

Universidade do grande rio “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

AMANDA DE FREITAS MARTINS LOPES e CAROLINA SILVA VILLON

**A RELAÇÃO ENTRE O METABOLISMO DA VITAMINA D E CASOS DE ABORTO
ESPONTÂNEO**

Rio de Janeiro

2023

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

AMANDA DE FREITAS MARTINS LOPES e CAROLINA SILVA VILLON

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Natália de Moraes Cordeiro

Rio de Janeiro

2023

AMANDA DE FREITAS MARTINS LOPES, CAROLINA SILVA VILLON

**A RELAÇÃO ENTRE O METABOLISMO DA VITAMINA D E CASOS DE ABORTO
ESPONTÂNEO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Universidade do Grande Rio "Prof. José de
Souza Herdy", como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Natália de Moraes Cordeiro

Aprovada em:

Barra da Tijuca, 21 de novembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Natália de Moraes Cordeiro

Profa. Natália de Moraes Cordeiro (orientador)

Giselle Fagundes

Giselle Aparecida Fagundes Silva

Daniela Rodrigues de Oliveira

Daniela Rodrigues de Oliveira

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos são direcionados primeiramente a Deus, por ter nos sustentado durante todo caminho, porque mesmo que não sejamos fiéis, Ele continua sendo fiel a nós assim como foi durante esses 4 longos anos e só por Ele chegamos até aqui. Toda honra e toda glória sejam dadas ao nosso Senhor. Agradecemos também as nossas famílias, que estiveram ao nosso lado nesse processo complexo estendendo a mão nas dificuldades que enfrentamos, em especial nossos pais, Valéria e José, Giselia e Sérgio, vocês foram, sem dúvida, a rede de apoio mais importante que tivemos. É com muita alegria que citamos também amigas queridas, que se mantiveram presentes no desespero das semanas de provas, nas risadas, nos grupos, nas contribuições dos trabalhos e com palavras de carinho, a vocês Andressa, Julia e Daiane, o nosso muito obrigada. Por fim, mas com certeza não menos importante, agradecemos em especial a nossa orientadora, Natália de Moraes, por toda paciência, cuidado, dedicação e ensinamentos, tanto ao longo da faculdade, como durante o período de TCC. Agradecemos também a todos os professores que se fizeram presentes durante o curso, vocês foram essenciais para nossa formação, muito obrigada!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular da Vitamina D2 e D3.....	8
Figura 2. Metabolismo da vitamina D	9
Figura 3. Deficiência de vitamina D em gestantes de diferentes continentes	13
Figura 4. Fluxograma para escolha de artigos.....	15
Figura 5. Avaliação dos níveis de 25(OH)D e CYP27B1	16
Figura 6. Quantificação da 25 hidroxivitamina D	17
Figura 7. Razão entre Treg/T CD4+ e Th17/T CD4+	18
Figura 8. Dosagem de IL-6, IL-10 e IL-17	19
Figura 9. Concentração dos fatores por ensaio imunoenzimático.....	20
Figura 10. 25(OH)D X IL-23 e IL-17 X IL-23.....	21
Figura 11. Resultados encontrados para cada parâmetro avaliado	22
Figura 12. Porcentagem de interrupção prematura da gravidez.....	22

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. METODOLOGIA	14
3. RESULTADOS	15
3.1. Diminuição dos níveis séricos de vitamina D na perda espontânea precoce da gravidez	15
3.2. Insuficiência de vitamina D como fator de risco para perdas reprodutivas em aborto espontâneo.....	17
3.3. Desequilíbrio celular Treg/Th17 e perfil de IL-6 em pacientes com recorrência inexplicável aborto espontâneo	18
3.4. Mulheres com aborto espontâneo recorrente diminuíram a 25(OH)D e o VDR na interface feto-materna.....	19
3.5. Características do primeiro trimestre da gravidez com deficiência de vitamina D.....	21
4. DISCUSSÃO.....	23
5. CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	26

A RELAÇÃO ENTRE O METABOLISMO DA VITAMINA D E CASOS DE ABORTO ESPONTÂNEO

Amanda de Freitas Martins Lopes¹

Carolina Silva Villon²

Natália de Moraes Cordeiro³

RESUMO

Casos de insuficiência ou deficiência de vitamina D em mulheres grávidas têm se tornado cada vez mais comuns no cenário contemporâneo. Estudos têm avaliado uma possível relação entre a condição de hipovitaminose D e a ocorrência de abortos espontâneos. Para que sua forma ativa seja atingida, a vitamina D conta com a ação do gene CYP27B1, que converte a 25(OH)D em 1,25(OH)₂D, possibilitando sua ligação ao seu receptor VDR. Por ser um micronutriente funcional a nível sistêmico, quando em declínio, pode causar desequilíbrios imunológicos, favorecendo a secreção de interleucinas pró-inflamatórias, como a IL-17, que contribuem para a má implantação do feto. 120 mulheres, dentre elas: grávidas e não grávidas com histórico normal de gestações anteriores e outras com histórico de perdas gestacionais (PG), participaram de um estudo onde foram dosados os níveis de 25(OH)D e CYP27B1. Os resultados demonstraram que pacientes com PG apresentaram níveis de 25(OH)D e CYP27B1 menores, quando comparados com grávidas normais. Além disso, um estudo realizado em 2017 encontrou diminuição de 25(OH)D e aumento das IL-23 e IL-17 em amostras deciduais de mulheres com histórico de aborto espontâneo recorrente. Foi realizada uma pesquisa integrativa da literatura e concluiu-se que é imprescindível a realização prévia da quantificação da vitamina D em mulheres que pretendem engravidar ou que tiveram gravidez inesperada, e suplementá-las quando houver necessidade, especialmente no primeiro trimestre de gestação, visando o bem-estar fetal e a permanência dessa gestação.

Palavras-chave: Vitamina D, Aborto espontâneo, Deficiência de vitamina D, 25-hidroxivitamina D, IL-17.

ABSTRACT

Cases of vitamin D insufficiency or deficiency in pregnant women have become increasingly common. Studies have evaluated a possible relationship between the condition of hypovitaminosis D and the occurrence of spontaneous abortions. In order to reach its active form, vitamin D relies on the action of the CYP27B1 gene, which converts 25(OH)D into 1,25(OH)₂D, enabling it to bind to its VDR receptor. As it is a functional micronutrient at a systemic level, when it declines, it can cause immune imbalances, favoring the secretion of pro-inflammatory interleukins, such as IL-17, which contribute to poor implantation of the fetus. 120 women, including pregnant and non-pregnant women with a normal history of previous pregnancies and others with a history of gestational loss (PG), took part in a study in which 25(OH)D and CYP27B1 levels were measured. The results showed that PG patients had lower levels of 25(OH)D and CYP27B1 compared to normal pregnant women. In addition, a study carried out in 2017 found a decrease in 25(OH)D and an increase in IL-23 and IL-17 in decidual samples from women with a history of recurrent miscarriage. An integrative literature search was carried out and it was concluded that it is essential to carry out prior vitamin D quantification in women who intend to become pregnant or who have had a history of miscarriage.

