradas no outono. Esta tendência de elevada insuficiência de vitamina D são encontradas em estudos realizados na região sudeste do Brasil (Holick *et al*, 2004; Saraiva *et al*, 2007). Estes resultados já identificados nos estudos podem sugerir que as concentrações inadequadas são também influenciadas por fatores de ordem socioeconômicos e culturais.

Por outro lado, deve-se considerar que o inverno *per si* é um importante fator de risco para a deficiência de vitamina D. Pesquisa realizado em São Paulo, com adultos registrou, após o inverno, concentração mediana de 25(OH)D<sub>3</sub> de 21,4 ng/mL e prevalência de hipovitaminose D em 77,4% neste grupo. No referido estudo, 209 voluntários foram submetidos, no verão, a segunda avaliação das concentrações séricas de vitamina D, identificando-se aumento médio de 10,6 ng/mL (3,7-19,3) na concentração de 25(OH)D e redução significativa na prevalência de hipovitaminose D (Unger *et al*, 2010).

A partir das elevadas prevalências de insuficiência/deficiência de vitaminas D identificadas em gestantes e a indicação da associação com desfechos negativos a saúde do binômio mãe-filho, tem sido sugerido suplementação deste micronutriente no período da gestação. Neste sentido, resultados de estudos de intervenção, a exemplo do realizado por Brooke *et al* (1980) com desenho duplo-cego e placebo controlado, com 126 mães asiáticas residentes na Grã-Bretanha indicaram que a suplementação diária de 1000 unidades internacionais- UI (25 µg) de vitamina D no 3º trimestre de gravidez reduziu o risco de

nascimentos de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional (15 vs 28%;  $P < 0,05$ ) e aumentou as concentrações médias de 25(OH)D ( $X = 168,0$  vs  $16,2$  nmol /L,  $P < 0,001$ ) em comparação com o grupo placebo. A suplementação com 600.000 UI (15 mg) duas vezes no mês, entre 7-8 semanas gestacionais reduziu a prevalência de baixo peso ao nascer quando comparado com aquelas que receberam placebo (4 vs 19% no controle) (Marya *et al*, 1988). Então, a suplementação de vitamina D no início da gestação apresentou melhor eficácia na saúde do recém-nascido. No entanto, estudos de suplementação com este micronutriente ainda são escassos e pouco se conhece sobre a dose segura e, além disto, os estudos de suplementação têm adotado amostras com reduzidos tamanhos. Soma-se ainda ao fato de que parcela dos estudos que investigam o estado nutricional relativo à vitamina D na gestação, foram realizados em países desenvolvidos de clima frio e com pouca disponibilidade de luz solar. Desta forma, estudos sobre a suplementação de vitamina D em gestantes residentes em países de clima tropical são importantes para subsidiar políticas públicas voltadas a prevenção da deficiência e insuficiência de vitamina D durante a gestação.

Este estudo é um dos primeiros a analisar as concentrações de vitamina D em gestantes no Brasil, tomando como cenário de estudo uma cidade com elevada incidência solar. Então, é recomendável estudos do tipo longitudinal, com amostras representativas da população envolvendo participantes com diferentes condições sociodemográficas e culturais, no intuito de conhecer a variação das concentrações de vitamina D em gestantes segundo diferentes contextos epidemiológicos do país. Além disso, ressalta-se a necessidade de orientações nutricionais sobre o consumo de alimentos fontes de vitamina D e hábitos de estilo de vida que possibilitem o aumento da exposição solar durante a gestação. Por outro, lado a monitorização das concentrações de vitamina D durante a gestação é necessária, principalmente no inverno e em gestantes com condições socioeconômicas mais elevadas, no



intuito de contribuir para correção de deficiências e implicações negativas a saúde materno-infantil.

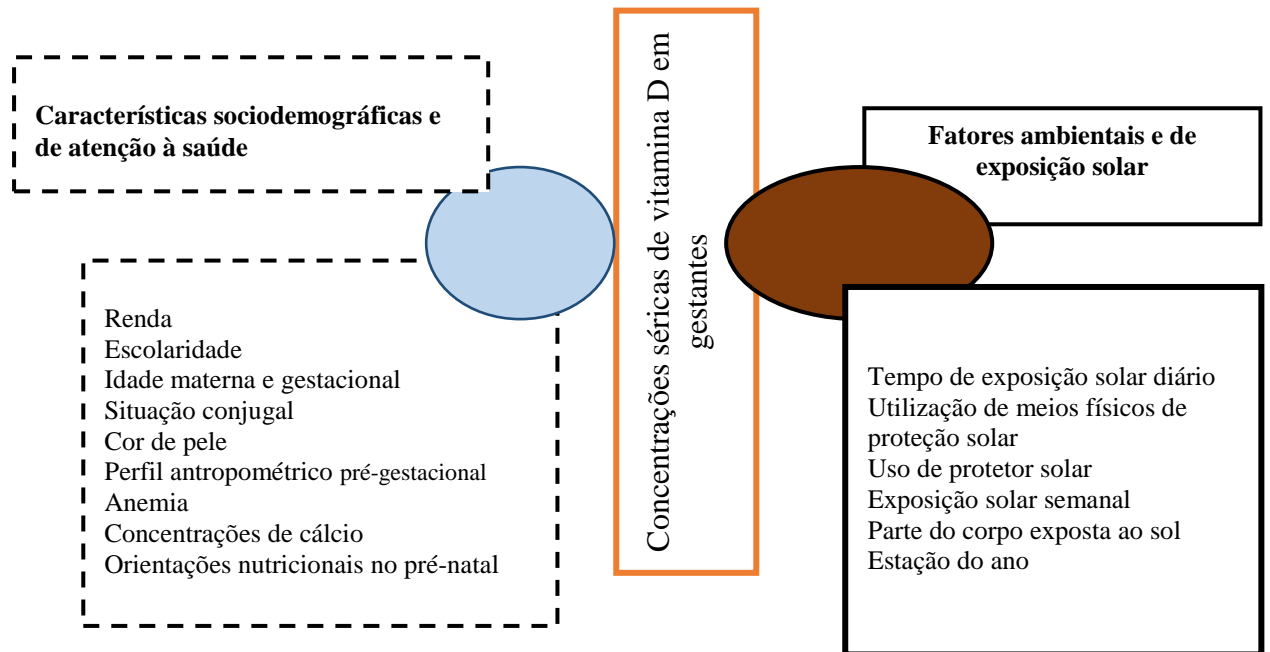
## REFERÊNCIAS

1. Aghajafari F , Nagulesapillai T , Ronksley PE , Resistente 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 doi: 10.1136/bmj.f1169
2. Bodnar LM, Catov JM, Simhan HN, et al. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92, 3517 – 3522.
3. Bodnar LM, Simhan HN. Vitamin D may be a link to black-white disparities in adverse birth outcomes. *Obstet Gynecol Surv* 2010; 65:273–284.
4. Brooke OG, Brown IR, Bone CD, Carter ND, Cleeve HJ, Maxwell JD, Robinson VP, Winder SM. Vitamin D supplements in pregnant Asian women: effects on calcium status and fetal growth. *BMJ.* 1980;280:751–4
5. Fleischman AR, Rosen JF, Cole J, et al. Maternal and fetal serum 1,25-dihydroxyvitamin D levels at term. *J Pediatr* 1980;97(4):640–2.
6. Ganmaa D, Holick MF, Rich-Edwards JW, Frazier LA, Davaalkham D, Ninjin B, Janes C, Hoover RN, Troisi R. Vitamin D deficiency in reproductive age Mongolian women: a cross sectional study. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014 Jan;139:1-6. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.011.
7. Han Y-Y, Blatter J, Brehm JM, Forno E, Litonjua AA, Celedón JC. Diet and asthma: vitamins and methyl donos. Diet and asthma: vitamins and methyl donos. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2013.1: 813 – 822. Doi:10.1016/S2213-2600(13)70126.
8. Hillman LS, Haddad JG. Human perinatal vitamin D metabolism. I. 25-hydroxyvitamin D in maternal and cord blood. *J Pediatr* 1974;84(5):742–9

9. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* March 2004; 79: 3 362-371
10. Holick MF: Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80:1678–1688.
11. Holick MF: Vitamin D. In Shills M, Olson JA, Shike M, Ross CA. *Modern Nutrition in Health and Disease*, 9th ed, Baltimore, Williams & Wilkins 1999. p.329-45
12. Hollis BW. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *J Nutr*. 2005; 135:317–322.
13. Hosmer D, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression*. 2 nd ed. New York: John Wiley, 2000
14. Kovacs, CS. Fetus, neonate and infant. D. In: Feldman (Ed.). *Vitamin D*. 3<sup>rd</sup> ed., Academic Press, New York. 2011: 625–646.
15. Leffelaar ER, Vrijkotte TG & van Eijsden M. Maternal early pregnancy vitamin D status in relation to fetal and neonatal growth: results of the multi-ethnic Amsterdam Born Children and their Development cohort. *Br J Nutr*. 2010. 104,108 –117
16. Leffelaar ER, Vrijkotte TG, van Eijsden M. Maternal early pregnancy vitamin D status in relation to fetal and neonatal growth: results of the multi-ethnic Amsterdam born children and their development cohort. *Br J Nutr* 2010: 104:108–11.
17. Liu NQ Hewison M. Vitamin D the placenta and pregnancy. *Arch. Biochem. Biophys*.2011: doi:10.1016/j.abb.2011.11.018
18. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. *Anthropometric standartization reference manual*. Illinois: Human Kinetics Books, 1988: 1-12
19. Mannion CA, Gray-Donald K, Koski KG. Association of low intake of milk and vitamin D during pregnancy with decreased birth weight. *CMAJ*. 2006: 174, 1273-1277

20. Martini LA, Verly E Jr, Marchioni DM, Fisberg RM. Prevalence and correlates of calcium and vitamin D status adequacy in adolescents, adults, and elderly from the Health Survey of São Paulo. *Nutrition*. 2013; <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2012.12.009>
21. Marya RK, Rathee S, Dua V, Sangwan K. Effect of vitamin D supplementation during pregnancy on foetal growth. *Indian J Med Res*. 1988;88:488–92
22. Nicolaidou P, Hatzistamatiou Z, Papadopoulou A, Kaleyias J, Floropoulou E et al. Low vitamin D status in mother newborn pairs in Greece. *Calcif Tissue Int* 2006; 78: 337–342. doi:10.1007/
23. Oliveira RM, Novaes JF, Azeredo LM, Cândido AP, Leite IC. Association of vitamin D insufficiency with adiposity and metabolic disorders in Brazilian adolescents. *Public Health Nutr*. 2013;9:1-8
24. Palacios, Gonzalez L, Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.11.003>
25. Sachan, R. Gupta, V. Das, A. Agarwal, P.K. Awasthi, V. Bhatia. High prevalence of vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in northern India. *Am J Clin Nutr*, 81 (2005), pp. 1060–1064
26. Sahu M, Bhatia V, Aggarwal A, Rawat V, Saxena P et al. Vitamin D deficiency in rural girls and pregnant women despite abundant sunshine in northern India. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009. 70: 680–684. doi:10.1111/j.1365-2265.2008.03360.x.
27. Santos BR, Mascarenhas LP, Satler F, Boguszewski MC, Spritzer PM. Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants. *BMC Pediatrics* 2012; 12:62 doi:10.1186/1471-2431-12-62
28. Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LMQ, Vieira JGH, Maeda SS, et al. Prevalence of vitamin D deficiency, insufficiency and secondary hyperparathyroidism in

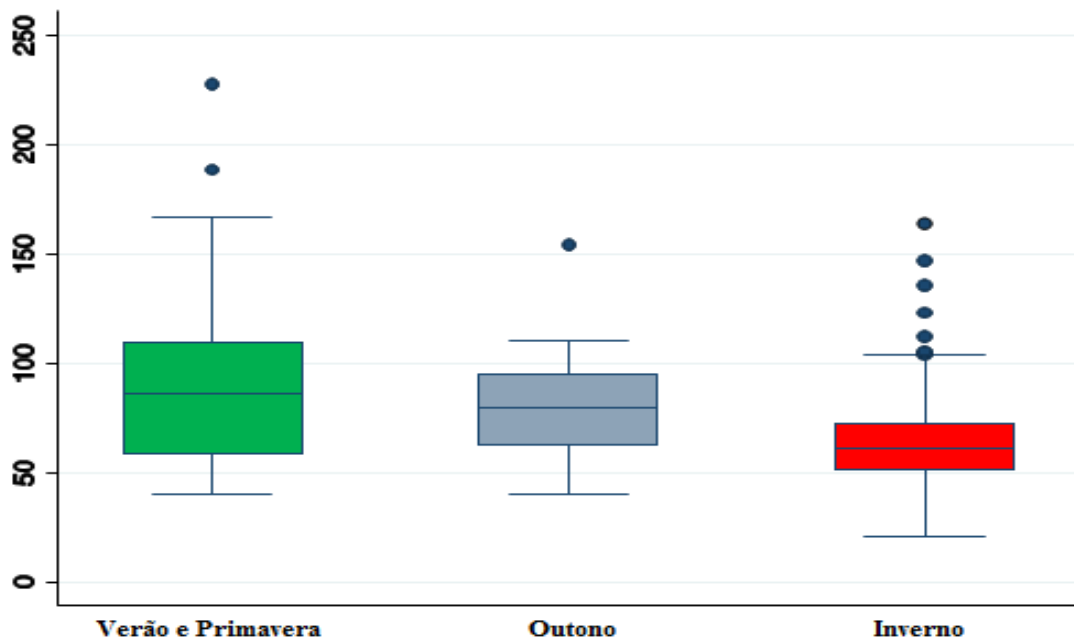
- the elderly inpatients and living in the community of the city of Sao Paulo, Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007; 51(3): 437-442
29. Scholl TO, Chen X (2009) Vitamin D intake during pregnancy: association with maternal characteristics and infant birth weight. *Early Hum Dev* 85:231–234
30. Song SJ, Zhou L, Si S, Liu J, Zhou J, et al. The High Prevalence of Vitamin D Deficiency and Its Related Maternal Factors in Pregnant Women in Beijing. *PLoS ONE* 2013; 8(12): e85081. doi:10.1371/journal.pone.0085081
31. Tsiaras WG, Weinstock MA. Factors influencing vitamin D status. *Acta Derm Venereol.* 2011;91, 115 – 124.
32. Unger MD, Cuppari L, Titan SM, Magalhães MCT, Sasaki AL, Reis LM et al. Vitamin D status in a sunny country: Where has the sun gone? *Clin Nutri.* 2010. 29 (6) :784-
33. Van den Berg G, van Eijnsden M, Vrijkotte TG, Gemke RJ. Suboptimal maternal vitamin D status and low education level as determinants of small-for-gestational-age birth weight. *Eur J Nutr.* 2013 Feb;52(1):273-9. doi: 10.1007/s00394-012-0327-3
34. Viljakainen HT, Saarnio E, Hytinen T, Miettinen M, Surcel H, Mäkitie O, et al. Maternal vitamin D status determines bone variables in the newborn. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95, 1749 – 175
35. Weisse K, Winkler S, Hirche F, Herberth G, Hinz D, Bauer M, *et al.* Maternal and newborn vitamin D status and its impact on food allergy development in the German LINA cohort study. *Allergy.* 2013;68(2):220-8. doi: 10.1111/all.12081.
36. Peters BS, dos Santos LC, Fisberg M, Wood RJ, Martini LA. Prevalence of Vitamin D Insufficiency in Brazilian Adolescents. *Ann Nutr Metab* 2009;54(1):15-21



**Figura 1.** Modelo teórico do estudo sobre concentrações séricas de vitamina D em gestantes

**Tabela 1.** Características sócio demográficas de gestantes, Santo Antônio de Jesus-Bahia-Brasil. 2013-2014.

<b>Variável</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Idade (anos)</b>		
18 a 25 anos	66	34.74
>25 a 30	54	28.42
≥30 anos	70	36.84
<b>Cor de pele</b>		
Branco, amarelo, indígena	52	27.51
Pardo	76	40.21
Preto	61	32.28
<b>Renda</b>		
0 - 2 SM	113	60.11
>2 a 4 SM	59	31.38
>5 SM	16	5.3
<b>Escolaridade materna</b>		
<11 anos de estudo	55	28.95
≥11 anos de estudo	135	71.05
<b>Estado civil</b>		
Casada/companheiro	159	83.68
Não casada	31	16.32
<b>IMP- pré gestacional</b>		
< 25	107	57.84
≥25	78	42.16
<b>Idade Gestacional</b>		
6 a 13 semanas	75	39.47
≥13 a 32	115	60.53
<b>Anemia</b>		
Sim	41	22.40
Não	142	77.60
<b>Hipocalcemia</b>		
Sim	23	12.64
Não	159	87.36
<b>Exposição solar semanal</b>		
≥4-6 x	74	38.95
<4 x	116	61.05
<b>Parte do corpo exposta ao sol</b>		
Membros superiores/ membros inferiores	134	73.22
Rosto e mãos	49	26.78
<b>Uso de protetor solar</b>		
Sim	97	51.05
Não	93	48.95
<b>Estação do ano</b>		
Primavera e verão	83	43.68
Outono	32	16.84
Inverno	75	39.47
<b>Deslocamento para o trabalho</b>		
À pé	99	52.11
Meios automobilísticos	91	47.89
<b>Concentrações de 25(OH)D</b>		
Deficiente	27	14.21
Insuficiente	85	44.74
Suficiente	78	41.05



**Gráfico 1.** Concentrações de 25(OH)D em gestantes segundo estação do ano, Santo Antônio de Jesus, Bahia-Brasil, 2013-14.

**Tabela 2.** Características das gestantes segundo grupo sérico de vitamina D deficiente e não deficiente, Santo Antônio de Jesus Bahia-Brasil, 2013-14.

Variável	25 (OH)D <50 nmol	25 (OH)D ≥50 nmol	Valor de P
<b>Idade</b>	28.18(5.19)	27.2638(6.24)	0.4687
<b>Renda</b>	2114.61(2.35)	1331.60(765.27)	0.0013
<b>Escolaridade</b>	11.74(2.83)	10.48(1.86)	0.0320
<b>IMC pré gestacional</b>	24.80(5.76)	24.58(4.90)	0.8469
<b>Hemoglobina</b>	11.85(0.92)	11.768(1.01)	0.6889
<b>Cálcio</b>	8.97(0.30)	9.10(0.34)	0.0629
<b>Tempo de exposição solar</b>	42.69(46.69)	61.22(79.35)	0.2487
<b>Idade gestacional</b>	20.46 (7.19)	20.25 (7.36)	0.891

**Tabela 3.** Razão de Prevalência bruta e ajustada de deficiência de vitamina D em gestantes e fatores associados

Variáveis	RP bruta, IC 95%	RP ajustada IC 95%
<b>Renda</b>		
<b>Estado civil</b>		
Casada/companheiro	1	
Não casada	1.79 (0.75-4.24)	2.56 (1.01 - 6. 64)
<b>Idade gestacional</b>		
6 a 13 semanas	1	
≥13 a 32	0.38 (0.17; 0.83)	0.51 (0.21- 1.18)
<b>Exposição solar semanal</b>		
≥4-6 x	1	
<4 x	1.82 (0.77-4.31)	1.26 (0.50 - 3.17)
<b>Parte do corpo exposta ao sol</b>		
Membros superiores/ membros inferiores	1	
Rosto e mãos	2.73 (1.26-5.89)	2.96 (1.33 - 6.59)
<b>Estação do ano</b>		
Verão e Primavera	1	1
Inverno	2.84 (1.18-6.81)	2.60 (1.05- 6.44)
Outono	0.74 (0.15- 3.56)	0.83 (0.16-4.11)
<b>Deslocamento para o trabalho</b>		
A pé	1	1
Transporte	3.21 (1.29- 7.97) 0.01	2.80 (1.07- 7.37)

\* Regressão de *Poisson*



## **ARTIGO 2**

# **OBESITY AND VITAMIN D DEFICIENCY: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS**

*Pereira-Santos M<sup>3</sup>*

---

<sup>3</sup>Nutricionista. Mestrando em Alimentos, Nutrição e Saúde. Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia.