Keywords: Vitamin D, Miscarriage, Vitamin D deficiency, 25-hydroxyvitamin D, IL-17.

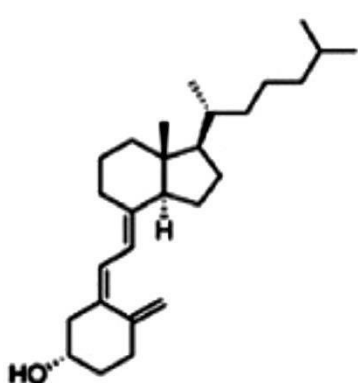
^{1,2} Graduandas do curso de Biomedicina na Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO.

³ Biomédica Doutora em Farmacologia e Química Medicinal pela UFRJ.

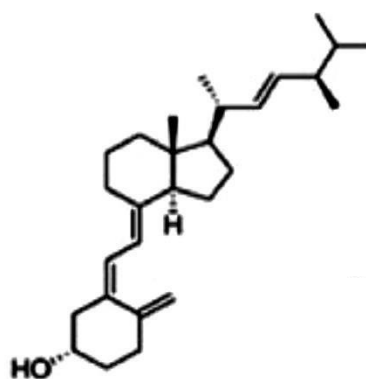
1. INTRODUÇÃO

A vitamina D (VD) é caracterizada como um hormônio esteroide, lipossolúvel e que desempenha um importante fator sistêmico de regulação corporal (Féliz, 2019). É possível salientar a existência de duas categorias distintas desse micronutriente, a vitamina D3, popularmente conhecida como colecalciferol, que possui suas taxas crescentes no organismo quando se tem principalmente o estímulo solar, com participação dos raios ultravioleta B (UVB) com comprimentos de onda por volta de 290 e 315 nanômetros – essa síntese dérmica é a principal fonte de vitamina D – e quando há a ingestão de uma dieta rica em frutos do mar. Por meio desse cenário, ocorre uma isomerização do precursor de colesterol pró-vitamina D3 – 7-deidrocolesterol – em pré-vitamina D3. É importante citar que a exposição de modo contínua a radiação, faz com que o corpo necessite de fatores que regulem mecanismos intrínsecos que controlem essa produção cutânea de vitamina D, para que não haja níveis exacerbados a ponto de causar intoxicação (Ideraabdullah *et al.*, 2019). A segunda categoria é referente a vitamina D2 ou ergocalciferol, a qual é adquirida em detrimento da ação dos raios UVB sobre o esteroide vegetal ergosterol presente em fungos e plantas, os cogumelos são exemplos dessa fonte (Galvão *et al.*, 2013). Em contrapartida, essas duas classes quando ativas, possuem respostas biológicas similares no metabolismo e, de acordo com Campbell (2000), apenas se diferem mediante a ausência de uma metila e ao somatório de uma ligação dupla (Figura 1).

Figura 1. Estrutura molecular da Vitamina D2 e D3



A. Colecalciferol – D3

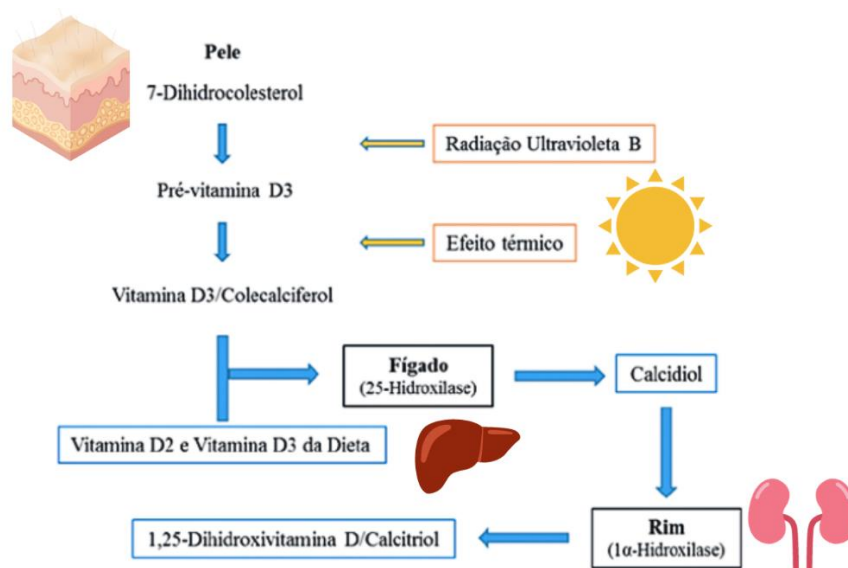


B. Ergocalciferol – D2

Quando formada, a vitamina D ainda inativa sai do interior dos queratinócitos para os capilares da derme e transita conectada à proteína de ligação da vitamina D (DBP, do inglês *vitamin D binding protein*), que é uma GC-globulina que transporta moléculas desse micronutriente a inúmeros tecidos-alvo, no intuito de serem ativadas no fígado e nos rins (Galvão *et al.*, 2013). As formas de ação desse hormônio são guiadas pelo receptor de vitamina D (VDR) a nível nuclear, agindo na transcrição genética em tecidos alvo. Quando presente no órgão hepático, após ter sido carreado pela circulação, o colecalciferol sofre hidroxilação no carbono 25 por uma enzima chamada 25-hidroxilase (25-OHase), tendo como resultante o 25-hidroxicolecalciferol que é a forma a qual a vitamina D é armazenada (Ideraabdullah *et al.*, 2019).

A partir desse resultado, o 25-hidroxicolecalciferol é transportado para os rins com auxílio de uma proteína chamada transcalfiferina e é 1α -hidroxilado pela enzima 25-hidroxivitamina D3- 1α -hidroxilase (1α -OHase), essa enzima é uma proteína mitocondrial da família do gene CYP450 e é codificada pelo gene CYP27B1. Desse modo, o calcitriol (1α -25-dihidroxivitamina D) que é a forma mais ativa desse micronutriente é produzido, contribuindo para a homeostase sistêmica (Figura 2). Nos rins, a expressão do gene CYP27B1 pode ser estimulada pela regulação das taxas do paratormônio (PTH), no entanto, esse controle independe um do outro, visto que essa expressão pode ser coordenada por numerosas condições específicas de cada célula, como as interleucinas 1 ou interferon gama (INF γ) (Brito, 2017).