## **SUMMARY**

Over the past decade, there have been increasing numbers of studies on the association between vitamin D deficiency and anthropometric state. However, we did not identify any meta-analyses on obesity correlated as a risk factor for vitamin D deficiency. Thus, we evaluated the association between obesity and vitamin D deficiency. We searched for observational studies published up to April 2014, in the PubMed/Medline, Web of Science and Scopus databases. We performed a meta-analysis in accordance with the random-effects model to obtain the summary measurement (prevalence ratio). Twenty three articles met the inclusion criteria. We identified that obese individuals have 35% higher risk of presenting vitamin D deficiency, in comparison with eutrophic individuals (PR: 1.35; 95% CI: 1.21-1.50). In the subgroup analysis, obese children and adolescents presented greater risk of vitamin D deficiency (PR: 1.37; 95% CI: 1.20-1.56) than the group of obese adults and elderly individuals. Statistically significant results regarding the serum levels of vitamin D were observed between obese individuals and overweight individuals (PR: 1.21; 95% CI: 1.14-1.29). Vitamin D deficiency is associated with obesity, despite the latitude and the human development index of the study location. Moreover, investigation regarding safe vitamin D supplementation among obese individuals is necessary.

**Keywords:** obesity, vitamin D deficiency, 25-Hydroxy vitamin D, meta-analysis

## INTRODUCTION

Obesity is defined as an excess amount of body fat and constitutes a worldwide epidemiological problem.<sup>1</sup> Currently, it is the fifth greatest risk factor for mortality<sup>1</sup> and it is also considered to be a risk factor for vitamin D deficiency.<sup>2</sup>

In this regard, there has been an increase in the volume of studies on the association between vitamin D insufficiency and anthropometric state over the past decade. Thus, results from observational studies have identified that vitamin D deficiency is correlated with increased body fat and body mass index, which has placed obesity as a risk factor for vitamin D deficiency.<sup>2-4</sup>

Vitamin D is essential for the development and maintenance of bone tissue, as well as for normal homeostasis of calcium and phosphorus.<sup>5,6</sup> Moreover, it is related to differentiation, cell proliferation and hormone secretion. An estimated 80% to 90% of vitamin D from the human body originates from skin synthesis, with sunlight activation, while the rest is supplied through supplements or food.<sup>7</sup> Vitamin D status is measured by means of the plasma levels of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D].<sup>2</sup> A review study has proposed that 25(OH)D concentrations below 50 nmol/l in adults should be considered to represent deficiency, while 25(OH)D values between 50 and 80 nmol/l should be considered to be indicators of insufficiency.<sup>9</sup>

Vitamin D insufficiency has been reported in all phases of life throughout the world,<sup>10,11</sup> which makes this issue an important health concern. This deficiency is the etiology of several chronic endocrine and metabolic disorders.<sup>2</sup> In this regard, the results from a meta-analysis showed that sufficient vitamin D concentrations among adults were associated with reduction of the risk of occurrences of cardiovascular diseases, diabetes and metabolic syndrome.<sup>12</sup>

In the epidemiological literature on anthropometric profiles and vitamin D concentrations, we identified a meta-analysis study that investigated the correlation between serum concentrations of 25(OH)D and body mass index (BMI) among adults living in developed and developing countries, and which showed a weak correlation between BMI and vitamin D concentrations.<sup>13</sup> On the other hand, we did not identify any meta-analyses in the worldwide epidemiological literature, on obesity correlated as a risk factor for vitamin D deficiency in different populations and age groups. Thus, it is pertinent to aggregate evidence and systematize information on the relationship between vitamin D deficiency and obesity, with the aim to providing support for planning future studies and public policies for prevention of this deficiency in different populations. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the association between obesity and vitamin D deficiency in different age groups.

## **METHODOLOGY**

### **Identification and selection of articles**

We conducted a systematic review with meta-analysis in accordance with the PRISMA norms (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses),<sup>14</sup> on studies that evaluated the association between 25(OH)D concentrations and obesity. To do so, an online search was performed in PubMed/Medline, Web of Science and Scopus, for articles published between December 30, 1995, and April 2014. The search terms were “vitamin D”, “cholecalciferol” and “ergocalciferol”, combined with “obesity”, “body mass index” and “weight”. Additionally, we evaluated the references of the articles and reviews on vitamin D, so as to identify studies that were not indexed in the databases, but would be pertinent for inclusion in this review.

The articles identified in the databases were selected independently by two reviewers using forms containing the eligibility criteria for the articles. At the end of the review, articles for

which there were divergences of opinion were selected according to a consensus reached between the reviewers. In the absence of a consensus, a third reviewer evaluated whether the study in question was eligible.

The articles included had an observational design and carried out 25(OH)D serum assaying, analyzed the association between vitamin D status and obesity, and identified the prevalence of hypovitaminosis D. Articles that involved individuals who had undergone bariatric surgery, those that were literature reviews, communications or editorials and those with methodological weakness were excluded. The eligible articles were read in full, and information about the study's year of publication and design and the variables investigated was recorded using a form designed for gathering this information.

The serum level of 25(OH)D was used as an indicator for vitamin D status, because this metabolite reflects the supply of vitamin D metabolites both in the diet and through skin synthesis. Moreover, hydroxylation of 25(OH)D to 1.25(OH)2D3 (active vitamin D) occurs in several tissues: the half-life of 25-OH-D is two three weeks, while the half-life of 1.25(OH)2D3 is approximately six hours.<sup>15</sup>

### **Statistical analysis**

We gathered data on the prevalence of vitamin D deficiency in groups of obese, overweight and eutrophic individuals. These data were later used to calculate the summary measurements of the study and the confidence interval.

The prevalence ratio (PR) was used as the summary measurement for the meta-analysis and the results were presented by means of forest plots. The PR and its respective confidence interval (95% CI) were obtained through a fixed or random-effects model, depending on the heterogeneity among the studies.<sup>16</sup> Heterogeneity and inconsistency of the measurements

were identified through Cochran's Q statistical test. If heterogeneity was confirmed, then the random-effects model was applied with inverse variance and weighting according to the results of the individual studies.<sup>17</sup> The inconsistency test ( $I^2 > 50\%$ ) was used as an indicator for moderate heterogeneity. The publication bias was assessed through a funnel plot and Egger's regression model.<sup>17</sup>

To compare the association between obesity and vitamin D deficiency, subgroup analysis was performed according to age (1- children and adolescents; 2- adults and the elderly). The heterogeneity of the meta-analysis was investigated by means of a meta-regression, testing the following as potential confounding variables: latitude, Human Development Index (HDI) of the country in which the study was carried out, and sample size.

In all analyses, p values less than 0.05 were considered statistically significant. The statistical analysis was carried out using the Stata 12 software (Stata Corp, College Station, TX, USA) and, to obtain the PR, the metan command was used.

## **RESULTS**

### **Characteristics of the eligible studies**

Our search strategy identified 29,882 articles in the selected data bases. After analyzing the title, we excluded 29,348 articles and, after analyzing the abstract, a further 480. After making this selection, we thus analyzed the complete text of 84 studies, of which 23 met the inclusion criteria and were included in the review (Figure 1).<sup>18-40</sup> The reasons for exclusion were as follows: absence of categorization of the anthropometric state through BMI (18); methodological weakness (14); non-use of cut-off points for the serum concentration of vitamin D (8); unreported prevalence of vitamin D deficiency (18); and non-observational study design (3).

The main characteristics of the studies included in this review are presented in Table 1. Most articles (76.16%) were published between 2010 and 2013. Assaying of 25(OH)D was carried out using different techniques, while the anthropometric status was evaluated in most studies through the body mass index (BMI).

### **Results from the meta-analysis**

The results from the meta-analysis can be seen in Figures 2 and 3. In Figure 2, twenty one studies were grouped comparing the risk of deficiency among obese versus eutrophic individuals.<sup>1,18-20,22-33,35-40</sup> Obese individuals were shown to present a 35% greater risk of having vitamin D deficiency than those with eutrophic BMI (PR: 1.35; 95% CI: 1.21-1.50). In the subgroup analysis with eight studies,<sup>20,23,25,29,30,35,38,39</sup> demonstrated in Figure 2, obese children and adolescents presented a greater risk of vitamin D deficiency (PR: 1.37; 95% CI: 1.20-1.56) than the group of obese adults and elderly people (PR: 1.33; 95% CI: 1.15-1.54).<sup>18,19,22,24,26-28,31-33,36,37,40</sup> The result from the inconsistency test showed that there was high heterogeneity among the studies analyzed (87.3%;  $p = 0.00$ ). Thus, the random-effects model was used to calculate the summary measurement. No publication bias was identified, according to the funnel plot (Figure 2) and Egger's test ( $p = 0.30$ ).

In the second analysis, involving nineteen studies<sup>18-24,26,28-31,33,34,36-40</sup> in which obese individuals were compared with overweight individuals, it was found that the condition of being overweight reduced the association measurement between obesity and vitamin D deficiency (PR: 1.21; 95% CI: 1.14- 1.29) (Figure 3). This reduction in the overall summary measurement was 16%, in comparison with the summary measurement presented in Figure 2. Based on the subgroup analysis, in thirteen studies,<sup>18,19,21,22,24,26,28,31,33,34,36,37,40</sup> obese adults and elderly individuals presented a greater risk of vitamin D deficiency (PR: 1.24; 95% CI: 1.14-1.34) than overweight children and adolescents (PR 1.14; 95% CI: 1.05-

1.24).<sup>20,23,29,30,38,39</sup> Moreover, the studies analyzed presented moderate heterogeneity ( $I^2 = 66.4\%$ ;  $p = 0.000$ ) and no publication bias was observed, according to the funnel plot and Egger's test ( $p = 0.32$ ).

### **Meta-regression results**

Two meta-regressions were carried out to investigate the heterogeneities identified in the meta-analyses on the association between obesity and vitamin D. In the first meta-regression, which was performed comparing the group of obese individuals with the eutrophic individuals, the HDI ( $p = 0.09$ ), sample size ( $0.06$ ) and latitude ( $p = 0.14$ ) of the cities where the studies were carried out did not contribute significantly towards the size of the summary measurement of the meta-analysis. In the second meta-regression too, HDI ( $p = 0.83$ ), sample size ( $p = 0.89$ ) and latitude ( $p = 0.44$ ) did not explain the heterogeneity of the meta-analysis regarding obesity versus overweight.

### **DISCUSSION**

The results from the present meta-analysis indicate that obesity was associated with vitamin D deficiency regardless of the age group. Thus, with increasing excess weight, there was also an increasing risk that the individual would present a deficiency of this vitamin.

The World Health Organization has projected for 2015 that there will be approximately 2.3 billion overweight adults worldwide and that obesity will affect among more than 700 million.<sup>41</sup> Taking into account the association between vitamin D deficiency and obesity, these two morbid events may constitute important current health issues during this period.

The results from the meta-analysis indicate that overweight and obese children are at higher risk of presenting vitamin D deficiency than are adults who are overweight or obese. The possible explanations for this issue may be associated with greater metabolic demand for



vitamin D during this stage of life, during which a greater amount of this vitamin is required for growth and maintenance of bone tissue for children and adolescents.

Recently, imprinting with low levels of vitamin D during childhood and adolescence and occurrences of bone diseases such as osteoporosis and osteoarthritis during later stages of life have been investigated, along with the growing risk of development of metabolic syndrome and cardiovascular, respiratory and psychological disorders.<sup>42,43</sup> On the other hand, among adults, vitamin D deficiency predisposes the individual to increased risk of chronic diseases such as hypertension, diabetes, cardiovascular diseases, different types of cancer and excess weight.<sup>2,12,44,45</sup> Thus, it is reasonable to assume that both vitamin D deficiency and obesity act in a bidirectional manner, meaning that a disturbance in one of these events constitutes a risk factor for occurrence of the other.

The variables that could be associated with the prevalence of vitamin D deficiency, such as latitude, HDI and sample size, did not influence the meta-analysis summary measurement of the present study, although moderate heterogeneity was identified in most of the analyses, thus indicating variation among the results from the studies analyzed. For this reason the random-effects model was used to calculate the summary measurements of this study.

A recent meta-analysis study on the relationship between vitamin D concentrations and BMI also did not record any significant contribution from latitude or from the development situation of the country in which the study was performed, to the magnitude of the summary measurement of the meta-analysis<sup>13</sup>. Thus, the relationship between vitamin D deficiency and obesity can occur independently from latitude, age and the conditions of human development (HDI).

Furthermore, it needs to be taken into consideration that several confounding factors, such as diet intake, physical activity, educational level, season of the year and presence of secondary

hyperparathyroidism, were not included in this meta-analysis due to methodological divergences in the studies analyzed and the absence of this information. In addition, most of the studies included in the present meta-analysis had cross-sectional designs, which makes it more difficult to examine the relationship of causality between obesity and vitamin D deficiency. Despite these limitations, the results from this study are consistent, especially given the absence of publication bias, according to Egger's test and the funnel plot.

Different theories can explain the relationship between obesity and vitamin D deficiency. One of them is that, because of issues of low social acceptance, obese individuals reduce their exposure to sunlight, perform fewer outdoor activities and/or use clothes that cover more of the body, which limits exposure to the sun and, consequently, cutaneous vitamin D synthesis. However, in a study based on the Framingham cohort, which evaluated the association between obesity and vitamin D, it was reported that after adjustments for practicing outdoor physical activities, this theory was insufficient to explain the relationship between obesity and vitamin D deficiency.<sup>45</sup> Thus, different levels of sun exposure seems to be an unlikely explanation for the relationship between vitamin D deficiency and adiposity.

It has been suggested that excess body fat retains the metabolites of this vitamin and that the cholecalciferol produced through the skin or acquired through the diet is partially sequestered by the body fat before being transported to the liver for the first hydroxylation.<sup>4</sup> Moreover, the significant quantity of the vitamin D activation enzyme 1- $\alpha$ -hydroxylase in the adipose cells of obese individuals would explain the greater local use of 25(OH)D. According to this hypothesis, variations in serum 25(OH)D and vitamin D reserves can be directly related to the amount of subcutaneous body fat.<sup>45</sup> Watsman et al<sup>5</sup> reported that after exposure to sunlight, the increase in the serum concentration of 25 vitamin D was 53% lower among obese

individuals than among eutrophic volunteers, independent of the amount of cutaneous precursor of vitamin D that was present.

On the other hand, some experimental data have suggested that vitamin D deficiency can favor greater adiposity by promoting increased parathyroid hormone levels and greater inflow of calcium into adipocytes, thereby increasing lipogenesis.<sup>46</sup> Accumulated evidence suggests that 1.25-hydroxyvitamin D modulates adipogenesis by inhibiting the vitamin D-dependent receptors of molecular components that are crucial in adipogenesis.<sup>47</sup> Thus, depletion of the vitamin D stock can lead to excessive differentiation of pre-adipocytes to adipocytes.

The results from the present study emphasize that there is a need for public policies directed towards controlling overweight and obesity at different stages of life, so as to prevent vitamin D insufficiency or deficiency. Hence, vitamin D supplementation in food and among risk groups should be targeted by public food and nutrition policies, regardless of sunlight availability. On the other hand, reorientation of healthcare policies regarding obesity control becomes necessary in order to prevent vitamin D insufficiency and deficiency, along with occurrences of other associated non-transmissible chronic diseases.

Future prospective studies are necessary in order to evaluate the causal relationship between serum concentrations of vitamin D and obesity. In addition, there is a need to carry out an investigation on safe vitamin D supplementation among overweight individuals, as well as monitoring the serum vitamin D levels among obese individuals. Standardized cut-off points for 25(OH)D must also be targeted by research, because of the particular climatic and dietary characteristics of each country. Moreover, we recommend that technical reorientation of the clinical approaches used by healthcare professionals such as nutritionists and doctors should be instituted.

## REFERENCES

1. World Health Organization. Fact sheet Obesity and overweight 2013.<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/#>.
2. Afzal S, Brøndum-Jacobsen P, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Vitamin D concentration, obesity, and risk of diabetes: a mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014;**2**:298-306.
3. Kimmons JE, Blanck HM, Tohill BC, Zhang J, Khan LK. Associations between body mass index and the prevalence of low micronutrient levels among US adults. *MedGenMed* 2006;**8**:59.
4. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;**72**:690-3.
5. Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2014;**383**:146-55.
6. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev* 2008;**29**:726-76.
7. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004;**80**:1678s-88s.
8. Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med* 2007; **357**:266-81.
9. Grant WB, Holick MF. Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Altern Med Rev* 2005;**10**:94-111.
10. Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for Health: A Global Perspective. *Mayo Clin Proc* 2013; **88**:720-55.
11. Prentice A. Vitamin D deficiency: a global perspective. *Nutr Rev* 2008;**66**:S153-64.

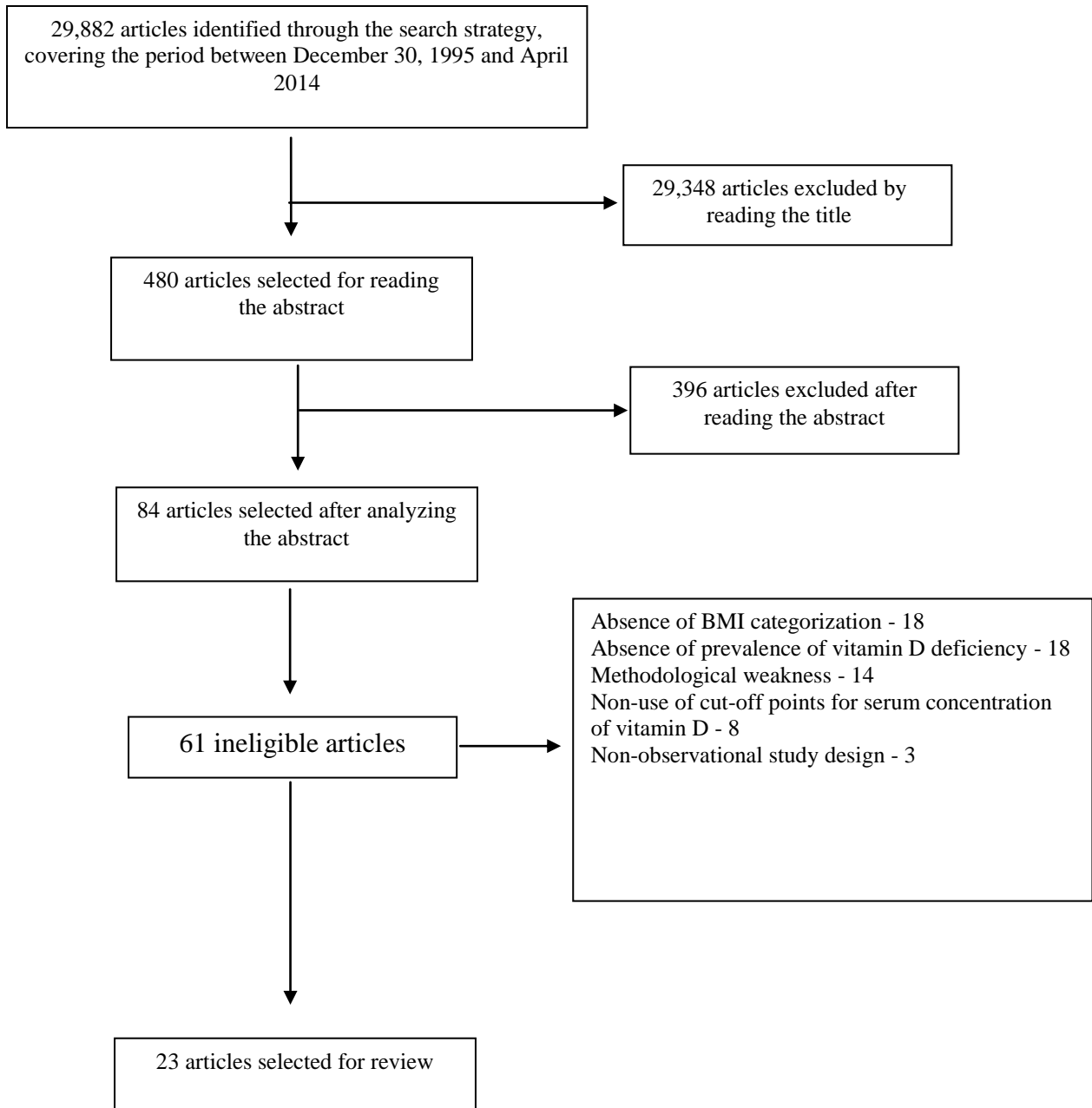
12. Parker J, Hashmi O, Dutton D, Mavrodaris A, Stranges S, Kandala N-B, et al. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: Systematic review and meta-analysis. *Maturitas* 2010;**65**:225-36.
13. Saneei P, Salehi-Abargouei A, Esmailzadeh A. Serum 25-hydroxy vitamin D levels in relation to body mass index: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2013;**14**:393-404.
14. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med* 2009;**151**:264-9, w64.
15. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;**62**:265-81.
16. Harris R, Bradburn M, Deeks J, Harbord R, Altman D, Sterne J. metan: fixed- and random-effects meta-analysis. *Stata J* 2008;**8**:3-28.
17. Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 2002; **21**: 1539-58.
18. Nesby-O'Dell S, Scanlon KS, Cogswell ME, Gillespie C, Hollis BW, Looker AC, et al. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 2002;**76**:187-92.
19. Holvik K, Meyer HE, Haug E, Brunvand L. Prevalence and predictors of vitamin D deficiency in five immigrant groups living in Oslo, Norway: the Oslo Immigrant Health Study. *Eur J Clin Nutr* 2005;**59**:57-63.
20. Rockell JE, Green TJ, Skeaff CM, Whiting SJ, Taylor RW, Williams SM, et al. Season and ethnicity are determinants of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in New Zealand children aged 5-14 y. *J Nutr* 2005;**135**:2602-8.
21. Bischof MG, Heinze G, Vierhapper H. Vitamin D status and its relation to age and body mass index. *Horm Res* 2006;**66**:211-5.

22. Hypponen E, Power C. Vitamin D status and glucose homeostasis in the 1958 British birth cohort: the role of obesity. *Diabetes Care* 2006;**29**:2244-6.
23. Cizmecioglu FM, Etiler N, Gormus U, Hamzaoglu O, Hatun S. Hypovitaminosis D in obese and overweight schoolchildren. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2008;**1**:89-96.
24. Tseng M, Giri V, Bruner D, Giovannucci E. Prevalence and correlates of vitamin D status in African American men. *BMC Public Health* 2009; **9**:191.
25. Elizondo-Montemayor L, Ugalde-Casas PA, Serrano-Gonzalez M, Cuello-Garcia CA, Borbolla-Escoboza JR. Serum 25-hydroxyvitamin d concentration, life factors and obesity in Mexican children. *Obesity (Silver Spring )* 2010;**18**:1805-11.
26. Hyppönen E, Berry D, Cortina-Borja M, Power C. 25-Hydroxyvitamin D and Pre-Clinical Alterations in Inflammatory and Hemostatic Markers: A Cross Sectional Analysis in the 1958 British Birth Cohort. *PLoS One* 2010;**5**:e 10801.
27. Al-Sultan AI, Amin TT, Abou-Seif MA, Al Naboli MR. Vitamin D, parathyroid hormone levels and insulin sensitivity among obese young adult Saudis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011;**15**:135-47.
28. Forrest KYZ, Stuhldreher WL. Prevalence and correlates of vitamin D deficiency in US adults. *Nutr Res* 2011;**31**:48-54.
29. Khor G, Chee W, Shariff Z, Poh B, Arumugam M, Rahman J, et al. High prevalence of vitamin D insufficiency and its association with BMI-for-age among primary school children in Kuala Lumpur, Malaysia. *BMC Public Health* 2011;**11**:95.
30. Sacheck J, Goodman E, Chui K, Chomitz V, Must A, Economos C. Vitamin D deficiency, adiposity, and cardiometabolic risk in urban schoolchildren. *J Pediatr* 2011;**159**:945-50.

31. Daly RM, Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Sikaris KA, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and its determinants in Australian adults aged 25 years and older: a national, population-based study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;**77**:26-35.
32. Guasch A, Bullo M, Rabassa A, Bonada A, Del Castillo D, Sabench F, et al. Plasma vitamin D and parathormone are associated with obesity and atherogenic dyslipidemia: a cross-sectional study. *Cardiovasc Diabetol* 2012;**11**:149.
33. Khan AH, Iqbal R, Naureen G, Dar FJ, Ahmed FN. Prevalence of vitamin D deficiency and its correlates: results of a community-based study conducted in Karachi, Pakistan. *Arch Osteoporos* 2012;**7**:275-82.
34. Minambres I, Sanchez-Hernandez J, Sanchez-Quesada JL, Rodriguez J, de Leiva A, Perez A. 5. *ISRN Endocrinol* 2012; **2012**: 691803.
35. Olson ML, Maalouf NM, Oden JD, White PC, Hutchison MR. Vitamin D deficiency in obese children and its relationship to glucose homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; **97**:279-85.
36. Thuesen B, Husemoen L, Fenger M, Jakobsen J, Schwarz P, Toft U, et al. Determinants of vitamin D status in a general population of Danish adults. *Bone* 2012;**50**:605-10.
37. Damasiewicz MJ, Magliano DJ, Daly RM, Gagnon C, Lu ZX, Sikaris KA, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D deficiency and the 5-year incidence of CKD. *Am J Kidney Dis* 2013;**62**:58-66.
38. Santos BR, Mascarenhas LP, Boguszewski MC, Spritzer PM. Variations in the vitamin D-binding protein (DBP) gene are related to lower 25-hydroxyvitamin D levels in healthy girls: a cross-sectional study. *Horm Res Paediatr* 2013;**79**:162-8.
39. Turer CB, Lin H, Flores G. Prevalence of vitamin D deficiency among overweight and obese US children. *Pediatrics* 2013;**131**:e152-61.

40. Larose TL, Chen Y, Camargo CA, Langhammer A, Romundstad P, Mai X-M. Factors associated with vitamin D deficiency in a Norwegian population: the HUNT Study. *J Epidemiol Community Health* 2014;**68**:165-70.
41. World Health Organization. Obesity and overweight. 2006:[http://www.mclveganway.org.uk/Publications/WHO\\_Obesity\\_and\\_overweight.pdf](http://www.mclveganway.org.uk/Publications/WHO_Obesity_and_overweight.pdf).
42. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006;**116**:2062-72.
43. McGrath J. Does 'imprinting' with low prenatal vitamin D contribute to the risk of various adult disorders? *Med Hypotheses* 2001;**56**:367-71.
44. Palomer X, Gonzalez-Clemente JM, Blanco-Vaca F, Mauricio D. Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab* 2008;**10**:185-97.
45. Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson MG, Keyes MJ, McCabe EL, et al. Adiposity, cardiometabolic risk, and vitamin D status: the Framingham Heart Study. *Diabetes* 2010;**59**:242-8.
46. Wood RJ. Vitamin D and adipogenesis: new molecular insights. *Nutr Rev* 2008;**66**:40-6.
47. Martini LA, Wood RJ. Vitamin D status and the metabolic syndrome. *Nutr Ver* 2006;**64**:479-86.



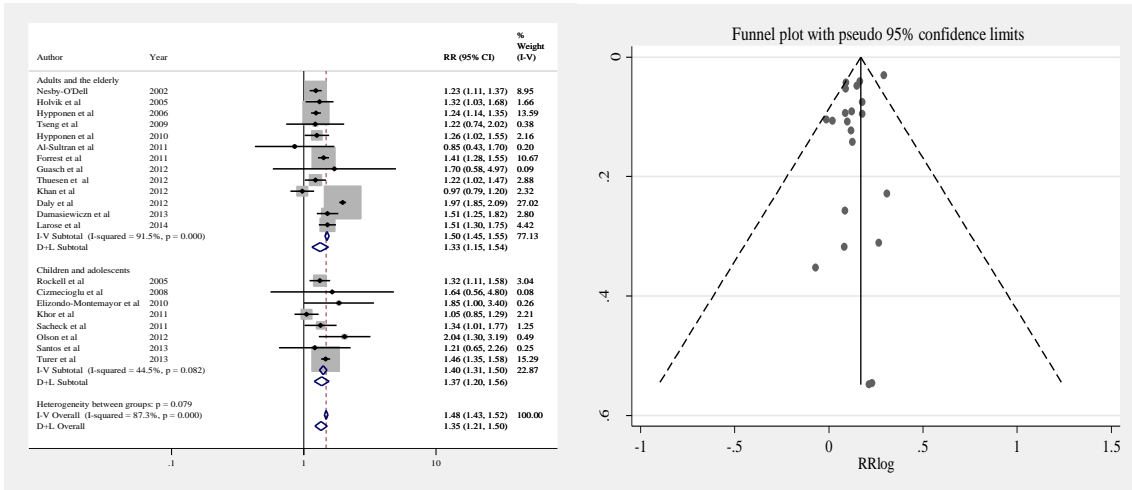


**Figure 1.** Flowchart for article selection

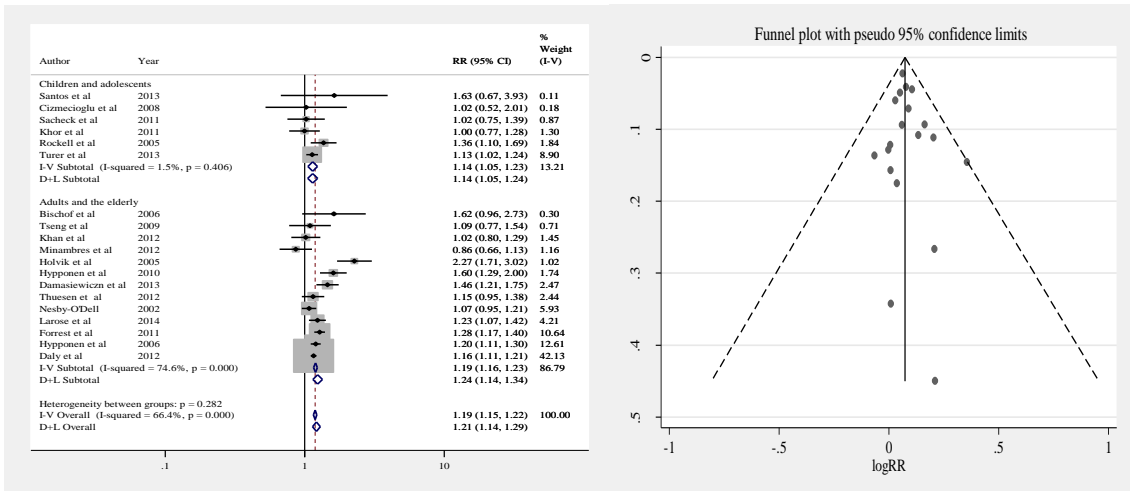
First author	Year	Country	Design	Age-Range, mean (DP)	N	Obese (%)	Method used for assessing serum 25(OH)D level	Vitamin D deficiency (nmol/l)
Nesby-O'Dell <sup>18</sup>	2002	US	Cohort	15-49	2835	718 (25,32)	RIA	37,5
Holvik et al <sup>19</sup>	2005	Norway	Cross-sectional	31-60	1000	157 (15,7)	RIA	25
Rockell et al <sup>20</sup>	2005	New Zealand	Cross-sectional	15-85	1585	288 (18,17)	RIA	37.5
Bischof et al <sup>21</sup>	2006	Austria	Cross-sectional	48.2 (16)	483	286 (59,21)	RIA	22
Hyppönen et al <sup>22</sup>	2006	England	Cohort	45	7198	1214 (16,87)	Enzyme immunoassay	50
Çizmecioğlu et al <sup>23</sup>	2008	Turkey	Cross-sectional	11-19	301	102 (33,8)	Immundiagnostic	50
Tseng et al <sup>24</sup>	2009	US	Cross-sectional	49,6 (8.4)	194	50 (25,77)	CLIA	37.5
Elizondo-Montemayor et al <sup>25</sup>	2010	Mexico	Cross-sectional	6-12	198	99 (50,00)	Competitive immunoluminometric direct assay	50
Hyppönen et al <sup>26</sup>	2010	England	Cohort	45	6538	1440 (22,00)	ELISA	25
Al-Sultran et al <sup>27</sup>	2011	Saudi Arabia	Case-control	18 -25	160	76 (47,50)	HPLC	37.5
Forrest et al <sup>28</sup>	2011	US	Cross-sectional	20-80	4495	1563 (34,77)	RIA	50
Khor et al <sup>29</sup>	2011	Malaysia	Cross-sectional	7-12	402	66 (16,42)	Diaspora Liason	37.5
Sacheck et al <sup>30</sup>	2011	US	Cross-sectional	11.7 (1,5)	263	65 (24,11)	RIA	50
Daly et al <sup>31</sup>	2012	Australia	Cross-sectional	48 (15,7)	12188	2456 (20,15)	CLIA	50
Guasch et al <sup>32</sup>	2012	Spain	Cohort	46.85	316	90 (28,48)	Electrochemiluminescence immunoassay	25
Khan et al <sup>33</sup>	2012	Pakistan	Cross-sectional	32.68 (8,3)	275	132 (48,00)	Electrochemiluminescence immunoassay	50
Minambres et al <sup>34</sup>	2012	Spain	Cross-sectional	42 (11)	343	151 (44,02)	RIA	50
Olson et al <sup>35</sup>	2012	US	Cross-sectional	11.7 (2.6)	498	411 (82,53)	Chemiluminescent immunoassay	50
Thuesen et al <sup>36</sup>	2012	Denmark	Cross-sectional	18-65	5447	913 (16,76)	HPLC	25
Damasiewicz et al <sup>37</sup>	2013	Australia	Cohort	50.6 (12.3)	5,738	1188 (20,70)	CLIA	37,5
Santos et al <sup>38</sup>	2013	Brazil	Cross-sectional	13.17 (1.7)	198	18 (9,09)	RIA	54
Turer et al <sup>39</sup>	2013	US	Cross-sectional	6- 18	12292	1897 (15,43)	RIA	50
Larose et al <sup>40</sup>	2014	Norway	Cross-sectional	19-55	2498	300 (12,01)	CLIA	50

**Table 1.** Characteristics of selected studies investigating the association between obesity and vitamin D deficiency

US - The United States of America ,SD-standard deviatio - RIA radioimuniensaio, CLIA chemiluminescence immunoassay, ELISA- enzyme-linked immunosorbent assay, HPLC- High-performance liquid chromatography



**Figure 2.** Prevalence ratio and funnel plot of the association between vitamin D deficiency in obese individuals and eutrophic individuals.



**Figure 3.** Prevalence ratio of the association between vitamin D deficiency in obese and overweight individuals.

## **APÊNDICE**

### **PROJETO DE QUALIFICAÇÃO**



Universidade Federal da Bahia  
Escola de Nutrição  
Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde - PPGANS

MARCOS PEREIRA SANTOS

**CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE VITAMINA D NA GESTAÇÃO E PESO AO  
NASCER: UM ESTUDO DE COORTE**

**Área de Concentração:** Epidemiologia dos Distúrbios Nutricionais e Políticas Públicas

Orientadora: Profa. Dra. Ana Marlúcia Oliveira Assis

Co-orientador: Dr. Djanilson Barbosa dos Santos

Salvador- Bahia, 2013

## SUMÁRIO

1.1.	APRESENTAÇÃO .....	55
1.2.	LISTA DE ABREVIATURAS .....	56
1.3.	INTRODUÇÃO .....	57
1.4.	QUADRO TEÓRICO .....	58
1.4.1	Fisiologia da vitamina D .....	61
1.4.2	Fatores associados à insuficiência e deficiência de vitamina D .....	65
1.4.3	Vitamina D na gestação .....	74
1.5.	OBJETIVO .....	76
1.5.1	Geral .....	76
1.5.2	Específico .....	77
1.6.	CONSIDERAÇÕES TEÓRICO-METODOLÓGICAS .....	77
1.6.1	Perguntas de investigação e hipóteses .....	77
1.6.2	Desenho e Local de Estudo .....	78
1.6.3	Amostra de Estudo .....	79
1.6.4	Critérios de Inclusão e Exclusão .....	79
1.6.5	Delineamento da Coleta de Dados.....	79
1.6.6	Coleta de sangue do cordão umbilical.....	84
1.6.7	Análise Estatística .....	85
1.6.8	Questões Éticas.....	94
1.6.9	Cronograma Preliminar .....	94
1.7.	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>96</b>

## ***1.1.APRESENTAÇÃO***

Este estudo objetiva avaliar a influência das concentrações séricas de vitamina D durante a gestação sobre o peso ao nascer. A introdução apresenta um panorama teórico e epidemiológico, destacando-se o resgate histórico de estudos que enfocam a vitamina D, com destaque para os aspectos fisiológicos, metabólicos, os fatores de risco associados à insuficiência e deficiência de vitamina D e o papel fisiológico da vitamina D na gestação. Na abordagem metodológica apresenta-se a teorização científica, a caracterização e o cenário dos estudos e os aspectos analíticos, bem como a logística do seguimento do estudo. Na primeira etapa da pesquisa estrutura do estudo descreve-se logística da captação amostra, cuja operacionalização ocorrerá entre as gestantes que frequentam os serviços de saúde e a produção dos dados nesta fase, na segunda etapa descreve-se a coleta sanguínea que realizar-se-á no segundo ou terceiro trimestre gestacional e, na última etapa, descreve-se a coleta sanguínea no cordão umbilical e aferição do desfecho deste estudo, o peso ao nascer. Posteriormente, são apresentados os planos de análise dos dados que buscam responder aos objetivos do estudo: o primeiro intitula-se “Concentrações séricas de vitamina D em gestantes e fatores associados” e o segundo: “Concentrações séricas de vitamina D na gestação e peso ao nascer”. Nesta seção contemplam-se também as questões éticas do estudo e cronograma de atividades. Nos anexos, disponibiliza-se o fluxograma para identificação da gestante na maternidade e coleta sanguínea e o questionário aplicado as gestantes. Espera-se com este estudo contribuir na produção de conhecimento e fornecer subsídios para a prevenção da insuficiência/ deficiência de vitamina D em gestantes e recém-nascidos.