Figura 2. Metabolismo da vitamina D



Fonte: Adaptado de Alves *et al.*, 2013.

O gene CYP27B1 está localizado no cromossomo 12q13.3, e faz parte da superfamília do citocromo P450, especificamente o membro 1 da subfamília B da família 27, que engloba enzimas responsáveis por catalisar transformações químicas em compostos de origem exógena ou endógena, na intenção de torná-las mais solúveis e de fácil excreção pelo metabolismo (Dhull *et al.*, 2020; Lemos *et al.*, 2014). Esse gene possui sua atividade regulada principalmente nos rins, no entanto, foi identificada sua presença em órgãos extrarrenais, como por exemplo na placenta, nos macrófagos, nos pulmões e no cérebro. A 25(OH)D - forma de armazenamento da vitamina D - necessariamente precisa ser convertida em 1,25(OH)₂D, que é sua forma ativa, para que impulse reações específicas para o equilíbrio da homeostase corporal. Para que haja essa conversão, é preciso que o CYP27B1 realize a codificação da 1 α -hidroxilase e a enzima em questão determine a quantidade de vitamina D circulante. Faz-se importante salientar que a sua expressão não renal pode produzir 1,25(OH)₂D local (Meyer *et al.*, 2019). A partir do momento em que a vitamina D é sintetizada em detrimento da ação do CYP27B1, seu receptor (VDR) é ativado para que ela possa se ligar e realizar suas funções em tecidos alvos (Adams *et al.*, 2013). Existem células humanas que expressam tanto o gene, quanto o receptor do micronutriente em questão, e estão entre elas trofoblasto fetal, célula tubular renal, células dendríticas e, principalmente, por inúmeras células do sistema imunológico das quais contribuem na resposta anti-inflamatória catalisada pela vitamina D na placenta por inibir expressões de interleucinas específicas (Zacharioudaki *et al.*, 2021).

A repercussão biológica dos efeitos da 1 α -25-dihidroxitamina D está intimamente ligada ao ajuste metabólico de cálcio e fósforo, tanto em meio extracelular quanto a níveis séricos no organismo. A 1,25(OH)₂D pode contribuir na absorção desses minerais pelo intestino por difusão facilitada, com a presença do PTH existe a contribuição na captação do cálcio a nível renal nos túbulos distais dos glomérulos visando manter alinhado o metabolismo ósseo, quando há necessidade de reabsorção para manter a integridade e influenciando de modo direto no aumento da sua mineralização (Galvão *et al.*, 2013). Sem a vitamina D, a absorção de cálcio e fósforo está em torno de 10% a 15% e 60% respectivamente, não obstante, quando ela possui o teor necessário metabolicamente esses números aumentam para 30% a 40% de cálcio e 80% de fósforo (Lichtenstein *et al.*, 2013).

A vitamina D também tem papel importante no sistema imunológico, por agir na diferenciação de células como macrófagos, linfócitos, células natural killer (NK) e dendríticas (CDs) (Ao *et al.*, 2021). Graças a expressão de receptores intracelulares de vitamina D (VDR) nessas células do sistema imune, a vitamina D é capaz de gerar uma ação imunológica local, já que todas essas células expressam a enzima CYP27B1 (Cyprian *et al.*, 2019).

A vitamina D atua tanto na resposta inata, quanto na adaptativa, regulando a produção de citocinas, como as interleucinas e interferon- γ (IFN γ), e assim mediando processos inflamatórios (Momentti *et al.*, 2018). A resposta imunológica inata (inespecífica), diz respeito à primeira linha de defesa do organismo. Ela responde da mesma maneira a diversos patógenos diferentes, através da ação de proteínas e células do sistema imunológico, além de contar com proteção oferecida pela pele e mucosas. Sua ação é rápida, mas não gera memória imunológica (Sun *et al.*, 2020). Já a resposta adaptativa age sobre os patógenos de maneira específica, porém necessita identificá-los primeiramente. Dessa forma, o sistema imunológico adaptativo apresenta uma resposta mais lenta a invasores do que o sistema inato, no entanto sua ação é mais precisa e capaz de gerar memória imunológica (Dai *et al.*, 2017). As células T são componentes de suma importância para o sistema imune adaptativo junto com as células B. As duas classes B e T tem sua origem a partir do osso da medula, no entanto, células T possuem sua maturação feita no timo e contam com diferenciações relevantes quando há a ocorrência da sua ativação. Elas podem ser divididas em células TCD8+ e TCD4+ de acordo com a especificidade de MHC classe I, receptor para antígenos endógenos, e MHC classe II receptor para antígenos exógenos (Espinosa *et al.*, 2020). As células T CD4+ são protetoras essenciais contra doenças infecciosas, mas também possui correlação com a ocorrência de autoimunidade e alergias. A ativação da T CD4+ se inicia quando um receptor de células T (RCT) faz o reconhecimento de um peptídeo específico dos complexos relevantes de histocompatibilidade de MHC classe II, os quais são expressos por células apresentadoras de antígenos. Entre os subconjuntos desse grupo de células tem-se as T-helper (Th1, Th2, Th17) e T reguladoras (Treg), e essa divisão específica de conjuntos está altamente correlacionada com a sinalização emitida pelos RCTs (Ruterbusch *et al.*, 2020). As células Th17 produzem citocinas da família IL-17 pró-inflamatórias, e sofrem ação da interleucina 23 (IL-23), que atua na diferenciação e mantém a resposta da Th17, assim como a Th1, em contrapartida a Th2 suprime essa