## ***1.2.LISTA DE ABREVIATURAS***

1,25(OD)2D - calcitriol- forma ativa da vitamina D

25OHD3 - calcidiol- forma inativa da vitamina D

PTH - Paratormônio

rpm - rotações por minuto

UI -Unit International

UVB - Radiação Ultra Violeta B

VDR- Receptor de Vitamina D

μ - micro

> maior

≥ maior ou igual

< menor

≤ menor ou igual

% porcentagem

Insuficiência de vitamina D- diminuídas concentrações séricas de 25OHD3

Deficiência de vitamina D- manifestação clínica de sintomas



### **1.3.INTRODUÇÃO**

As evidências epidemiológicas disponíveis indicam que os fatores pré-gestacionais, o ambiente intrauterino, o crescimento e desenvolvimento fetal são importantes preditores de doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta (Backer, 2004). Neste sentido, o adequado estado nutricional na gestação pode assegurar a saúde em fases posteriores da vida.

É consenso que dentre os fatores nutricionais, os macro e micronutrientes participam ativamente da regulação do crescimento fetal. Dentre os micronutrientes, destaca-se a vitamina D, ou colecalciferol, essencial, entre outros processos, na homeostase do cálcio e mineralização óssea, e, portanto, imprescindível para o crescimento fetal e infantil (Pludowski et al, 2013).

Na última década têm-se observado crescente produção científica sobre as influências desta vitamina nos desfechos gestacionais. Estudos têm registrado associação entre deficiência da vitamina D sérica e resultados adversos à saúde tanto das gestantes, a exemplo da ocorrência de pré-eclampsia e diabetes gestacional, quanto dos recém-nascidos, como o baixo peso ao nascer e a prematuridade. Em períodos mais avançados da infância registra-se também associação com asma, alergias e diminuição na densidade óssea (Liu, Hewison, 2011). Todavia, as informações sobre insuficiência de vitamina D e peso ao nascer, ainda expressam importante lacuna do conhecimento. Embora já tenha sido registrado associação estatisticamente significativa entre concentração sérica insuficiente de vitamina D e ocorrência de baixo peso ao nascer (Aghajafari et al, 2013; Bowyer et al, 2009; Gale et al, 2008; Leffelaar et al, 2010). São registradas também ausência desta associação entre estes eventos.

Neste sentido, no Reino Unido Javaid et al (2006) estudaram 198 gestantes e recém-nascidos e não identificaram associação entre deficiência de vitamina D materna peso e comprimento ao nascer e níveis séricos de cálcio no sangue do cordão umbilical. Mas, estes autores

observaram impacto tardio da deficiência de vitamina D, aos nove anos de idade quando as crianças foram submetidas à avaliação óssea corporal e da coluna lombar por absorciometria de dupla emissão de raios-X, sendo registrado reduzido conteúdo mineral ósseo total ( $r = 0,21$ ,  $p = 0,0088$ ) e lombar ( $r = 0,17$ ,  $p = 0,03$ ) de crianças que foram expostas à deficiência de vitamina D no período fetal, quando comparadas aquelas cujas gestantes não apresentaram a deficiência desta vitamina.

Estes resultados ressaltam a importância da vitamina D como micronutriente imprescindível para a saúde fetal. Segundo o estudo de Kovacs (2011) a suplementação de vitamina D durante a gravidez, aumenta as concentrações séricas da 25(OH)D no cordão umbilical de recém-nascidos. Assim, resultados não consensuais sobre a deficiência de vitamina D na gestação e a relação com o tamanho ao nascer sustentam a necessidade de realização de estudos sobre estes eventos.

Parcela vitamina D neste grupo são elevadas, como observaram Sachan et al (2005) em investigação realizada na Índia. Neste estudo foi identificado que 80% das gestantes e 95% dos recém-nascidos apresentaram insuficiência de vitamina D.

Portanto, a realização de estudos que identifiquem a relação entre o estado nutricional de vitamina D em gestantes e peso dos recém-nascidos fornecerá subsídios para a adoção de estratégias de prevenção primária da insuficiência/deficiência de vitamina D na gestação e a adequação do peso ao nascer.

#### ***1.4. QUADRO TEÓRICO***

A vitamina D pertence ao grupo das vitaminas lipossolúveis. Os processos metabólicos e patológicos relacionados a esta vitamina são descritos na literatura desde o século XV (Peters, 2009). As evidências das manifestações clínicas da deficiência de vitamina D foram construídas a partir de estudos em humanos e animais. As primeiras pesquisas

enfocavam a associação entre indicadores clínicos da deficiência de vitamina D e metabolismo ósseo, especificamente, o raquitismo (Bouillon et al, 2008).

Dentre as pesquisas clínicas da deficiência da vitamina D, registra-se a primeira tese sobre raquitismo publicada em 1645, por Daniel Whistler, médico da Universidade de Lugdunum Batavorum, que estudou os aspectos clínicos dessa doença (Bouillon et al, 2008). No entanto, o princípio etiológico do raquitismo ainda não era conhecido.

As funções da vitamina D para a saúde humana foram descritas inicialmente na Europa durante a Revolução Industrial, quando as famílias imigraram da zona rural para as cidades industrializadas da Inglaterra, na busca de trabalhos em fábricas. As dietas de parcela desta população eram compostas por alimentos de baixo teor de vitamina D, normalmente integrada por grãos. Além disso, esta região estava submetida à escassez de luz solar durante muitos meses do ano. Por conseguinte, era observada elevada prevalência de raquitismo nas crianças europeias (National Academy Of Sciences, 2003). Estima-se que, nesta época, a prevalência de raquitismo variou de 40% a 60% entre as crianças residentes em áreas urbanas populosas (Tom et al, 2011). Associa-se a estes fatores a elevada poluição atmosférica gerada por indústrias, o que reduziria a disponibilidade de radiação solar e, por conseguinte, menor ativação do precursor cutâneo da vitamina D, favorecendo a deficiência desta vitamina e ocorrência de doenças ósseas.

No início do século XIX foi reconhecido que a exposição humana ao sol, durante algumas horas por dia, melhorava e evitava a ocorrência de raquitismo. Por volta de 1870, os óleos naturais foram incorporados o esquema do tratamento do raquitismo grave quando apenas a exposição solar não era suficiente para assegurar a regressão do quadro clínico devido à deficiência grave de vitamina D (Rodrigues, 2004). Neste caso, a suplementação da vitamina procedente de fontes dietéticas fazia-se necessário para melhora clínica do distúrbio nutricional.

No século XX, Finsen conquistou o prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina ao formular a teoria de que a helioterapia era extremamente eficaz no tratamento não apenas do raquitismo, como também da tuberculose cutânea.

Em 1915, Hoffman comparou a mortalidade por câncer em indivíduos que viviam em cidade com diferentes latitudes e demonstrou que quanto maior a distância do Equador (latitude 0) maior era a taxa de mortalidade, indicando a possibilidade de tais eventos estarem relacionados a elevada latitude, que possibilita menor incidência solar e consequentemente aumento da prevalência de deficiência de vitamina D na população (Holick, 2010).

Posteriormente, em 1919, o médico britânico, Edward Mellanby, reproduziu o raquitismo em cães, mantendo-os em ambiente fechado, sem exposição solar e alimentando-os com dieta restrita em nutrientes, composta de farinha de aveia. Na segunda fase do experimento Mellanby acrescentou óleo de fígado de bacalhau na dieta dos cães e observou que possíveis nutrientes lipossolúveis do óleo atuava na prevenção e melhora do raquitismo, corrigindo as deficiências nutricionais dos animais. Além disso, Mellanby questionava se a melhora do quadro clínico dos cães ocorreu devido à presença da vitamina A, recém-descoberta ou em virtude da existência de outro nutriente essencial no óleo de fígado de bacalhau, mais tarde reconhecido como vitamina D, mas ainda desconhecido nesta época (National Academy Of Sciences, 2003).

O bioquímico norte americano, McCollum em experimento realizado em 1922, identificou o efeito antirraquítico do óleo de fígado de bacalhau, nomeando esse composto essencial, até então, desconhecido de vitamina D (DeLuca, 2008).

Seis anos após a descoberta da vitamina D, Windaus ganhou o prêmio Nobel de Química por identificar o precursor cutâneo da vitamina D, o 7-deidrocolesterol Windaus também identificou a vitamina D<sub>2</sub> (ergosterol) e a estrutura química da vitamina D<sub>3</sub> (1,25-diidroxicolecalciferol) (Windaus, 1928) . Tais descobertas levaram à fortificação do leite em

1932 e outros alimentos com vitamina D, no intuito de prevenir a ocorrência de doenças ósseas na população (Windaus, 1928).

Passadas décadas ainda existem lacunas em alguns aspectos da epidemiologia dos distúrbios nutricionais da vitamina D. Os estudos têm se mostrado profícuo, em especial aqueles voltados para a homeostase sistêmica desta vitamina. Desta forma, identifica-se, na atualidade, expressivo número de estudos sobre aspectos moleculares da fisiologia da vitamina D e o impacto da deficiência desta vitamina no sistema hormonal e na saúde dos indivíduos (Castro, 20011).

Nesse âmbito, estudos epidemiológicos identificam a insuficiência de vitamina D na etiologia de doenças crônicas e endócrino-metabólicas, eventos de elevada prevalência no atual cenário de transição epidemiológica e nutricional brasileira, independente da idade, etnia e da localização geográfica de grupos populacionais (Van & Lips, 2011; Hagenau, 2009).

#### ***1.4.1 Fisiologia da vitamina D***

A vitamina D é considerada um hormônio esteroide por algumas correntes científicas. Para outras esta é de fato uma vitamina. A primeira corrente de natureza fisiológica integra a vitamina D dentre a categoria de hormônio, por esta atuar na transcrição gênica, na secreção hormonal e regular a função celular em diversos tecidos (Rodrigues, 2003). A segunda, de natureza bioquímica, justifica-se no fato de que vitaminas não são sintetizadas pelo organismo humano, entretanto, o fato deste princípio nutricional ser fotossintetizado ao expor à pele a luz solar, fragiliza esta teoria. Acrescenta-se ainda que este micronutriente é obtido de diferentes fontes dietéticas, caracterizando-o como uma vitamina.

O conhecimento das bases fisiológicas e bioquímicas indica que a vitamina D é encontrada na forma de ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>), biodisponível em alimentos de origem vegetal e na forma de colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), biodisponível em alimentos de origem animal e suplementos e produzida a partir da fotoprodução que ocorre no tecido epitelial

subcutâneo. Ambas as formas podem ser utilizadas como suplemento (Thacher,Clarke, 2011). Estima-se que 80 a 90% da vitamina D do organismo humano sejam provenientes da síntese cutânea do 7-dehidocolesterol e o restante é fornecido pelos alimentos. As fontes mais expressivas do colecalciferol são manteiga, queijo, ovos, fígado e o óleo de peixe, enquanto o ergosterol está presente nos fungos comestíveis, a exemplo de cogumelos (Holick, 2004).

A fotoprodução da vitamina D<sub>3</sub> encontra-se esquematizada na figura 1. A ativação desta vitamina inicia-se no tecido epitelial, com a síntese da molécula de ester, o 7-dehidocolesterol. Esse metabolito é produzido na pele dos seres humanos em grandes quantidades e é incorporado à bicamada lipídica da membrana plasmática de células na derme e epiderme. A primeira transformação do 7-dehidroxicolesterol ocorre quando a pele é exposta à luz solar UVB numa instância de 230 e 315 nanômetros, com a abertura do segundo núcleo, entre os carbonos 9 e 10, originando a pré-vitamina D<sub>3</sub>. Uma vez formada, esta pré- vitamina, sob indução térmica, origina homodímeros em aproximadamente 24 horas, transformando-se em vitamina D<sub>3</sub> (Rodrigues, 2002; Holik, 2004; Tsiaras,Weinstock, 2011).

Durante a exposição à radiação UVB prolongada, geralmente proveniente do sol, o organismo atinge o estado de equilíbrio metabólico de pré-vitamina D<sub>3</sub> e esta se transforma em fotoprodutos biologicamente inativos (lumisferol e taquisterol). Em casos de exposição UVB prolongada, apenas 10-15% do 7-dehidroxicolesterol é convertido em pré-vitamina D<sub>3</sub> (Holick, 1995) Dessa forma, este mecanismo de foto regulação permite que a pele, quando exposta ao sol por longos períodos, não sintetize a vitamina D<sub>3</sub> em concentrações tóxicas (Holick, 2004).

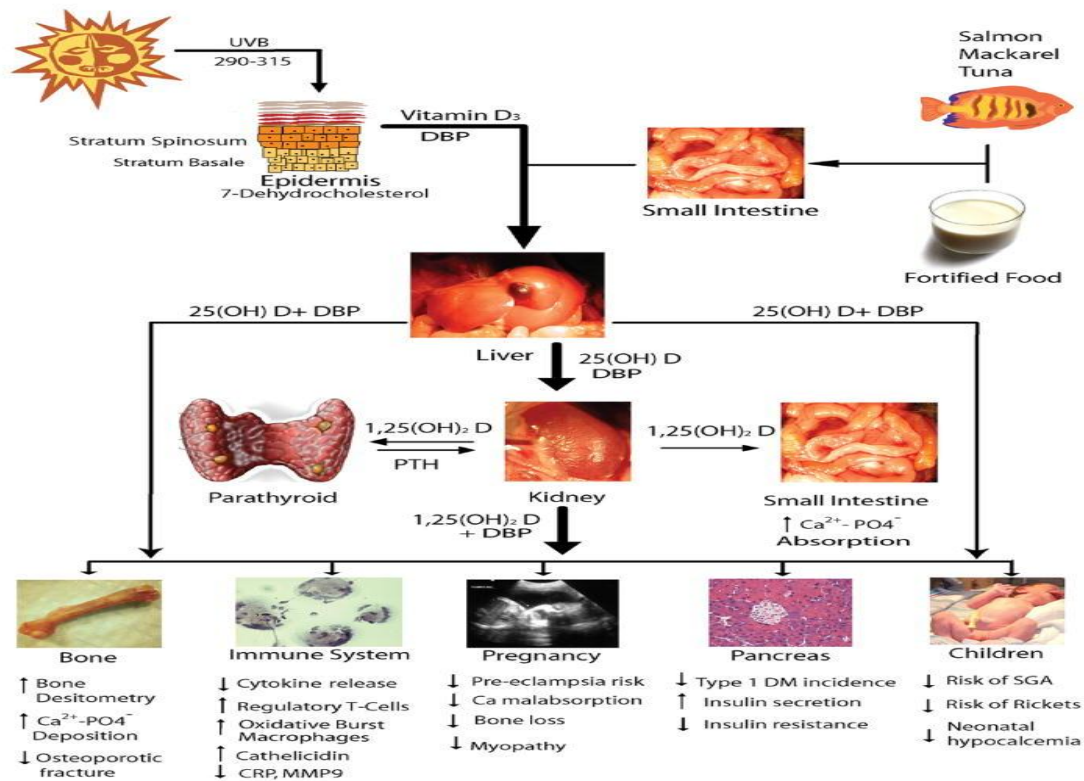
Após a síntese cutânea, a vitamina D<sub>3</sub> atinge a circulação e é transportada para o fígado, unida à proteína carreadora da vitamina D (DBP, *vitamin D binding protein*) ou ligada à albumina.

O processo de ativação da vitamina D envolve duas hidroxilações em diferentes tecidos. A primeira ocorre no fígado, quando a vitamina D<sub>3</sub> é convertida em 25-hidroxivitamina D - 25(OH)D<sub>3</sub>, também denominado calcidiol, pela hidroxilação do carbono 25. Essa reação é mediada pela enzima 25-hidroxilase presente no retículo endoplasmático dos hepatócitos e posteriormente, o 25(OH)D<sub>3</sub> é liberada na corrente sanguínea.

A segunda hidroxilação ocorre principalmente nos túbulos renais proximais, mas também em outros tecidos, como o mamário, o prostático e o colón. A enzima 1- $\alpha$ ,hidroxilase (CYP27B1) converte a 25(OH)D<sub>3</sub> em 1 $\alpha$ ,25dihidroxivitamina D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, forma ativa), também denominada de calcitriol. A produção desse metabólito é controlada principalmente pela concentração de paratormônio (PTH), cálcio e fósforo séricos (Such, 2009).

O colecalciferol e ergocalciferol provenientes da dieta são absorvidos no intestino delgado juntamente com ésteres de colesterol. Após a absorção, a vitamina D é incorporada nos quilomícrons e transportada para a circulação via sistema linfático. A partir deste momento, o metabolismo é igual ao da vitamina D<sub>3</sub> sintetizada na pele (Holick, 1999).

A concentração sérica de 25(OH)D reflete o fornecimento de metabólitos da vitamina D tanto da dieta, como da síntese cutânea, então este metabólito é utilizado como indicador do estado nutricional de vitamina D nos indivíduos, pois a meia-vida da 25(OH)D é de duas a três semanas, enquanto a 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> é biodisponível por aproximadamente seis horas e pode ser inativada por diversos fatores, a exemplo do uso de drogas e distúrbios endócrino-metabólicos.



**Figura 1:** Metabolismo da vitamina D e as ações no organismo humano. **Fonte:** Mulligan et al (2010).

A vitamina D ativa,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , participa da regulação da transcrição de genes em diversos tecidos do organismo humano por meio da ligação com o fator de transcrição nuclear conhecido como VDR (*vitamin D receptor*), expresso em quase todas as células humanas. Esse receptor apresenta em sua estrutura, domínios específicos para o acoplamento da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ .

Nos diferentes tecidos dos órgãos, a exemplo do rim, glândulas paratireoides, intestino e osso, a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , ligada a proteína carreadora da vitamina D na corrente sanguínea é conduzida as células, penetra na membrana celular e se associa ao VDR. Posteriormente, essa molécula liga-se ao receptor do retinoíde X (RXR), formando-se o complexo transcricional  $1,25(\text{OH})_2\text{D-VDR-RXR}$  (Rochel et al, 2000). Esse heterodímero acopla-se a sequência específica do DNA nos seus genes-alvos, denominada VDRE (*vitamin D response element*).



Inicia-se, dessa forma, a cascata de interações moleculares que modulam a transcrição de genes específicos.

Há evidências de que 3% do genoma humano seja regulado pela  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Bouillon et al, 2008). Segundo Norman (2008) a vitamina D pode regular mais de 60 genes situados em diferentes tecidos do organismo.

As funções clássicas da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  estão relacionadas com o desenvolvimento e manutenção fisiologia osteomineral, em especial a homeostase normal do cálcio e do fósforo. No entanto, recentemente têm-se investigado outras funções não clássicas dessa vitamina, a exemplo da regulação dos processos de multiplicação e divisão celular, modulação de reações do sistema imunológico e síntese de interleucinas inflamatórias, síntese e secreção da insulina, controle da pressão arterial e também na regulação e desenvolvimento de funções cerebrais (Castro, 2011).

#### ***1.4.2 Fatores associados à insuficiência e deficiência de vitamina D***

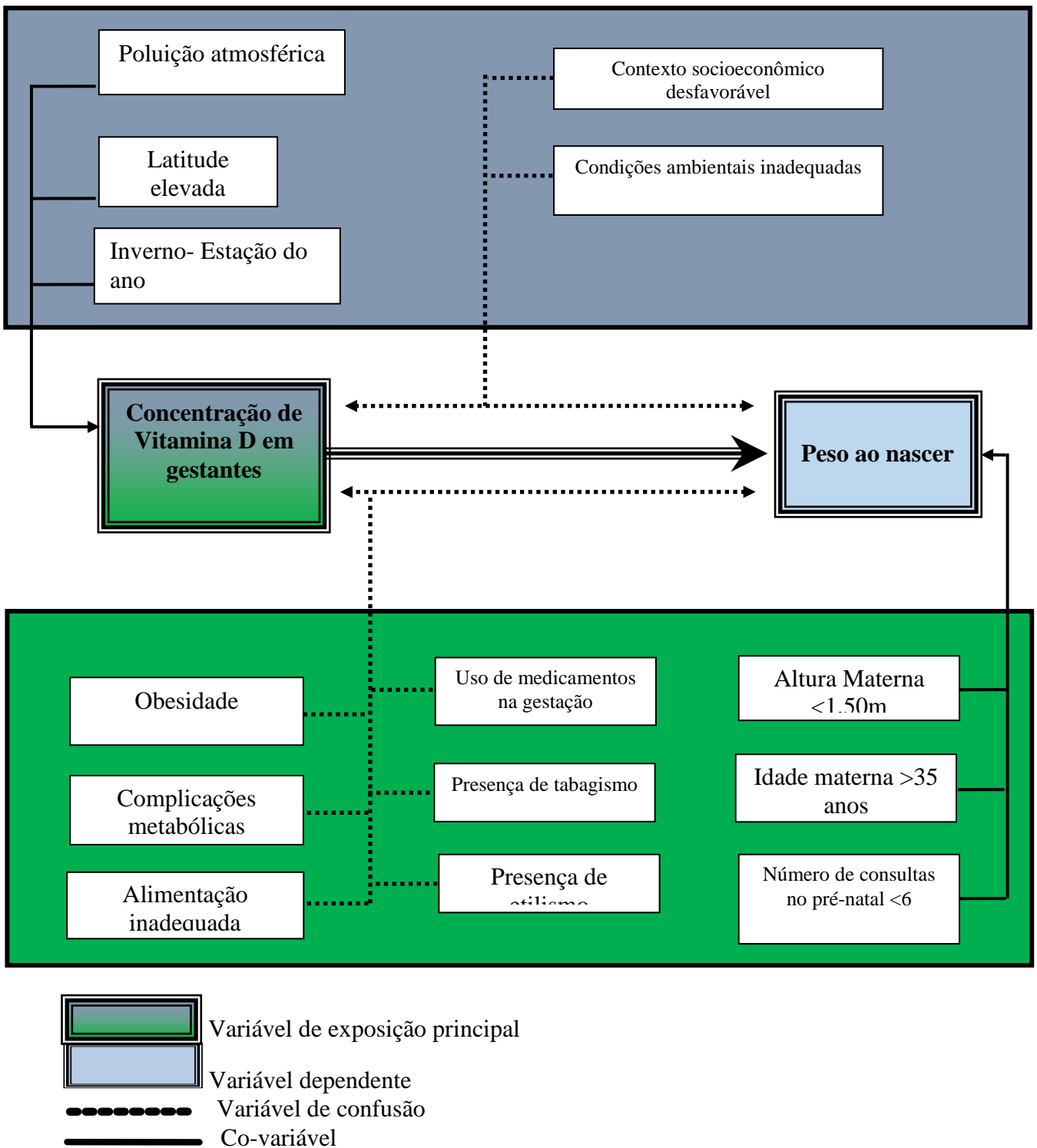
As evidências científicas indicam que diversos fatores podem estar associados à concentração de vitamina D sérica na gestação. Alguns deles de ordem ambiental e outros diretamente relacionados ao indivíduo, podendo influenciar na disponibilidade da concentração sérica de vitamina D e interferir nos processos fisiológicos, os quais se associam ao peso ao nascer, conforme esquematizado na figura 2.

A estação do ano, latitude, período do dia, nível de poluição atmosférica são fatores que influenciam a síntese cutânea de vitamina D. Durante o verão, a ativação do 7-dehidocolesterol cutâneo é mais acentuada, devido ao aumento da disponibilidade solar e intensidade dos raios ultravioleta. Em regiões de baixa latitude, a síntese cutânea pode ser elevada devido a maior incidência de raios UVB. No entanto, reduzidas concentrações séricas

de vitamina D são encontradas em populações de países de clima tropical, como o Brasil (Holick, 2004; Saraiva et al, 2007).

Por outro lado, deve-se considerar que o inverno *per si* é um importante fator de risco para deficiência de vitamina D. Pesquisa realizado em São Paulo, com adultos registrou após o inverno concentração mediana de 25(OH)D<sub>3</sub> de 21,4 ng/mL e prevalência de hipovitaminose D em 77,4% neste grupo. Neste estudo, 209 voluntários foram submetidos, no verão, a segunda avaliação das concentrações séricas de vitamina D, identificando-se aumento médio de 10,6 ng/mL (3,7-19,3) na concentração de 25(OH)D<sub>3</sub> e redução significativa na prevalência de hipovitaminose D (Unger et al, 2010).

É importante destacar que o Brasil possui dimensão continental, apresentando latitudes de 5° Norte a 33° Sul, dessa forma a incidência de luz UVB é diferente nas regiões, o que pode favorecer a ocorrência de insuficiência ou deficiência de vitamina D na população dos diversos estados do Brasil, contudo ainda são escassos os estudos sobre a concentração de 25(OH)D<sub>3</sub> na população brasileira (Frota, 2012).



*Figura 2. Modelo de representação teórica entre fatores associados à concentração de vitamina D e peso ao nascer.*

Em relação à associação entre poluição atmosférica concentrações de 25(OH)D<sub>3</sub>, resultados a partir de estudo de coorte realizado na França registraram que a exposição aos poluentes atmosféricos (óxido nítrico- NO<sub>2</sub> e partículas inaláveis - PM<sub>10</sub>), foi preditor de baixas concentrações da vitamina D no cordão umbilical de 375 recém-nascidos (Baiz et al, 2012)..

Aproximadamente 86% dos recém-nascidos apresentaram insuficientes (<30 ng/ml) concentrações de 25(OH)D<sub>3</sub> em 28% deles identificou-se nível compatível com a deficiência (10 ng/ml) desta vitamina. Foram encontradas associações estatisticamente significantes entre exposição ao óxido nítrico (NO<sub>2</sub>) ( $\beta = -0,21, P = 0,0003$ ) e partículas inaláveis (PM<sub>10</sub>) ( $\beta = -0,43, P = 0,004$ ) no terceiro trimestre gestacional e baixas concentrações séricas de vitamina D no cordão umbilical, mesmo após ajuste a potenciais fatores de confusão - idade materna, história materna de alergia, tabagismo materno, o IMC pré-gestacional, o nascimento prematuro e peso ao nascer (Baiz et al, 2012).

A exposição à poluição do ar materna no terceiro trimestre da gestação pode ser compreendida como importante fator de risco para a deficiência de vitamina D em especial pela diminuição da síntese endógena e da oferta dietética desta vitamina que ocorre no último trimestre da gestação, associado ao aumento da demanda metabólica de vitamina D nesse período, quando se intensifica o processo de mineralização do tecido ósseo fetal (Barrett H &McElduff, 2010).

A relação entre poluição atmosférica e reduzidas concentrações de vitamina D em outros grupos populacionais foi identificada. Resultado de estudo transversal realizado na Índia, com 34 crianças de 9-24 meses de idade, registrou que a média de concentração de 25(OH)D em crianças residentes em áreas com elevada poluição atmosférica foram significativamente menores (12,4 ng/ml), quando comparadas àquelas residentes em áreas com menor nível de poluição (27,1 ng/ml) ( $p < 0,001$ ) (Agarwal et al, 2002). Resultado similar foi

também encontrado por Hosseinpanah (2010), que registrou para mulheres de 20 a 55 anos de idade residentes em áreas com elevada poluição chance 5,22 (IC 95%: 2,2-12,2) mais elevada de apresentarem insuficiência de 25(OH)D<sub>3</sub> (<20 ng / ml) quando comparada as mulheres residentes em áreas com reduzida poluição.

A poluição atmosférica pode estar relacionada com a insuficiência de vitamina D por diversos mecanismos. As substâncias tóxicas presentes em ambientes com elevada poluição, provocam aumento do estresse oxidativo e inflamações sistêmicas, que podem causar alteração na capacidade de metabolização hepática da vitamina D (Nicotera et al, 1988). Outra hipótese considera que a exposição à poluição do ar pode diminuir a capacidade de ligação da vitamina D com sua proteína carreadora, a DBP. A DBP livre na corrente sanguínea pode favorecer a ligação de agentes tóxicos da poluição proporcionando à diminuição das concentrações séricas de 25(OH)D (Baiz et al, 2012). É sugerido também que gestantes podem evitar a exposição solar ao ar livre em dias com elevada poluição do ar, o que resulta em menor ativação dos precursores cutâneos da vitamina D (Baiz et al, 2012).

As evidências fisiológicas indicam que os poluentes ambientais podem ser transmitidos via placentária e neste caso podem ocasionar danos morfofuncionais na placenta e, alterar o transporte normal de vitamina D (Kippler et al, 2010).

A insuficiência de vitamina D tem sido também associada à baixa condição socioeconômica de gestantes. Estudo de coorte realizado em Amsterdam (N= 2.274 gestantes) indicou que gestantes de baixa escolaridade apresentaram menores concentrações de 25(OH)D (X= 60.09 nmol/L, DP: 36.83) quando comparadas àquelas de maior escolaridade (X= 68.27 nmol/L, DP: 27.15), e tiveram risco elevado para o baixo peso ao nascer (OR 1,95; IC 95%: 1,20-3,14) (Van den Berg et al, 2013).

Estudo realizado na cidade de São Paulo registrou que a média de 25(OH)D era mais elevada (50,9 nmol/L) entre os indivíduos com maior renda familiar em comparação com aqueles no grupo de menor renda familiar (42,1 nmol / L) (Martini et al, 2013).

Estudos epidemiológicos têm constituído evidências de que a insuficiência de vitamina D nos indivíduos é multicausal. A literatura registra que as causas da hipovitaminose D estão relacionadas à redução da ativação do 7-deidrocolesterol na epiderme, redução da biodisponibilidade, distúrbios metabólicos e uso de medicamentos.

O uso de protetor solar é comumente relacionado com a insuficiência de vitamina D em adultos, por bloquear a ativação cutânea da provitamina D. A aplicação cutânea de protetor solar com fator de proteção solar(FPS) 8 diminui a capacidade de foto produção da vitamina D em 90%; do mesmo modo um FPS 30 reduz a capacidade em 99% (Holick, 2012) No entanto, os estudos de Unger (2009) e Hypponen e Power (2007) demonstraram que o uso de protetor está associado à maior concentração de vitamina D, isso porque geralmente os indivíduos não aplicam o protetor solar em todas as áreas do corpo, o que favorece a fotoprodução de vitamina D.

Em adição, o trabalho e a prática de atividade física em ambiente fechado, com pouca exposição solar, constituem fatores de risco para insuficiência de vitamina D devido à exposição diminuída a raios UVB.

O grau de pigmentação da pele é outro fator limitante para a fotoprodução de vitamina D. Peles negras apresentam reduzida penetração de raios ultravioletas. Resultados de estudos relatam a associação entre a pele negra em uma amostra de gestante e diminuídas concentrações de vitamina D (Burriss et al, 2012; Bodnar et al, 2009). É possível também que em situações de maior a extensão de cobertura do corpo pelo uso de vestimentas diminui a área de exposição solar influenciando negativamente no status de vitamina D no organismo (Premaor & Furlanetto, 2006).

Outro fator atribuído à redução da concentração de vitamina D é o processo de envelhecimento, que contribui para o declínio na concentração cutânea de 7-dehidroxicolesterol. Essa redução ocorre, principalmente pela diminuição de massa total da epiderme, bem como pela diminuição da absorção de vitamina D proveniente da dieta (Premaor & Furlanetto, 2006).

Dados de estudo de intervenção, realizado na com 51 adultos indianos indicam que ao *baseline*, 90% dos participantes apresentaram deficiência grave de vitamina D (<25 nmol/l). O grupo intervenção recebeu exposição UVB 45 minutos (1- 3 vezes / semana) em média durante seis semanas, com uso de roupas casuais, que proporcionava aproximadamente a exposição de 35% superfície da pele. Após a intervenção observou-se a elevação da concentração dos níveis de vitamina D em ( $\geq 25$ nmol/l) de 94% deste grupo (Ferrar et al, 2013).

Resultados de estudos têm indicado que o estado antropométrico é outro importante determinante do status de vitamina D. Dessa forma, indivíduos obesos possuem risco maior de apresentar deficiência de vitamina D, quando comparado aqueles do grupo eutrófico (RP global =1,41; IC95%= 1.34- 1.48) (Pereira-Santos, 2011). Resultados similares são também registrados em gestantes nos Estados Unidos, e no sangue do cordão umbilical nos recém-nascidos de mulheres obesas em comparação com os recém-nascidos de mulheres eutróficas (Bodnar et al; 2007)

A deficiência de vitamina D pode estar relacionada com a obesidade por diferentes mecanismos. Uma das teorias é a de que, por questões de baixa aceitação social, o indivíduo obeso diminui a exposição à luz solar, realiza menor atividade ao ar livre ou usa vestimenta com cobertura mais acentuada do corpo, o que limita a exposição ao sol e conseqüentemente à síntese de vitamina D cutânea. No entanto, estudo baseado na coorte de Framingham avaliando a associação entre obesidade e vitamina D, após ajustes para prática de atividade

física ao ar livre, registrou que essa teoria não é suficiente para explicar a relação entre obesidade e deficiência de vitamina D (Hyppönen, Power, 2007). Assim, diferentes níveis de exposição solar parece ser uma explicação pouco provável para explicar a relação entre deficiência de vitamina D e adiposidade.

Os estudos sugerem o excesso gordura corporal retém os metabólitos desta vitamina e, o colecalciferol produzido na pele ou adquirido por meio da alimentação é parcialmente “sequestrado” pela gordura corporal antes de ser transportado para o fígado para a primeira hidroxilação (Watsman et al, 2000). Além disso, o número expressivo da enzima de ativação da vitamina D, a 1- $\alpha$ -hidroxilase, nas células adiposas, dos obesos justificaria uma maior utilização local da 25(OH)D.

Watsman et al (2000) descrevem que, após a exposição solar, o aumento da concentração sérica de 25(OH)D é 53% menor em obesos quando comparado a indivíduos eutróficos, independente do conteúdo de precursores cutâneos da vitamina D. Por outro lado, alguns dados experimentais sugerem que a deficiência de vitamina D pode favorecer maior adiposidade. Isso porque, a deficiência desta vitamina favorece à elevação nos níveis do hormônio da paratireóide, promovendo o influxo de cálcio nos adipócitos e, assim, aumentando a lipogênese (Wood, 2008). Evidências sugerem que a 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> modula a adipogênese ao inibir os receptores intracelulares de componentes moleculares dependentes de vitamina D que são cruciais na adipogênese (Martini, Wood; 2006). Assim, a depleção dos estoques de vitamina D pode levar a excessiva diferenciação de pré-adipócitos para adipócitos.

O risco de ocorrência da deficiência de vitamina D aumenta quando alterações metabólicas, diminuição da exposição solar, exposição a poluentes ambientais, e cor de pele negra estão associados ao tabagismo, etilismo e uso de medicamentos. Os mecanismos de ação no qual as drogas contribuem para deficiência de vitamina D são semelhantes àqueles



relacionados aos produtos tóxicos presentes no ar de ambientes com elevada poluição atmosférica.

Substâncias químicas presentes no tabaco, a exemplo do alcatrão e nicotina, cádmio, hidroquinonas, tiocianato e nitrosaminas, podem aumentar a produção de metabólitos de espécies reativas de oxigênio (ROS) e, assim, elevar o estresse oxidativo no organismo, principalmente no sistema hepático (Rafacho et al, 2012). Além da produção de ROS, a fumaça de cigarro atenua a defesa do sistema antioxidante, favorecendo, principalmente, a depleção de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase e catalase (Rafacho et al, 2012). Esse aumento do estresse oxidativo pode ocasionar distúrbios no metabolismo hepático e renal da vitamina D.

Outro mecanismo proposto, é o de que indivíduos tabagistas podem acumular metais pesados nos rins, a exemplo do cádmio, o que pode favorecer a inibição da 1- $\alpha$ ,hidroxilase e, por conseguinte diminuição da produção de 1,25(OH) $_2$ D $_3$  (Brot et al, 1999).

O consumo elevado de etanol também pode reduzir a absorção de vitaminas lipossolúveis ou interferir no metabolismo hepático da vitamina D. Além disso, pode ocorrer inibição na ação das enzimas hepáticas, principalmente a 25-hidroxilase que participa do metabolismo desta vitamina. Outro mecanismo postulado é que o etanol aumenta a degradação dos metabólitos da vitamina D por indução do sistema antioxidante citocromo P450 presente no fígado (Wijnia et al, 2013).