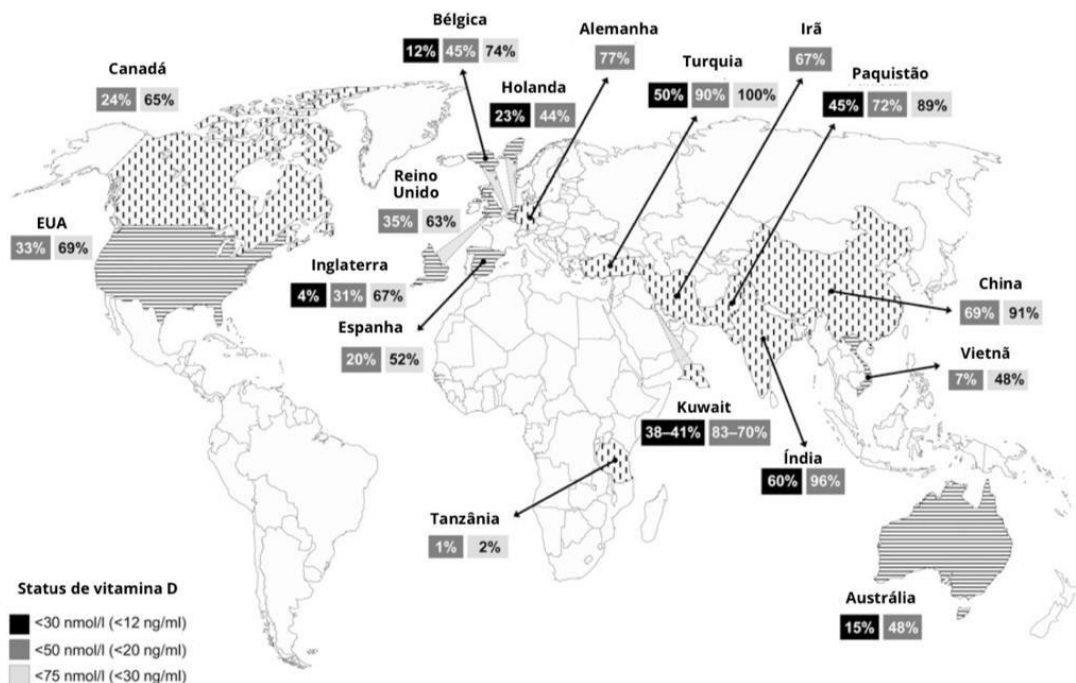
diferenciação. Sob a ótica das células T reguladoras, elas apresentam um papel central de imunorregulação e tolerância imunológica, e condicionam a secreção de citocinas inibitórias TGF- β e IL-10, ambas com caráter anti-inflamatório (Zhu *et al.*, 2016). Ademais, alguns estudos comprovaram o envolvimento da interleucina 6 (IL-6) no eixo Treg/Th17, a qual age na inibição da ação da Treg e contribui no desenvolvimento positivo de Th17 (Harbour *et al.*, 2020).

Quando a vitamina D não é absorvida ou metabolizada corretamente no organismo, um quadro de deficiência ou insuficiência desse micronutriente é estabelecido. Apesar de não ser um consenso, a maioria dos estudos entende como deficiência níveis séricos de vitamina D menores do que 20 ng/ml no sangue, enquanto a insuficiência é considerada quando seus valores estão entre 20 e 29 ng/ml. Concentrações de 25(OH)D circulantes igual ou acima de 30 ng/ml são estabelecidas como níveis adequados. A deficiência de vitamina D tem se apresentado globalmente como um problema de saúde pública digno de atenção. Estima-se que aproximadamente 1 bilhão de pessoas ao redor do mundo sofram com essa doença (Palacios e González, 2013; Bakleicheva *et al.*, 2021). Entre os grupos de risco existentes, as gestantes têm apresentado números significativos, demonstrando uma prevalência de, aproximadamente, 20 a 40% para casos de hipovitaminose D (Urrutia-pereira e Solé, 2014).

Um estudo foi realizado em 17 países ao redor do mundo, a fim de avaliar as concentrações séricas de vitamina D em grávidas ou lactantes em diferentes continentes. Ao todo, participaram da pesquisa dois países na América, um na África, seis na Europa, um na Oceania e sete na Ásia. Os dois países com as maiores porcentagens apresentadas pertencem ao continente asiático, sendo o primeiro a Índia, com as maiores porcentagens para quadros de prevalência de deficiência grave de vitamina D (60%) e deficiência de vitamina D (96%), definidas como concentrações séricas <12 ng/mL e <20 ng/mL, respectivamente. O segundo país foi a Turquia, que apresentou a maior porcentagem de mulheres com insuficiência de 25(OH)D (100%), condição definida por níveis séricos de colecalciferol <30 ng/mL, e as segundas maiores porcentagens para casos de prevalência de deficiência grave de vitamina D (50%) e deficiência de vitamina D (90%). Fatores como baixa ingestão de alimentos ricos em vitamina D, pigmentação cutânea e baixa exposição solar contribuem para quadros de deficiência de vitamina D (Darling, 2020). Nessa perspectiva, o continente asiático apresenta uma população com prevalência substancial de pele escura,

característica que dificulta a síntese cutânea de vitamina D. Além disso, questões culturais e religiosas presentes no Ásia, como o uso da burca pelas mulheres, dificulta a exposição solar desse grupo, especificamente (Man *et al.*, 2017). Em contrapartida, o único estudo realizado no continente africano, constatou uma prevalência muito baixa de casos de hipovitaminose D, com apenas 1% e 2% para níveis menores do que 20 ng/mL e 30 ng/mL respectivamente, como mostra a figura, o que pode ser relacionado com a alta incidência solar nesse continente (Palacios e González, 2013) (Figura 3).

Figura 3. Deficiência de vitamina D em gestantes de diferentes continentes



Fonte: Adaptado de Palacios e González, 2013

Tal deficiência em mulheres grávidas pode resultar em algumas adversidades como, vaginose bacteriana, pré-eclâmpsia e diabetes gestacionais (Amegah *et al.*, 2017), ainda, estudos vêm investigando uma possível relação entre baixos níveis de vitamina D e casos de abortos espontâneos (Tamblyn *et al.*, 2022).

O aborto espontâneo é caracterizado por ser uma interrupção involuntária da gravidez e é considerado um dos problemas mais comuns durante a gestação. Sua ocorrência geralmente se dá no 1º trimestre de gravidez, podendo acontecer até a 22ª semana de gestação, e sua recorrência é entendida quando há histórico de três ou mais perdas consecutivas. Estima-se que 15 a 20% das gestações terminam em

abortos espontâneos. As causas para a perda gestacional são multifatoriais, fato que dificulta o diagnóstico preciso, entre as complicações que levam a esse quadro estão: disfunções do endométrio, anomalias genéticas, diabetes e deficiência nutricional (Oliveira *et al.*, 2020).

Durante o período gestacional, a placenta é a interface responsável pela comunicação entre a mãe e o feto, ela possibilita a troca de gases e a passagem de nutrientes que irão garantir o bom curso da gravidez (Yong e Chan, 2020). Esse órgão também participa de funções endócrinas e, assim como os rins, apresenta tanto na decidua materna, quanto no trofoblasto fetal o gene CYP27B1. A presença desse gene na placenta, garante que haja uma produção local de calcitriol no meio intrauterino (Hou *et al.*, 2016). Contudo, a diminuição de disponibilidade da 25(OH)D por parte materna vai resultar também na diminuição da entrada de colecalciferol no meio intrauterino através da placenta, causando queda na produção local da 1,25(OH)₂D, culminando na deficiência de vitamina D por parte do feto. Esse estado de hipovitaminose D potencialmente irá causar problemas na programação epigenética, afetando órgãos e tecidos-alvo, como o cérebro, fígado e tecido adiposo, além de ocasionar alterações na acessibilidade da cromatina, na metilação do DNA e no RNA não codificante (Ideraabdullah *et al.*, 2019). Por causa do seu papel imunomodulador, a produção local de calcitriol no útero durante a gestação é de extrema importância para que os efeitos imunossupressores sejam atingidos, e assim o sistema imunológico materno sustente a implantação fetal. (Li *et al.*, 2017).