A despeito da epidemiologia as discussões realizadas no 22<sup>nd</sup> *Marabou Symposium the changing faces of vitamin D*, ocorrido em Estocolmo, projetou para o ano de 2007, que aproximadamente 1 bilhão de pessoas em todo o mundo apresentariam insuficiência ou deficiência de vitamina D (James, 2008). No entanto, passado a metade de uma década, ainda não se conhece a ocorrência e a distribuição sobre o status da vitamina D na América Latina e continuam escassos os estudos populacionais disponíveis na literatura (Lips, 2010).

### **1.4.3 Vitamina D na gestação**

A gestação é uma fase de suscetibilidade à deficiência de vitamina D, uma vez que a demanda deste micronutriente aumenta não só para suprir as necessidades da própria gestante e manter suas próprias reservas, necessitam também atender as demandas do feto. Conta-se como fator facilitador a o fato da placenta ser altamente permeável à 25(OH)D. Nesta condição os níveis séricos do cordão umbilical de 25(OH)D se situam entre 75% a 100% das concentrações maternas (Fleischman et al, 1980; Hilman & Haddad, 1974; Kovacs et al, 2011).

Na placenta os receptores de sinalização, que incluem o VDR, o RXR, CYP27B1 (1 $\alpha$ -hydroxylase) e a CYP24A1 (24-hydroxylase) torna a 1,25(OH) $_2$ D $_3$  disponível ao feto. Esta vitamina exerce funções fisiológicas no desenvolvimento e crescimento fetal, atuando na regulação e diferenciação celular, no desenvolvimento do sistema imunitário, e cerebral (Liu & Hewison, 2011). Outra função da vitamina D na gestação refere-se ao transporte placentário e a homeostase do cálcio. Portanto, a vitamina D regula o processo de osteogênese fetal e a deficiência desta vitamina na gestação pode comprometer o desenvolvimento e crescimento do feto.

As concentrações séricas fisiológicas da 25(OH)D na gestação estão situadas entre 32ng/mL e 80ng/mL, valores abaixo de 32 ng/mL são classificados como deficientes (Holick, 2007).

A associação entre a deficiência de vitamina D na gestação sobre a saúde materna e infantil tem sido relatada por estudos de revisão da literatura. Nessa direção, Liu e Hewison (2011) discutem-se os principais papéis fisiológicos do estado nutricional relativo à vitamina D sobre a saúde mãe-filho. A revisão relata que a deficiência desta vitamina em gestantes se associa com a ocorrência de pré-eclâmpsia, infecções geniturinárias e diabetes gestacional. No

recém-nascido, registra-se a associação com baixo peso ao nascer e com a prematuridade e em crianças maiores registra-se ainda o raquitismo, osteomalácia e asma. No entanto, esta revisão não apresenta análise estatística que possa acentuar o caráter mais robusto das conclusões.

Mas, resultados de metanálise desenvolvida por Aghajafari et al. (2013) englobando 31 artigos publicados no período de 1980 a 2012, indicam que a deficiência de 25(OH)D em gestantes aumentam as chances em 79% da ocorrência de pré-eclâmpsia (OR:1,79; IC95%: 1,25-2,58) e 49% de diabetes gestacional (OR:1,49; IC 95%: 1,18-1,89).

Os resultados apresentados por essa metanálise indicam também associações com os eventos adversos à saúde dos recém-nascidos. Observou-se que a exposição gestacional a deficiência de vitamina D aumenta em 85% as chances do nascimento pequeno para a idade gestacional (OR: 1,85; IC95%:1,52-2,26). Além disso, destaca-se que quatro dos estudos analisados (Bowyer et al, 2009; Gale et al, 2008; Leffelaar et al, 2010; Morley et al, 2006) registravam que recém-nascidos de mães que tiveram deficiência de vitamina D (25-OHD <37,5 nmol/L) durante a gravidez tinham menor peso ao nascer (média ponderada: -130,92g; IC95%: -186,69 a -75,14g). Mas as medidas de comprimento e perímetro cefálico ao nascer não se associaram com a deficiência de vitamina D na gestação (Aghajafari et al, 2013).

Em estudo observacional, Dawodu e Nath (2011) identificaram em amostra de 34 prematuros árabes de 31,4 semanas gestacionais, que 44% deles tinham deficiência grave de vitamina D (25-OH) D<12,5 nmol/L), e apresentavam média de 1667g do peso ao nascer (Dawodu, Nath; 2011). E, em 93 gestantes japonesas Shibata et al (2011) registraram 89,5% de insuficiência de vitamina D (25-OHD<20 ng/ml). Níveis significativamente mais baixos de 25-OHD foram identificados em mães com ameaça de parto prematuro ( $11,2 \pm 3,2$  ng/ml), quando comparadas aquelas mães que deram à luz a criança à termo ( $15,6 \pm 5,1$ ng/ml) (Shibata et al (2011).

A partir das elevadas prevalências de insuficiência/deficiência de vitaminas D identificadas em gestantes e a indicação da associação com a saúde ao nascer, tem sido sugerido suplementação deste micronutriente no período da gestação. Neste sentido, resultados de estudos de intervenção, a exemplo do realizado por Brooke et al (1980) com desenho duplo-cego e placebo controlado, com 126 mães asiáticas residentes na Grã-Bretanha indicaram que a suplementação diária de 1000 unidades internacionais (25 µg) de vitamina D no 3º trimestre reduziu o risco de nascimentos de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional (15 vs 28%;  $P < 0,05$ ) e aumentou as concentrações médias de 25(OH)D ( $X = 168,0$  vs  $16,2$  nmol /L,  $P < 0,001$ ) em comparação com o grupo placebo. A suplementação com 600.000 UI (15 mg) duas vezes no mês, entre 7-8 semanas gestacionais reduziu a prevalência de baixo peso ao nascer quando comparado com aquelas que receberam placebo (4 vs 19% no controle) (Marya et al, 1988).

No entanto, estudos de suplementação com este micronutriente ainda são escassos e pouco se conhece sobre a dose segura e, além disto, os estudos de suplementação têm adotado amostras com reduzidos tamanhos. Soma-se ainda ao fato de que parcela dos estudos que investigam o estado nutricional relativo à vitamina D na gestação, foram realizados em países desenvolvidos de clima frio e com pouca disponibilidade de luz solar. Pesquisas desenvolvidas em países de clima tropical são escassas, e são necessárias para substanciar o conhecimento atual e fornecer subsídios para a prevenção da insuficiência/ deficiência de vitamina D na gestação. Embora, os resultados identificados até agora ressaltam que a vitamina D é um micronutriente com funções específicas na fisiologia da gestação.

## **1.5.OBJETIVO**

### **1.5.1 Geral**

Avaliar a influência da variação da concentração de vitamina D sérica durante a gestação sobre o peso ao nascer.

### **1.5.2 Específico**

- Analisar as associações entre os fatores socioambientais e individuais e as concentrações séricas de vitamina D em gestantes;

## ***1.6. CONSIDERAÇÕES TEÓRICO-METODOLÓGICAS***

### **1.6.1 Perguntas de investigação e hipóteses**

O desenvolvimento de estudos que investiguem os distúrbios nutricionais em gestantes, especificamente de micronutrientes, e os impactos nas condições de saúde e nutrição de recém-nascidos constitui importante agenda de pesquisa no campo da Epidemiologia Nutricional, posto que as deficiências nutricionais na gestação influenciam a ocorrência de baixo peso ao nascer e doenças crônicas em fases posteriores da vida.

É sabido que o peso ao nascer é considerado um dos principais indicadores da saúde global por ser reflexo de condicionantes ligados às esferas social, econômica, ambiental, demográfica, nutricional a que estão submetidas às crianças e suas famílias (Fonseca, 2012). Entretanto, no Brasil, os estudos sobre deficiências de micronutriente, em especial a vitamina D, e peso ao nascer são incipientes. Remete-se, assim, à importância de ampliar o volume dos estudos sobre esta temática, visando investigar a relação causal entre deficiência de vitamina D e baixo peso ao nascer.

Um breve resgate da produção científica indica que no Brasil, estudos envolvendo a deficiência de vitamina D, independentemente da idade, sexo e estado fisiológico, são escassos. Existem registros de que a deficiência atinge 77,4% de adultos da cidade São Paulo (Unger et al, 2011) e 80% de mulheres pós-menopausa (Genaro, 2007) e ainda 59% em adolescentes saudáveis (Peters, 2009). Todavia, não foi encontrado na literatura referências sobre estudos que abordassem o estado nutricional relativo à vitamina D na população

materno infantil, indicando a necessidade de realização de pesquisas com estes grupos populacionais. Neste sentido, é relevante buscar respostas sobre questões como:

- Qual a prevalência de deficiência de vitamina D na gestação?
- Qual a influência da deficiência de vitamina D durante a gestação sobre o peso ao nascer?

No intuito de direcionar o presente estudo, buscar-se-á testar a seguinte hipótese:

- A exposição intrauterina à deficiência de vitamina D aumenta o risco de baixo peso ao nascer.

### **1.6.2 Desenho e Local de Estudo**

Para responder pergunta desta investigação realizar-se-á um estudo de coorte prospectivo com gestantes até 32 semanas gestacionais captadas nos serviços de pré-natal de unidades básicas de saúde e clínicas da rede privadas, acompanhadas até o parto. O estudo será desenvolvido no município de Santo Antônio de Jesus, localizado no Recôncavo Sul Baiano, com área territorial de 261 Km<sup>2</sup>, distando 187 Km da cidade de Salvador, capital do Estado da Bahia. Esta cidade conta com 90.949 habitantes, 79.271 residentes na zona urbana, 11.6763 na zona rural, distribuídos em 47.963 mulheres e 42.986 homens. Em 2012 registrou-se o nascimento de 874 crianças e destas 84 (9,6%) nasceram com baixo peso ao nascer (DATA SUS, 2012).

As principais atividades econômicas do município são representadas pelo comércio, agropecuária e a indústria. A atenção à saúde é prestada por 23 unidades de atendimento básico do SUS, 31 unidades de atendimento especializado (três público e vinte oito privado), 04 hospitais e 20 equipes de saúde da família.

### **1.6.3 Amostra de Estudo**

A amostra deste estudo foi calculada com base na equação para exposições repetidas em estudos longitudinais conforme sugere Twisk (2003).

Para tanto, foi considerada média da concentração sérica de vitamina D de 62,8 nmol/l (DP: 7,8 nmol/l) em gestantes eutróficas (Bodnar et al, 2007), com variação de 25% das concentrações de 25OHD entre a primeira medida (gestante) e segunda mensuração - cordão umbilical (Fleischman et al, 1980; Hilman & Haddad, 1974; Kovacs et al, 2011), erro tipo I ( $\alpha$ ) de 5%, 80% de poder e uma perda aceitável de 15%. Então, será necessário para testar associações entre concentrações séricas de vitamina D e peso ao nascer, uma amostra de 195 gestantes.

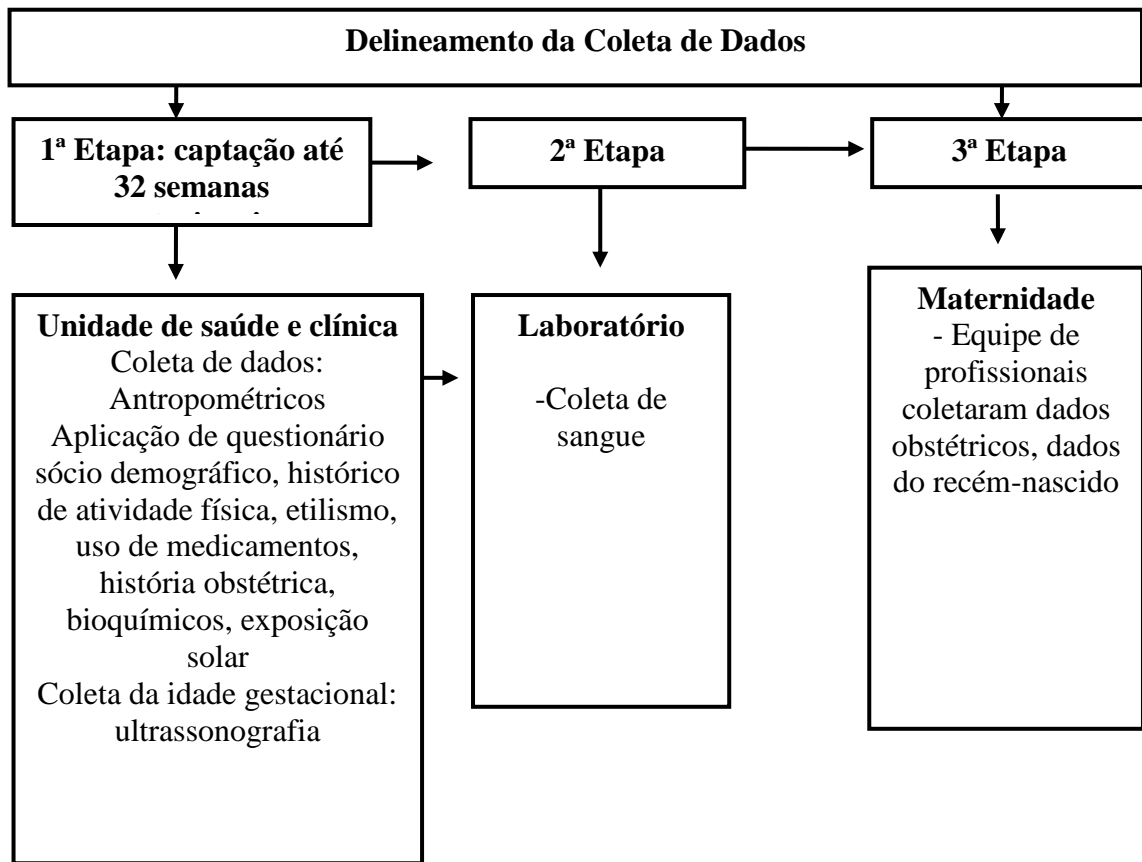
### **1.6.4 Critérios de Inclusão e Exclusão**

Serão incluídas no presente estudo, mulheres clinicamente saudáveis, residentes e domiciliadas na zona urbana do município, com dezoito anos ou mais de idade, com idade gestacional de até 32 semanas no momento da captação e que estejam frequentando o serviço de atenção ao pré-natal do SUS e privado.

Serão excluídas mulheres com gestação múltipla, aquelas que apresentarem problemas de saúde como: pré-eclâmpsia, eclâmpsia, problemas renais, portadoras de HIV e gestantes que não adotarem o jejum para a coleta sanguínea.

### **1.6.5 Delineamento da Coleta de Dados**

Neste estudo os dados serão coletados em três etapas, em momentos de contato da equipe com a gestante, nas entrevistas realizadas por ocasião das consultas de pré-natal, na coleta sanguínea e na maternidade de nascimento da criança.



**Figura 3:** Fluxograma de seguimento da coorte

A **primeira etapa** desta investigação compreende a captação das gestantes que atenderem aos critérios de elegibilidade. O convite será realizado na ocasião das consultas de pré-natal, nas unidades de Saúde da Família e clínicas da rede particular do município. A gestante será informada sobre os objetivos da pesquisa e sobre a privacidade e anonimato das informações fornecidas. Posteriormente aquelas que aderirem ao estudo serão convidadas a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, antes da realização da entrevista. .

A gestante será entrevistada e as informações serão registradas em questionário padronizado. As perguntas dizem respeito às condições socioeconômicas, demográficos e história reprodutiva materna. O questionário (apêndice 2) está estruturado em sete blocos, incluído as seguintes variáveis, a saber:



- **Informações sobre a identificação e dados socioeconômicos:** nome, endereço, data de nascimento, nível de escolaridade, situação conjugal, raça/cor, profissão, questões referente à renda familiar, religião, participação em programas sociais;
- **Informações sobre estilo de vida:** prática do tabagismo, uso de álcool e outras drogas;
- **Informações nutricionais:** peso pré-gestacional e atenção nutricional no pré-natal;
- **Informações ginecológicas e obstétricas:** data de menarca; número de gestações e partos; tempo, tipo e local do último parto; assistência pré-natal (número de consultas, início do pré-natal), complicações auto-referidas (diabetes gestacional, hipertensão, asma, cegueira noturna); uso de antianêmico; história de aborto, hemorragia, transfusão sanguínea.
- **Exames laboratórios:** glicemia, hemograma, HBV, HIV, HTLV, citomegalovírus e parasitológico de fezes;
- **Informações medicamentosas:** uso de medicamento no período pré-gestacional e gestacional; motivo de uso e indicação;
- **Informações sobre exposição solar:** frequência e a duração de exposição solar, uso de protetor solar.

Serão aferidos o peso e a altura da gestante e realizado agendamento para coleta sanguínea. As informações ligadas aos antecedentes obstétricos e exames laboratoriais (ABO-Rh, VDRL, urina tipo I e urocultura, glicemia de jejum, hemograma completo) serão coletadas a partir do registro nos prontuários clínicos dos exames realizados durante o pré-natal.

Para aferição do peso será utilizada balança do tipo digital, portátil, calibrada periodicamente, com capacidade de 150 kg e sensibilidade de 100 g e a altura será medida utilizando-se estadiômetro portátil com capacidade para 2,0 m e sensibilidade de 0,5 cm. Peso

e estatura deverão ser aferidos em duplicata, utilizando-se a média dos valores como medida final.

Para a aferição da altura, a gestante deve estar descalça e sem adereço no cabelo que motive a alteração da medida; o corpo estará posicionado no plano horizontal de Frankfurt, o medidor será posicionado em frente à escala e as medidas registradas cuidadosamente no centímetro mais próximo do zero, sendo a marcação feita em metros (Lohman et al, 1998)

O peso pré- gestacional (PPG), será anotado do registrado no cartão da gestante, caso não esteja disponível, será aceito o peso referido pela gestante. Para aferição do peso atual (PA) serão observados os seguintes critérios: a balança deverá ser calibrada regularmente, a gestante não deverá estar usando objetos que possam influenciar na medida; deverá estar posicionada no centro da balança, descalça; o medidor ficará posicionado atrás e registrado o valor mais próximo do zero, com registro kg.

Para avaliar o estado antropométrico pré-gestacional utilizar-se-á como indicador o índice de massa corpórea (IMC). Este é calculado pela fórmula peso em kg/estatura em metros<sup>2</sup>. A classificação antropométrica terá como referência os parâmetros do OMS (2008), considerando-se os pontos de corte para normalidade.

- Baixo peso:  $IMC = < 18,5 \text{ Kg/m}^2$ ;
- Peso adequado:  $IMC = 18,5 \text{ a } 24,9 \text{ kg/m}^2$ ;
- Sobrepeso ( $IMC = 25 \text{ a } 29,9 \text{ Kg/m}^2$ )
- Obesidade ( $IMC = 30 \text{ Kg/m}^2$ ).

Para a classificação do estado antropométrico gestacional será utilizado a curva de Atalah et al. (1997) e as gestantes serão classificadas nas seguintes categorias: (1) baixo peso, (2) peso adequado, (3) sobrepeso e (4) obesidade.