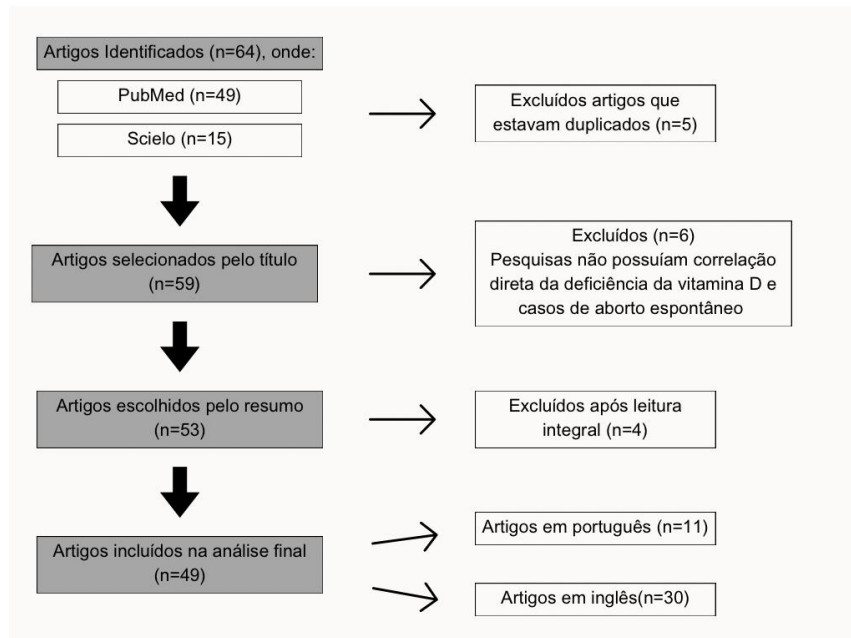
Sendo assim, com objetivo de compreender a influência da vitamina D e seu papel na ocorrência de abortos espontâneos, o presente trabalho busca identificar a relação entre a hipovitaminose D e a saúde gestacional, analisar a associação entre o gene CYP27B1, o receptor VDR e perdas gestacionais e compreender reações imunológicas envolvidas na falta da vitamina D e sua relação com abortos espontâneos.

2. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura, sob uma abordagem quantitativa dos dados encontrados. A pesquisa incluiu a busca de artigos nos bancos de dados PubMed e Scielo, utilizando as palavras-chave “vitamin D”, “miscarriage”,

“vitamin D deficiency”, “25-hydroxyvitamin D”, “IL-17”. Os artigos utilizados para elaboração do presente estudo foram publicados entre os anos de 2013 e 2023.

Figura 4. Fluxograma para escolha de artigos



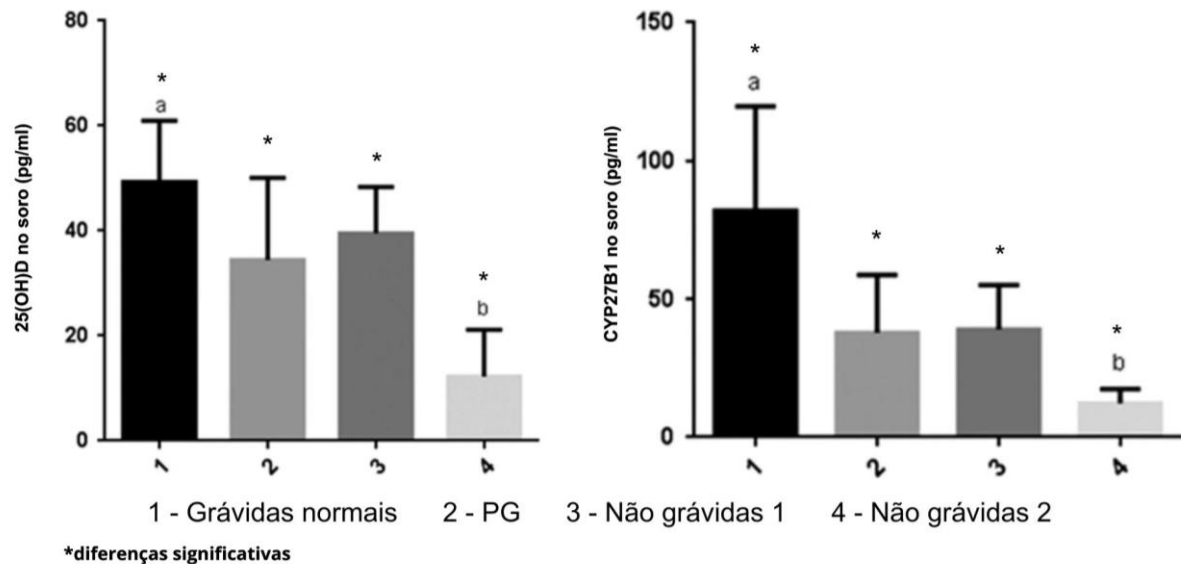
3. RESULTADOS

3.1. Diminuição dos níveis séricos de vitamina D na perda espontânea precoce da gravidez

Um estudo realizado por Hou *et al.* (2016), buscou avaliar as concentrações de 25(OH)D e do gene CYP27B1, buscando uma possível relação com casos de aborto espontâneo. Para isso, 120 mulheres participaram da pesquisa, que foi realizada no Hospital Afiliado da Universidade Xi'an Jiaotong e Hospital de Saúde Materno-Infantil na China, de 2013 a 2014. Elas foram divididas em dois grupos com subgrupos, um grupo de 60 mulheres com gravidez precoce com 30 que faziam parte do subgrupo de gravidez com perda gestacional e as outras 30 do grupo controle (gravidez normal). Já as outras 60 eram mulheres não gestantes, em que 30 faziam parte do grupo 1 de não grávidas em idade fértil com histórico clínico de gravidez bem-sucedida e as outras 30 participaram do grupo 2 de não grávidas férteis com gestações anteriores,

as quais tiveram um ou mais abortos espontâneos no primeiro trimestre. Foram testados os níveis séricos de 25(OH)D e CYP27B1 por kits Elisa comerciais.

Figura 5. Avaliação dos níveis de 25(OH)D e CYP27B1



Fonte: Adaptado de Hou *et al.*, 2016

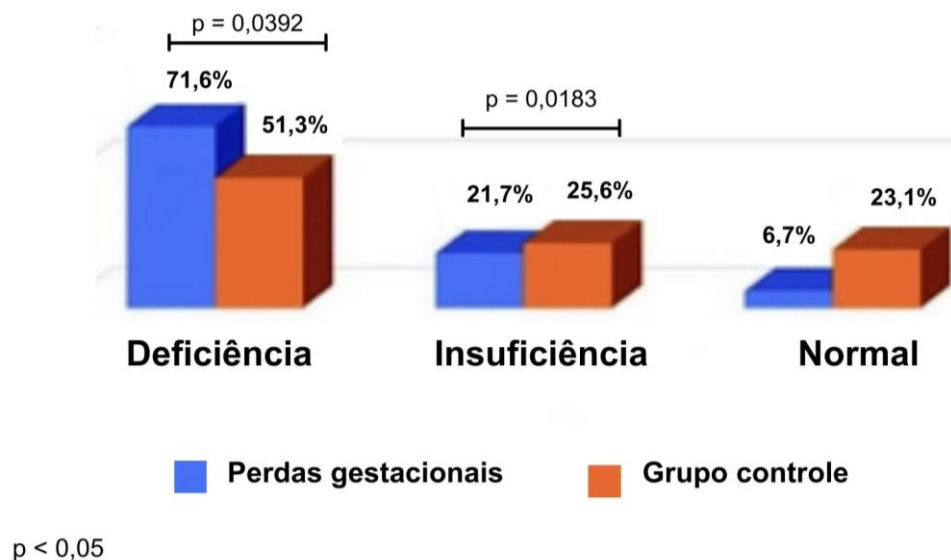
Foram feitas dosagens de 25(OH)D e CYP27B1 no soro dos 4 subgrupos de pacientes. Para leitura dos gráficos, primeiramente, é preciso que se entenda as colunas como: 1 - grupo de grávida normal; 2 - grupo de perdas gestacionais (PG); 3 - grupo de não grávidas 1; 4 - grupo de não grávidas 2. Além disso, os asteriscos demonstram que houve diferença significativa ($p < 0,05$). Dessa forma, o gráfico da figura 3, à esquerda, com avaliação de 25(OH)D no soro das pacientes, constatou diferença significativa entre os 4 grupos, com destaque para o grupo de grávidas normais (a), que apresentou uma diferença significativamente maior, quando comparado aos outros três grupos. Em contrapartida, o grupo de não grávidas 2 (b), apresentou uma diferença significativamente menor quando comparado com os níveis de colecalciferol dos grupos PG e não grávidas 1.

Já o gráfico à direita, ainda na figura 3, diz respeito aos níveis do gene CYP27B1 encontrados nas pacientes. De igual forma, houve diferença significativa entre os 4 grupos, onde o grupo de grávidas normais (a) apresentou uma diferença significativamente maior em comparação aos demais grupos e o grupo de não grávidas 2 (b) expressou uma diferença significativamente menor quando comparado aos grupos PG e não grávidas 1.

3.2. Insuficiência de vitamina D como fator de risco para perdas reprodutivas em aborto espontâneo

Uma pesquisa conduzida por Radzinsky *et al.* (2021), buscou estudar a relação entre o quadro de deficiência de vitamina D e casos de aborto espontâneo no primeiro trimestre de gravidez. 178 mulheres elegíveis participaram dessa pesquisa, que foi realizada no Departamento de Obstetrícia do Instituto Médico da Universidade da Amizade do Povo Russo, entre os anos de 2017 a 2020. Dessas 178 mulheres, 77 fizeram parte do grupo controle e 101 do grupo de pacientes com perdas gestacionais. O último grupo citado foi dividido em grupo 1 – 58 mulheres com relato de primeiro aborto e grupo 2 – 43 mulheres com um ou mais relatos de aborto. Foi medida a taxa de 25-hidroxivitamina D por espectrometria e a soma de práticas clínicas.

Figura 6. Quantificação da 25 hidroxivitamina D



Fonte: Adaptado de Radzinsky *et al.*, 2021.

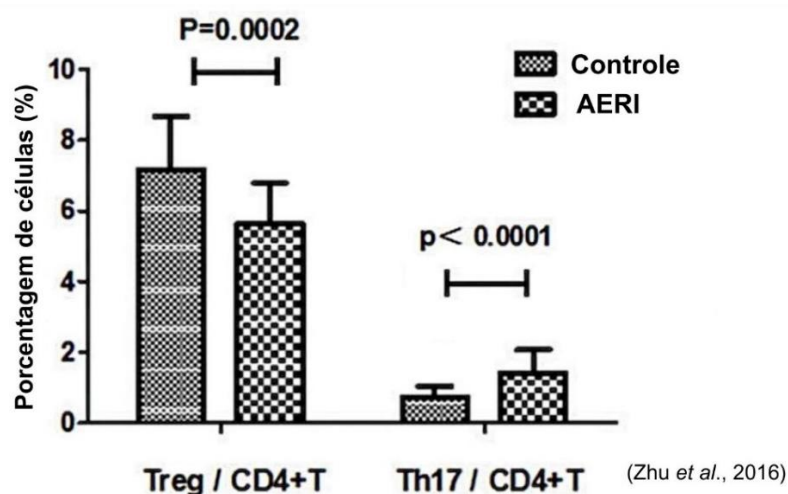
A figura 4 ilustra a quantificação de 25(OH)D em mulheres com histórico de perda gestacional e um grupo controle, e a diferença foi considerada significativa quando $p < 0,05$. Uma diferença significativa foi encontrada entre os grupos em relação ao status de insuficiência de vitamina D, em que o grupo de perdas gestacionais no primeiro trimestre apresentou uma frequência maior quando comparado ao grupo controle (93,3% versus 76,9%, $p = 0.0183$), considerando,

juntamente, o percentual de mulheres de ambos os grupos com diagnóstico de deficiência de 25(OH)D (71,7% versus 51,3%, $p = 0,0392$).