A adequação do ganho de peso gestacional será avaliada segundo o perfil antropométrico pré-gravídico, seguindo as recomendações da (IOM, 2009), assim, a gestante

com baixo peso deverá ganhar de 12,5Kg a 18Kg, gestantes eutróficas de 11,5Kg a 16Kg, gestantes com sobrepeso de 7Kg a 11,5Kg e gestantes obesas de 5Kg a 9Kg.

A **segunda etapa** do seguimento envolve a coleta sanguínea e segunda avaliação antropométrica da gestante em laboratório conveniado ao Núcleo de Investigação em Saúde Materno Infantil da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. No dia antecedente a coleta sanguínea será realizado contato telefônico com a gestante, pelo responsável da coleta de dados, com o intuito de confirmar a participação e esclarecer eventuais dúvidas relacionadas a esta coleta. Todas as gestantes estarão em jejum de 8 horas para a coleta de 14 ml de sangue.

Após a coleta, o material biológico será centrifugado por 15 minutos a 2000rpm para separação do soro. As amostras sorológicas serão identificadas por códigos e armazenadas a -32°C em freezer, até o momento da dosagem da 25(OH)D.

Para a dosagem da 25(OH)D, utilizar-se-á o método de determinação quantitativo, baseado no princípio de quimioluminescência (CLIA). Neste método, o anticorpo específico anti-vitamina D reveste as partículas magnéticas (fase sólida) e a vitamina D é ligada a um derivado do isoluminol. A 25(OH)D é desassociada da proteína de ligação e compete com a vitamina D pelos locais de ligação com o anticorpo durante a incubação. O material não ligado será removido com um ciclo de lavagem depois da incubação. Posteriormente, os reagentes iniciadores serão adicionados para induzir uma reação de quimioluminescência. O sinal luminoso será medido por um fotomultiplicador em unidades de luz (RLU) e a quantidade de luz emitida será inversamente proporcional à concentração de 25(OH)D existente nas amostras de soro.

Será utilizado o kit de dosagem de 25(OH)D (DiaSorin®); com coeficiente de variação (CV) intraensaio de 8,4% a 12,5% e CV interensaio de 8,6% a 11,0%.

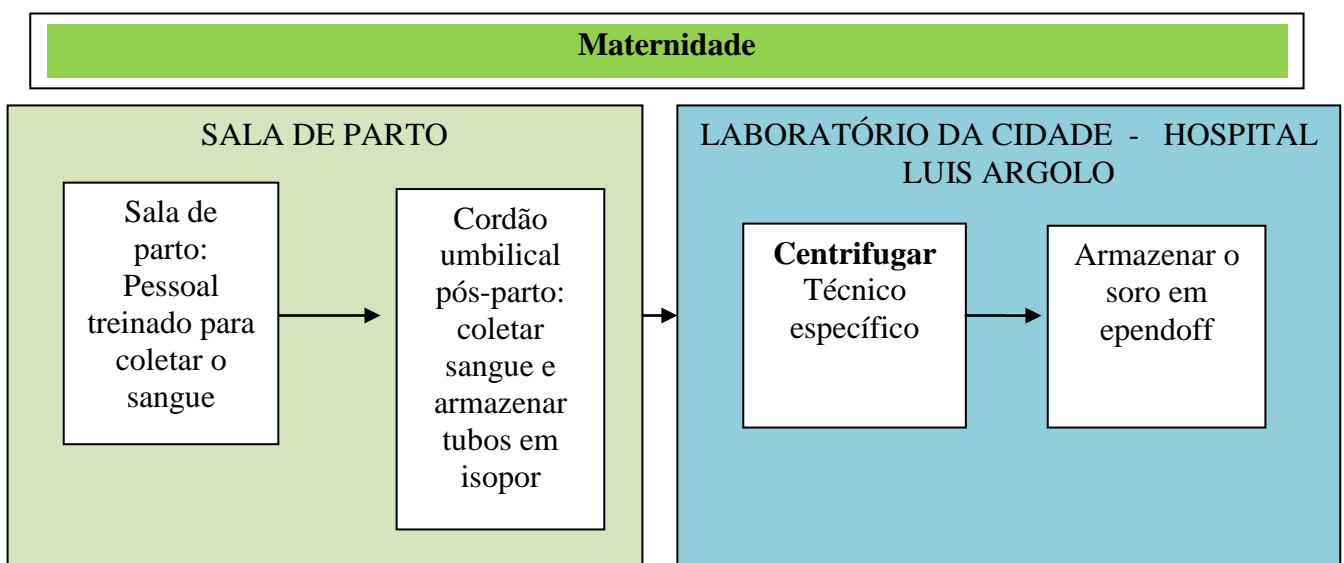
A **terceira etapa** do seguimento compreenderá o período do parto. Nesta etapa será coletado o sangue do cordão umbilical o que deverá ocorrer até 30 minutos após o parto; neste

período serão também aferidos o peso e o comprimento do recém-nascido (figura 4). Para evitar perdas e tornar mais fácil a logística do acompanhamento, as gestantes terão um adesivo de identificação contido no cartão da gestante e assim, serão identificadas na maternidade.

#### 1.6.6 Coleta de sangue do cordão umbilical

Nos primeiros minutos do nascimento da criança, serão coletadas 15 ml sangue do cordão umbilical em tubos livre de traços da marca Vacuette, logo após o clampeamento do cordão.

Nesta etapa, a coleta sanguínea será realizada por técnicas de enfermagem. Posteriormente, o sangue do cordão umbilical será centrifugado a 2500 rpm por 15 minutos, no laboratório do Hospital (figura 4). O tempo máximo entre a coleta o sangue de sangue e a centrifugação da amostra será de 30 minutos. O soro separado será armazenado em ependoff identificado com o nome da gestante e refrigerado em  $-32^{\circ}\text{C}$ . Diariamente o material processado será transportado em caixa térmica, para armazenamento em freezer no Laboratório de Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde. Na apêndice apresenta-se o fluxograma para coleta de sangue do cordão umbilical.



**Figura 4:** Esquema de coleta e processamento sanguíneo, cordão umbilical

As medidas antropométricas do recém-nascido (peso, comprimento e circunferências) serão realizadas pela equipe de enfermagem previamente treinada para este fim. O peso da criança será aferido por meio de balança pediátrica digital, marca Welmy®, com capacidade de 15 Kg e intervalo de 10g, para a aferição do comprimento será utilizado infantômetro marca Sanny®.

A criança será pesada totalmente despida. Para a aferição do comprimento, a criança será deitada, com a cabeça apoiada cuidadosamente na parte fixa do antropômetro e a peça móvel será deslocada até os pés da para leitura da medida.

Peso e comprimento deverão ser aferidos em duplicata, sendo aceitável variação máxima de 10 g para o peso e de 0,1 cm para o comprimento, ocorrendo valores acima destes, realizar-se-á uma terceira medida. A medida final será o resultado da média entre dos valores das medições mais próximas (SISVAN, 2004).

### **1.6.7 Análise Estatística**

Inicialmente será realizada a análise exploratória dos dados para avaliar a distribuição e características das variáveis, identificar a ocorrência de dados perdidos, inconsistentes nos dados e/ou dos registros, além de conhecer a distribuição das variáveis da estimativa da associação entre potenciais variáveis independentes e as variáveis respostas.

Serão elaborados dois modelos estatísticos, para a análise dos dados, para avaliar as relações entre: “*Concentrações séricas de vitamina D em gestantes e fatores associados*” e “*Concentrações séricas de vitamina D durante a gestação e peso ao nascer*”, os quais se encontram descritos a seguir:

### **1.6.7.1 Concentrações séricas de vitamina D em gestantes e fatores associados- abordagem hierárquica**

Neste estudo, adotar-se-á o modelo hierarquizado estruturado em quatro níveis explicativos do problema investigado. A modelagem hierarquizada é uma alternativa de análise para estudos epidemiológicos contendo um grande número de variáveis independentes, o que reduz problemas causados pela saturação do modelo (Fuchs et al,1996).

Conforme o modelo previsto, as concentrações séricas de 25OHD insuficiente [ $>80\text{nmol/L}$ (0),  $50\text{ nmol/L}$  e  $80\text{nmol/L}$ (1)] e deficiente [ $>50\text{ nmol/l}$  (0),  $\geq 50\text{ nmol/l}$  (1)] serão adotadas como variáveis dependentes (Holick, 2007, Mulligan et al, 2010). As variáveis independentes integrarão as causas básicas, subjacentes e imediatas no modelo de determinação do peso ao nascer, expostas a seguir (figura 5).

#### **1.6.7.1.1 *Relacionadas às causas distais***

As variáveis que compõem os níveis das causas distais da determinação serão representadas por: idade materna [ $<35$  (0),  $\geq 35$  (1)], renda familiar [ $\geq 4$  salários mínimos (0),  $4 <$ salários mínimos (1)], escolaridade [médio/superior (0); fundamental 2º ciclo (variável de desenho 1), elementar 1º ciclo/sem escolaridade (variável de desenho 2)], situação conjugal [casada (0); não casada (1)], situação de trabalho de trabalho [ativa (0), inativa (1)].

#### **1.6.7.1.2 *Relacionadas às causas intermediárias***

O bloco das causas subjacentes ou intermediárias será subdividido em nível intermediário I e intermediário II. O nível intermediário I integra os modelos com as variáveis de estilo de vida: tabagismo [não (0), sim (1)], alcoolismo [não (0), sim (1)] e prática de atividade física [sim (0), não (1)], uso de medicamentos [não (0), sim (1)]. No bloco intermediário II compreende as variáveis relacionadas à proteção à saúde da gestante e

serão representadas pelo número de consultas no pré-natal [ $\geq 5$  consultas (0),  $<5$  consultas (1)] e acesso e orientações nutricionais no pré-natal [não (0), sim (1)].

### 1.6.7.1.3 *Relacionadas às causas proximais*

Entre as variáveis relacionadas às causas imediatas ou proximais serão alocadas: tempo de exposição solar diário [ $>20$  minutos (0),  $\leq 20$  minutos], cor de pele [branca, branca/clara/amarela (0), negra/parda/mulata escura (1)], estado antropométrico pré-gestacional estado nutricional pré-gestacional [eutrofia (IMC 18,5 – 24,9Kg/m<sup>2</sup>) (0), magreza (IMC  $< 18,5$ Kg/m<sup>2</sup>) variável de desenho (1); sobrepeso/obesidade (IMC  $\geq 25,0$ Kg/m<sup>2</sup>) (variável de desenho 2)], ganho de peso excessivo na gestação [não (0), sim (1)], uso de suplementos alimentares [sim (0), não (1)] e uso de vestimenta longa/meios físicos de proteção solar [não (0), sim (1)] e uso de protetor solar [não (0), sim (1)].

### 1.6.7.1.4 *Métodos estatísticos*

A prevalência será adotada para descrever as características biológicas, sociodemográficas, de estilo de vida, assim como as condições de acesso ao serviço de saúde, do estado antropométrico e das concentrações de vitamina D das gestantes investigadas.

Inicialmente será realizada análise bivariada e as variáveis que se mostraram estatisticamente significantes (valor de  $p \leq 0,20$ ) serão selecionadas segundo seus respectivos níveis para a análise multivariada com regressão de Poisson (Hosmer; Lemeshow, 2000), com abordagem hierarquizada, seguindo o modelo teórico apresentado na figura 5. Para a construção da análise por regressão de Poisson, segundo a abordagem hierárquica, adotar-se-ão os seguintes os procedimentos:

No primeiro nível hierárquico, serão incluídas as variáveis relacionadas aos determinantes distais, cujos valores de  $p \leq 20$ . As variáveis significantes, nesta etapa da análise valor de  $p \leq 0,05$ ), permanecerão no modelo e entrarão no ajuste do nível hierárquico

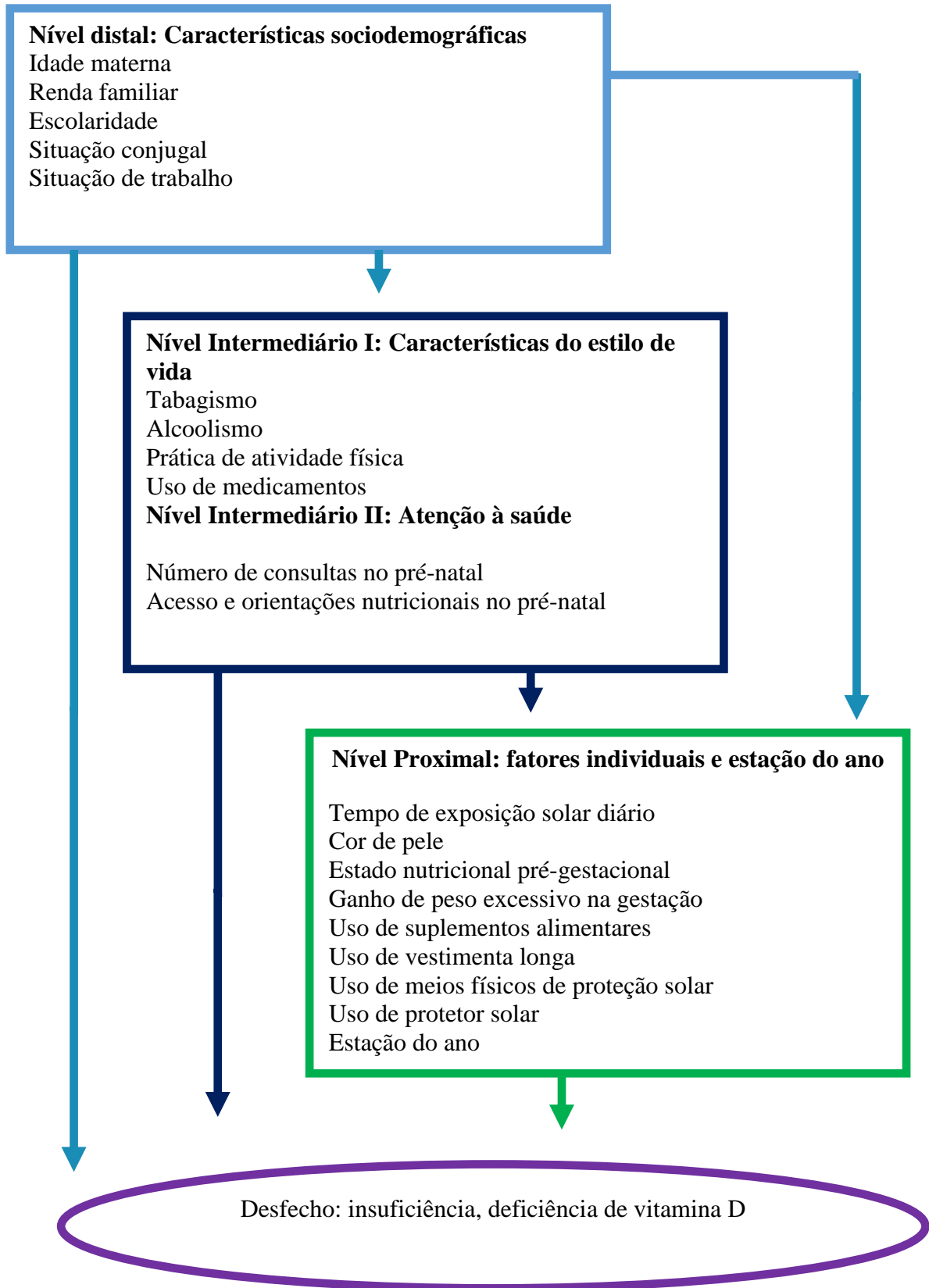
subsequente, representadas pelas determinantes intermediárias previamente selecionadas segundo o valor de  $p \leq 20$  gerado na análise bivariada. Este procedimento será adotado para os demais níveis de determinação. Dessa forma, todas as variáveis potencialmente relacionadas à insuficiência de vitamina D, em cada nível de hierarquia, serão incluídas nos modelos e posteriormente eliminadas passo a passo, até atingir a significância de  $p \leq 0,05$ .

Assim, as variáveis que deverão integrar o modelo multivariado serão selecionadas com base na técnica backward (Hosmer; Lemeshow, 2000), a qual consiste em desprezar consecutivamente, as variáveis de menores significâncias estatísticas, até que permaneçam, em cada nível, somente as variáveis com valor de  $p < 0,05$ . Utilizar-se-á razão de prevalência (RP) como medida de associação, e valor de  $p (< 0,05)$  para avaliar a magnitude da associação encontrada.

A identificação de confundimento será realizada por meio de análise estratificada em que serão estimadas as medidas estrato-específicas para cada covariável e seus intervalos de confiança. As variáveis confundidoras serão aquelas que apresentarem diferença relativa entre as medidas ajustadas de cada covariável e a medida de associação bruta maior que 20%, considerando a necessidade destas estarem associadas à exposição entre os não casos, e simultaneamente, associadas ao desfecho entre os não expostos.

Identificar-se-á as variáveis modificadoras de efeito quando apresentem resultados estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) no teste da Razão de Máxima Verossimilhança, com base nas comparações entre os modelos saturado e reduzido





**Figura 5.** Abordagem hierárquica dos determinantes das concentrações séricas em gestantes

### **1.6.7.2 Concentrações séricas de vitamina D na gestação e peso ao nascer – modelo preditivo**

Neste modelo preditivo (figura 6), a variável resposta será o peso ao nascer, esta variável será medida ao final do acompanhamento, e expressa evento único na vida- o nascimento. Integrará o modelo de regressão na forma contínua.

As variáveis independentes principais serão representadas pela concentração sérica de 25(OH)D na gestante (variável independente 1) e no cordão umbilical (variável independente 2), integrarão o modelo na forma contínua e serão consideradas variantes no tempo.

Para descrever o evento na população, a distribuição da concentração de vitamina D na população será categorizada em suficiente ( $>80\text{nmol/L}$ ), insuficiente ( $50\text{ nmol/L}$  e  $80\text{nmol/L}$ ) e deficiente ( $<50\text{ nmol/L}$ ).

As co-variáveis foram eleitas com base no conhecimento teórico da relação que possa estar presente entre os fatores que atuam tanto com a exposição (variáveis exógenas) quanto o desfecho investigado (endógena). Neste caso, estas co-variáveis serão testadas também como os possíveis fatores de confusão e/ou de modificação de efeito da relação em estudo.

**Características sociodemográficas:** escolaridade do chefe do domicílio [fundamental 2º ciclo/médio/superior (0), elementar 1º ciclo (variável de desenho 1) e sem escolaridade (variável de desenho 2)], estado marital [vive em união estável (0), não vive em união estável (1)], tipo de moradia (própria (0) e outro tipo (1)), escolaridade da gestante [8 anos de estudo (0),  $<8$  anos de estudo (1)].