3.3. Desequilíbrio celular Treg/Th17 e perfil de IL-6 em pacientes com recorrência inexplicável aborto espontâneo

50 mulheres compuseram a coorte de um estudo realizado por Zhu *et al.* (2016), no Departamento de Obstetrícia e Ginecologia do Hospital Memorial Sun Yat-sen, na China, entre setembro de 2013 e abril de 2014. 25 pacientes, com histórico de 3 abortos espontâneos consecutivos que ocorreram antes da 12^a semana gestação, fizeram parte do grupo de aborto espontâneo recorrente inexplicável (AERI), enquanto o grupo controle foi composto por 25 mulheres saudáveis e férteis que tiveram pelo menos uma gravidez bem-sucedida e nenhum aborto anterior. No grupo AERI os abortos induzidos foram realizados quando os batimentos cardíacos fetais não eram mais detectados, enquanto no grupo controle, os abortos eletivos foram realizados dentro de 1 semana após a demonstração da atividade cardíaca fetal. Foram avaliados os níveis das células Treg, Th17 e T CD4+ por citometria de fluxo, e as interleucinas 6, 10 e 17 por kits Elisa, a partir de amostras de sangue das pacientes, a fim de avaliar uma possível relação de suas concentrações com quadros de aborto espontâneo recorrente inexplicável. Um $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

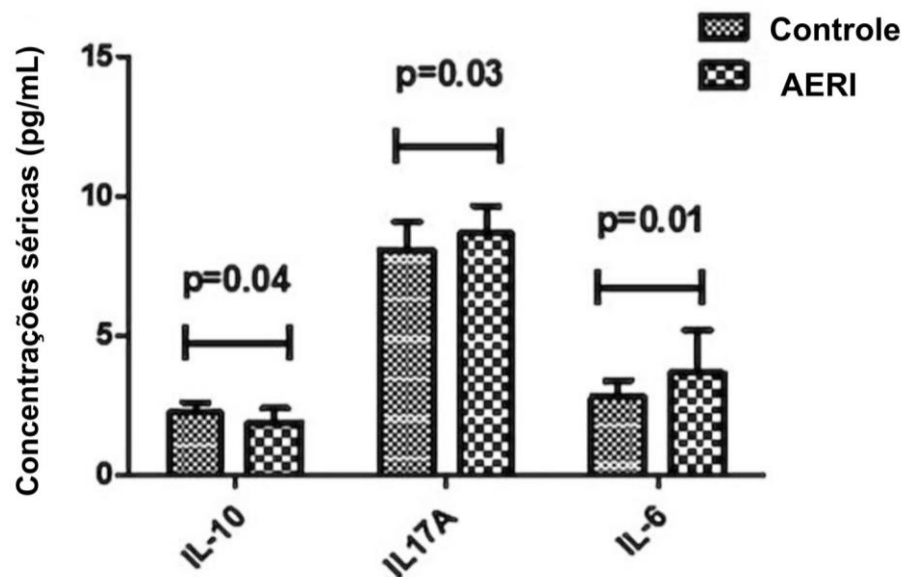
Figura 7. Razão entre Treg/T CD4+ e Th17/T CD4+



Fonte: Adaptado de Zhu *et al.*, 2016.

A figura 5 mostra a porcentagem de células Treg e Th17 entre as células T CD4+. As porcentagens de células Treg entre as células T CD4+ do sangue periférico foram significativamente menores em pacientes com AERI, quando comparadas com o grupo controle. Em contrapartida, as porcentagens de células Th17 foram significativamente maiores nesse mesmo grupo, quando comparado com o grupo controle ($P = 0,0002$ e $P < 0,0001$, respectivamente).

Figura 8. Dosagem de IL-6, IL-10 e IL-17



Fonte: Adaptado de Zhu *et al.*, 2016

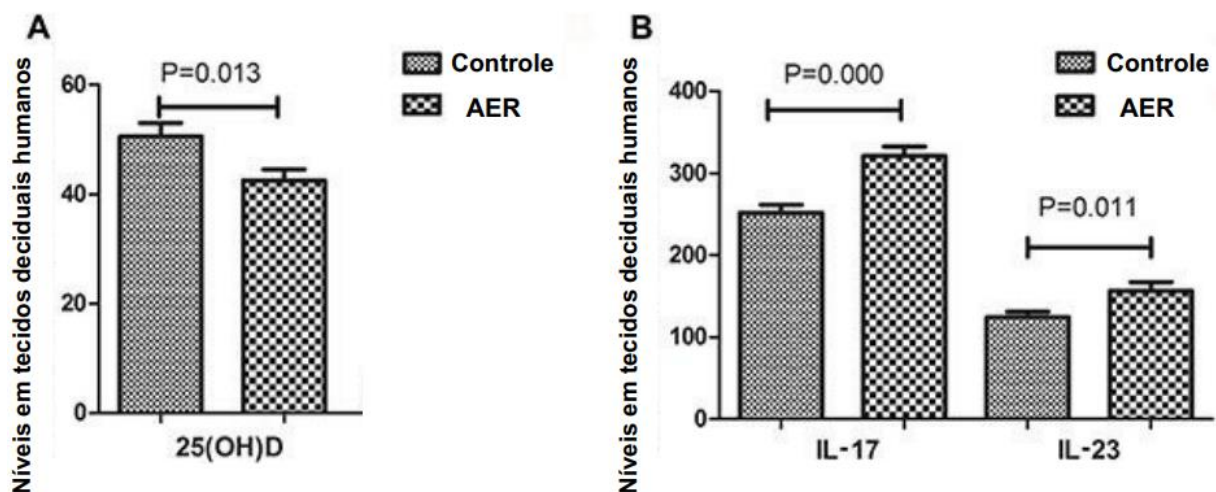
Na figura 6 é possível observar os níveis séricos de citocinas das pacientes com AERI e controles saudáveis. O nível sérico de IL-10 foi significativamente menor em pacientes com AERI quando comparado com controles saudáveis ($P = 0,04$). Já os níveis séricos de IL-17 e IL-6 se mostrou significativamente maior nas pacientes com AERI do que nos controles saudáveis ($P = 0,03$ e $P = 0,01$, respectivamente).

3.4. Mulheres com aborto espontâneo recorrente diminuíram a 25(OH)D e o VDR na interface feto-materna

60 mulheres constituíram a coorte de um estudo conduzido por Li *et al.* (2016), no Primeiro Hospital Afiliado da Universidade Médica na China, de janeiro a dezembro de 2016. Dessas 60 mulheres, 30 delas fizeram parte do grupo de pacientes com

abortos espontâneos recorrentes (AER) e as outras 30 estavam no início da gravidez e foram submetidas, com consentimento, ao aborto eletivo, constituindo o grupo controle. Foram selecionadas mulheres de 25 a 35 anos de idade, que estavam de 7 a 9 semanas de gestação e com fluxo menstrual normal. No grupo controle, a atividade cardíaca fetal foi identificada na semana anterior ao aborto eletivo, enquanto no grupo de mulheres AER, o aborto foi realizado a partir do momento em que o batimento cardíaco fetal não foi detectável durante o exame. Foram testadas as concentrações de 25(OH)D, IL-17 e IL-23 a partir de amostras de tecidos deciduais das pacientes, por meio de kits Elisa, a fim de entender a relação da vitamina D e citocinas inflamatórias em casos de perdas gestacionais.