**Características individuais e estação do ano:** idade materna [ $< 32$  anos (0) e  $\geq 32$  anos (1)], cor de pele [branca/clara/amarela (0), negra/parda/mulata escura (1)], tabagismo [Não (0), sim (1)], etilismo [Não (0), sim (1)], ganho de peso excessivo na gestação [não (0), sim (1)], tempo de exposição solar diário [ $>20$  minutos (0),  $\leq 20$  minutos], uso de protetor solar [não (0), sim (1)], estação do ano [verão (0), demais estações (1)].

**Características relacionadas ao pré-natal:** número de consultas realizadas durante o pré-natal [ $> 6$  consultas (0),  $\leq 6$  consultas (1)], planejamento da gestação [sim (0), não (1)] e acesso e orientações nutricionais no pré-natal [não (0), sim (1)].

**Característica relativa ao recém-nascido:** sexo [masculino (0); feminino (1)].

#### 1.6.7.2.1 *Métodos estatísticos*

O teste de qui-quadrado e o exato de Fisher serão usados para descrever a amostra e a comparabilidade entre as diferentes prevalências das concentrações de vitamina D ao *baseline*, segundo co-variáveis, além da comparabilidade entre as perdas e as gestantes acompanhadas durante o estudo.

Adotar-se-á regressão linear bivariada e modelo de equação estrutural (MEE) para avaliar as diferenças entre o peso fetal e ao nascer segundo as concentrações séricas de vitamina D na gestante e no cordão umbilical.

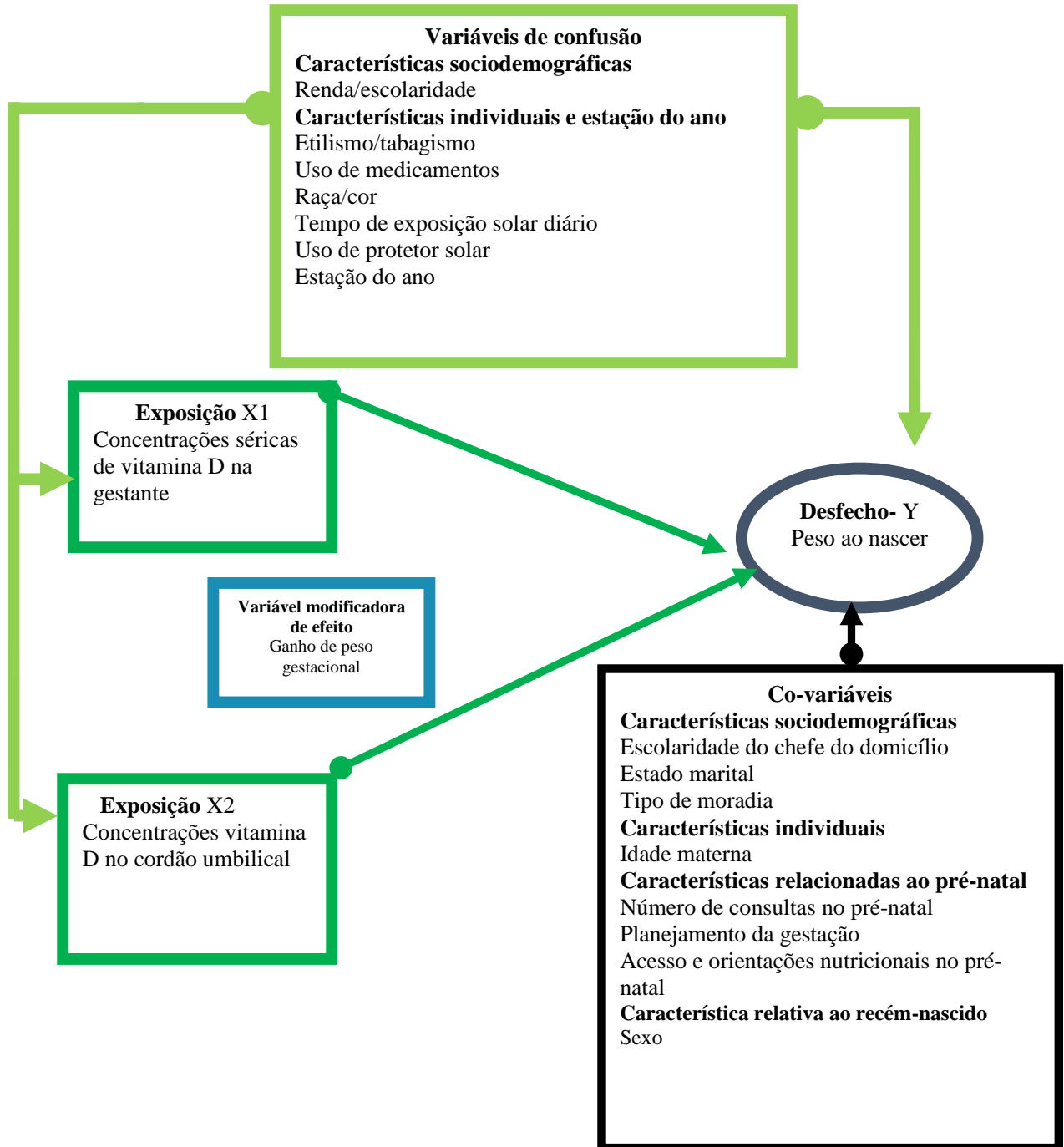
A modelagem com equações estruturais foi recentemente introduzida no campo da epidemiologia para a avaliação de associações causais. Este método é apropriado tanto para análise de dados de estudos longitudinais com medidas repetidas e desfecho com respostas contínuas (Hair, 2008), quanto para estudos com desfechos categóricos (Twisk, 2000).

As equações estruturais estimam simultaneamente as equações de regressão linear e, neste método, as variáveis que compõem o modelo teórico são organizadas conforme a relação causal do problema investigado no estudo.

Para o processamento das análises estatísticas, inicialmente realizar-se-á análise exploratória, por meio da regressão linear bivariada entre as variáveis independentes e dependente. O coeficiente de regressão para cada uma das relações causais, bem como o  $R^2$ , será estimado utilizando o procedimento dos mínimos quadrados.

Posteriormente serão avaliados os pressupostos da modelagem com equações estruturais. O teste de qui-quadrado será utilizado para avaliar o ajuste entre o modelo teórico e valores observados. Neste teste, valor estatisticamente significativo indica discrepância entre as matrizes observada e estimada, com a consequente rejeição do modelo teórico proposto.

Os coeficientes padronizados (SC) e valor de  $p < 0,05$  serão utilizados para avaliação da relação causal entre as variáveis de interesse. O SC será interpretado de acordo com Kline (2004). O SC próximo a 0,10 indica pequeno efeito concentrações de vitamina D na gestação e cordão umbilical com o peso ao nascer, SC de cerca de 0,30 indica efeito médio e  $SC > 0,50$  indica forte relação entre concentrações de vitamina D na gestação e cordão umbilical com o peso ao nascer.



**Figura 6.** Concentrações de vitamina D na gestação e peso ao nascer

### **1.6.8 Questões Éticas**

Este estudo integra o projeto “*Fatores de riscos nutricionais e genéticos durante a gestação associados a baixo peso ao nascer/prematuridade*”, o qual é financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, edital Universal 2012. Este subprojeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia.

Os propósitos do estudo e sua metodologia são explicados às gestantes, inclusive o compromisso de confidencialidade dos dados. Somente após a concordância explícita dos entrevistados será dada continuidade à entrevista. O termo de consentimento contém informações explícitas sobre a natureza e os objetivos da pesquisa. Os resultados das dosagens bioquímicas serão fornecidos as gestantes, com encaminhamento para unidade de saúde.

As gestantes que necessitarem de orientações nutricionais serão encaminhadas para ambulatório de nutrição materno-infantil da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

### **1.6.9 CRONOGRAMA PRELIMINAR**

Com o intuito de sinalizar as etapas e atividades previstas na execução do referido projeto de coorte, segue cronograma previsto, conforme quadro 1.

Atividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Revisão bibliográfica (sistemática e metanálise)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Detalhamento do projeto de pesquisa	X	X	X														
Coleta de dados	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Elaboração e alimentação de banco dados									X	X	X	X	X				
Análise estatística										X	X	X	X				
Redação de dissertação														X	X	X	X

**Quadro 1- Cronograma de Atividades 2012-2013**

## 1.7.REFERÊNCIAS

1. Agarwal KS, Mughal MZ, Upadhyay P, Berry JL, Mawer EB, Puliyeel JM 2002 The impact of atmospheric pollution on vitamin D status of infants and toddlers in Delhi, India. *Arch Dis Child* 2002; 87: 111-3.
2. Aghajafari F , Nagulesapillai T , Ronksley PE , resistentente 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 doi: 10.1136/bmj.f1169
3. Baiz N, Dargent-Molina P, Wark JD, Souberbielle JC, Slama R, Annesi-Maesano I, et al. Gestational Exposure to Urban Air Pollution Related to a Decrease in Cord Blood Vitamin D Levels. *J Clin Endocrinol Metab*, November 2012, 97(11):4087–4095
4. Barker DJ. The developmental origins of adult disease. *J Am Coll Nutr*, 23 (2004):588-595.
5. Barrett H, McElduff A. Vitamin D and pregnancy: An old problem revisited. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2010 24:527–539
6. Bodnar, LM et al. Prepregnancy Obesity Predicts Poor Vitamin D Status in Mothers and Their Neonates. *J. Nutr.* 2007; 137: 2437–2442.
7. Bouillon R, Carmeliet G , Verlinden L , van Etten E , Verstuyf A , Luderer HF , Lieben L , Mathieu C , Demay M . Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008 Out; 29 (6) :726-76. doi: 10.1210/er.2008-0004.
8. Bowyer L, Catling-Paull C, Diamond T, Homer C, Davis G, Craig ME. Vitamin D, PTH and calcium levels in pregnant women and their neonates. *Clin Endocrinol* 2009;70:372-7



9. Brooke OG, Brown IR, Bone CD, Carter ND, Cleeve HJ, Maxwell JD, Robinson VP, Winder SM. Vitamin D supplements in pregnant Asian women: effects on calcium status and fetal growth. *BMJ*. 1980;280:751–4
10. Brot C, Jorgensen NR, Sorensen OH. The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur J Clin Nutr* 1999 ; 53:920–926.
11. Burris HH, Rifas-Shiman SL, Camargo CA Jr, Litonjua AA, Huh SY, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Plasma 25-hydroxyvitamin D during pregnancy and small-for-gestational age in black and white infants. *Ann Epidemiol*. 2012; 22(8):581-6. doi: 10.1016
12. Castro LC. O sistema endocrinológico vitamina D. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2011; 55 (8): 566-575
13. DATA SUS, Ministério da Saúde, 2012. [acesso em: 26. Março. 2012]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?siab/cnv/SIABSba.def>
14. Farrar MD, Webb AR, Kift R, Durkin MT, Allan D, Herbert A, Berry JL, Rhodes LE. Efficacy of a dose range of simulated sunlight exposures in raising vitamin D status in South Asian adults: implications for targeted guidance on sun exposure. *Am J Clin Nutr* Am J Clin Nutr. 2013 Apr 24. [Epub ahead of print]. doi: 10.3945/ajcn.112.05263
15. Fleischman AR, Rosen JF, Cole J, et al. Maternal and fetal serum 1,25-dihydroxyvitamin D levels at term. *J Pediatr* 1980;97(4):640–2.
16. Fleischman AR, Rosen JF, Cole J, et al. Maternal and fetal serum 1,25-dihydroxyvitamin D levels at term. *J Pediatr* 1980;97(4):640–2.
17. Fonseca NSS. Efeito da suplementação materna com vitamina a no puerpério sobre o estado de saúde e nutrição em crianças: um estudo de coorte [Tese]. Universidade Federal da Bahia; Instituto de Saúde Coletiva. Salvador, Bahia. 2012

18. Frota K de H. Pontos de corte para adequação da concentração plasmática de 25 hidroxivitamina D em adultos e idosos: estudo de base populacional ISA-Capital [Dissertação]. Universidade de São Paulo; Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2012.
19. Gale CR, Robinson SM, Harvey NC, Javaid MK, Jiang B, Martyn CN, et al. Maternal vitamin D status during pregnancy and child outcomes. *Eur J Clin Nutr* 2008;62:68-77.
20. Genaro PS, Pereira GAP, Pinheiro MM, Szejnfeld VL, Martini LA. Relationship with between nutrient intake and vitamin D status in osteoporotic women. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 2007; 77(6):376-381.
21. Hair Joseph F. *Análise Multivariada de Dados*. Porto Alegre: Artmed, 2005.
22. Hillman LS, Haddad JG. Human perinatal vitamin D metabolism. I. 25-hydroxyvitamin D in maternal and cord blood. *J Pediatr* 1974;84(5):742-9
23. Hillman LS, Haddad JG. Human perinatal vitamin D metabolism. I. 25-hydroxyvitamin D in maternal and cord blood. *J Pediatr* 1974;84(5):742-9
24. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357 (3):266-81
25. Holick MF. *Vitamina D - como um tratamento tão simples pode reverter doenças tão importante* . Curitiba: Editora Fundamento, 2012.
26. Holick MF: Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80:1678-1688.
27. Hyppönen E, Power C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am J Clin Nutr* 2007;85:860-8
28. IOM – Institute of Medicine and National Research Council. *Weight gain during pregnancy; reexamining the guidelines*. Washigton (DC): The National Academic Press., 2009

29. James WPT. 22nd Marabou Symposium the changing faces of vitamin D. *Nutrition Reviews* 2008; 66 (2): 213–217.
30. Javaid M.K. Crozier, S.R, N.C. Harvey et al. Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood bone mass at age 9 years: a longitudinal study. *Lancet*, 367 2006; 36–43
31. Kippler M, Hoque AM, Raqib R, Ohrvik H, Ekström EC, Vahter M. Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients to the fetus. *Toxicol Lett* 2010; 192:162–168
32. Kline RB. Principles and practice of structural equation modeling. 2nd Ed. New York: Guilford Press; 2004.
33. Kovacs, CS. Fetus, neonate and infant. D. Feldman (Ed.), *Vitamin D* (3rd ed.), Academic Press, New York . 2011: 625–646
34. Leffelaar ER, Vrijkotte TG, van Eijsden M. Maternal early pregnancy vitamin D status in relation to fetal and neonatal growth: results of the multi-ethnic Amsterdam Born Children and their Development cohort. *Br J Nutr*. 2010 Jul;104(1):108-17.
35. Liu NQ Hewison M. Vitamin D, the placenta and pregnancy. *Arch. Biochem. Biophys.* 2011: doi:10.1016/j.abb.2011.11.018
36. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standartization reference manual. Illinois: Human Kinetics Books, 1988: 1-12
37. Martini LA, Verly E Jr , Marchioni DM , Fisberg RM . Prevalence and correlates of calcium and vitamin D status adequacy in adolescents, adults, and elderly from the Health Surveyd São Paulo. *Nutrition*. 2013; <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2012.12.009>
38. Martini LA, Wood RJ. Vitamin D status and the metabolic syndrome. *Nutr Rev* 2006;64:479-86

39. Marya RK, Rathee S, Dua V, Sangwan K. Effect of vitamin D supplementation during pregnancy on foetal growth. *Indian J Med Res.* 1988;88:488–92
40. Morley R, Carlin JB, Pasco JA, Wark JD. Maternal 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone concentrations and offspring birth size. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:906-12.
41. National Academy of Science. Unraveling the enigma of vitamin D. In: Beyond discovery: the path from research to human benefit series online. Washington: National Academy of Sciences; 2003. Available: [http://www.tryphonov.ru/tryphonov5/pic5/VitaminD\\_Text.htm](http://www.tryphonov.ru/tryphonov5/pic5/VitaminD_Text.htm) .
42. Nicotera P, McConkey D, Svensson SA, Bellomo G, Orrenius S. Correlation between cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration and cytotoxicity in hepatocytes exposed to oxidative stress. *Toxicology* 1988; 52:55–63
43. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.*2008;88(2):491S-499S.
44. Pereira-Santos, M. Níveis séricos de vitamina D e obesidade: revisão e metanálise [Trabalho de conclusão de cursos]. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia: Centro de Ciências da Saúde, Santo Antonio de Jesus. 2011.
45. Peters BSE. Vitamina D em adolescentes: ingestão, nível sérico e associação com adiposidade e pressão arterial [Tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2009.
46. Pludowski P , Holick MF , Pilz S , CL Wagner , Hollis BW , Grant WB et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity,cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality—A review of recent evidence. *Autoimmun Rev.* 2013 [Epub ahead of print] doi: 10.1016/j.autrev.2013.02.004.

47. Premaor MO, Furlanetto TW. Hipovitaminose D em adultos: entendendo melhor a apresentação de uma velha doença. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50(1): 25-3
48. Rafacho BPM, Santos P, Assalina HB, Ardissona LP, Roscani MG, Polegato BF, et al. Role of vitamin D in the cardiac remodeling induced by tobacco smoke exposure. *Int J Cardiol* 2012; 155 (3) :472-3
49. Sachan, R. Gupta, V. Das, A. Agarwal, P.K. Awasthi, V. Bhatia. High prevalence of vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in northern India. *Am J Clin Nutr*, 81 (2005), pp. 1060–1064
50. Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LMQ, Vieira JGH, Maeda SS, et al. Prevalence of vitamin D deficiency, insufficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly inpatients and living in the community of the city of Sao Paulo, Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007; 51(3): 437-442
51. Shibata M, Suzuki A, Sekiya T, Sekiguchi S, Asano S, Udagawa Y, Itoh M. High prevalence of hypovitaminosis D in pregnant Japanese women with threatened premature delivery. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 2011; 29, 615-62
52. SISVAN - Vigilância alimentar e nutricional : orientações básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde / [Andressa Araújo Fagundes et al.]. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
53. Twisk, JWR. *Applied longitudinal data analysis for Epidemiology*. Cambridge. 2003.
54. Unger MD, Cuppari L, Titan SM, Magalhães MCT, Sasaki AL, Reis LM et al. Vitamin D status in a sunny country: Where has the sun gone? *Clin Nutri.* 2010. 29 (6) :784-8
55. Unger, MD. Determinação dos níveis séricos de vitamina D em uma amostra de indivíduos saudáveis da população brasileira [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina; 2010.

56. Van den Berg G, van Eijsden M, Vrijkotte TG, Gemke RJ. Suboptimal maternal vitamin D status and low education level as determinants of small-for-gestational-age birth weight. *Eur J Nutr*. 2013 Feb;52(1):273-9. doi: 10.1007/s00394-012-0327-3
57. Wijnia JW, Wielders JP, Lips P, van de Wiel A, Mulder CL, Nieuwenhuis KG. Is vitamin D deficiency a confounder in alcoholic skeletal muscle myopathy? *Alcohol Clin Exp Res* 2013; 37(1):209-15. doi: 10.1111/j.1530-0277.2012.01902.x.
58. Windaus A. Linsert O. Vitamin D1. *Ann Chem*.1928.465:48
59. Wood RJ. Vitamin D and adipogenesis: new molecular insights. *Nutr Rev*. 2008;66:40–46.
60. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000 ; 72:690–693 .