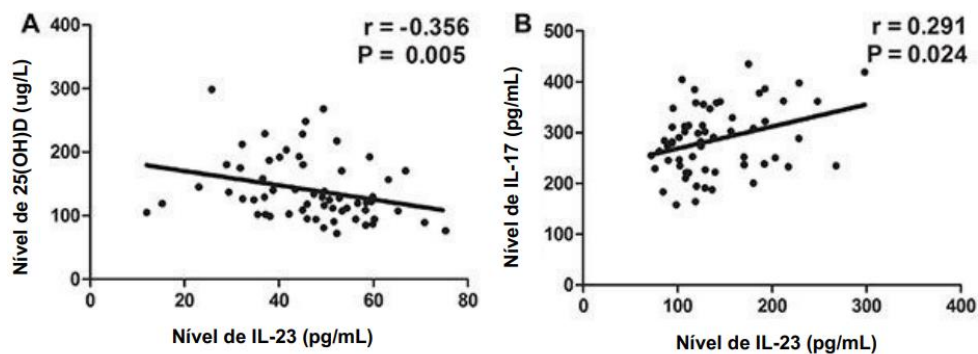
Figura 9. Concentração dos fatores por ensaio imunoenzimático



Fonte: Adaptado de Li *et al.*, 2016.

Os gráficos A e B da figura 7 são referentes aos níveis de 25(OH)D, IL-17 e IL-23 encontrados nos tecidos deciduais de um grupo de mulheres com aborto espontâneo recorrente e um grupo controle. Em ambos os gráficos, a diferença é entendida como significativa quando $p < 0,05$. No gráfico A, o grupo de mulheres com ERA apresentou uma diferença significativa menor em relação aos níveis de 25(OH)D, quando comparado ao grupo controle ($p = 0,013$). Já no gráfico B, IL-17 e IL-23 foram significativamente maiores no grupo AER, quando comparado com o grupo controle.

Figura 10. 25(OH)D X IL-23 e IL-17 X IL-23



Fonte: Adaptado de Li *et al.*, 2016.

A partir de uma análise de correlação, ainda considerando $p < 0,05$ para diferenças significativas, o gráfico A da figura 8 apresenta uma correlação significativamente negativa entre os níveis de 25(OH)D e IL-23 ($p = 0,005$). Em contrapartida, o gráfico B da mesma figura mostra uma correlação significativamente positiva entre os níveis das interleucinas 17 e 23 ($p = 0,024$). Isso demonstra que quanto maiores os níveis de 25(OH)D, menores os da IL-23, da mesma forma, quanto maiores os níveis dessa mesma interleucina, maiores também serão os níveis da IL-17.

3.5. Características do primeiro trimestre da gravidez com deficiência de vitamina D

88 mulheres participaram de uma pesquisa conduzida por Bakleicheva *et al.* (2021), a fim de analisar a relação entre baixas concentrações de vitamina D e quadros de abortos espontâneos. O estudo foi realizado no Instituto de Pesquisa de Obstetrícia, Ginecologia e Reprodutologia em homenagem a DOOtt, São Petersburgo, a partir de 2018 até 2020. As 88 pacientes foram divididas em três grupos mediante a sua disponibilidade de 25(OH)D no soro sanguíneo, avaliado através do método de quimioluminescência. Grupo 1: 14 mulheres com 25(OH)D < 10 ng/ml (deficiência de vitamina D); Grupo 2: 62 mulheres com 25(OH)D entre 10 a 30 ng/ml (deficiência/insuficiência de vitamina D) e grupo 3: 12 mulheres com 25(OH)D > 30 ng/ml (níveis normais de vitamina D).

Figura 11. Resultados encontrados para cada parâmetro avaliado

Parâmetros	1 grupo (n=14) Vit. D ≤10 ng/ml	2 grupo (n=62) Vit. D 10-30 ng/ml	3 grupo (n=12) Vit. D ≥30 ng/ml	Significativo	
Infertilidade na Anamnese (%)	66,7% (8)	37,1% (23)	16,7% (2)	x2: 4,473	P t-3= 0,035
Perda gestacional recorrente (%)	14,3% (2)	4,8% (3)	8,33% (1)	x2: 1,658	P t-3= 0,198
Ameaça de aborto espontâneo (%)	85,7% (12)	69,3% (43)	33,3% (4)	x2: 7,490	P t-3= 0,007

Fonte: Adaptado de Bakleicheva *et al.*, 2021.

Em relação aos parâmetros analisados, na figura 5 é possível observar que o diagnóstico de infertilidade se apresentou significativamente 4 vezes mais provável em mulheres com status de deficiência de vitamina D, quando comparado ao grupo de mulheres com níveis normais de 25(OH)D (66,7% e 16,7%, respectivamente, $p = 0,035$). O grupo 1, composto por mulheres com deficiência grave de vitamina D, apresentou uma frequência 3 vezes maior de quadros de abortos espontâneos recorrentes, frente ao grupo 2 (14,3% e 4,8%, respectivamente). Além disso, ainda no grupo 1, a ameaça de aborto espontâneo se mostrou significativamente 3 vezes maior, quando comparado com o grupo 3 (85,7% e 33,3%, respectivamente, $p = 0,007$).

Figura 12. Porcentagem de interrupção prematura da gravidez

CRITÉRIO	1 GRUPO (N=14) VIT. D ≤10 NG/ML	2 GRUPO (N=62) VIT. D 10-30 NG/ML	3 GRUPO (N=12) VIT. D ≥30 NG/ML	SIGNIFICATIVO
INTERRUPÇÃO PREMATURA DA GRAVIDEZ (%)	33,5% (4)	16,1% (10)	0%	P 1-3 = 0,045

Fonte: Adaptado de Bakleicheva *et al.*, 2021.

Já a figura 6 mostra que, em relação ao critério de interrupção prematura da gravidez, o grupo 1 demonstrou uma porcentagem estatisticamente significativa,

quando comparado ao grupo 3, onde nenhuma gestante apresentou essa complicação (33,5% e 0%, respectivamente, $p = 0,045$).

4. DISCUSSÃO

Durante a gravidez, para além de uma interface para passagem de nutrientes, a placenta assume também papéis endócrinos relevantes na saúde fetal. Esse órgão materno expressa o gene CYP27B1, uma enzima extremamente importante na via metabólica da vitamina D, e pode expressar de igual forma o VDR, tanto no trofoblasto fetal quanto na decídua materna, além disso, alguns dados indicam que 50% do calcitriol da mãe é oriundo desses tecidos (O'Brien *et al.*, 2014). Em outro estudo, Guo *et al.* (2020), observaram que a expressão aumentada de VDR no endométrio, especialmente quando estavam ao longo da janela de implantação do ciclo menstrual, possibilitava as pacientes a terem uma probabilidade significativamente maior de engravidar do que mulheres com expressão de taxas VDR diminuídas. Ou seja, a partir do momento em que o gene CYP27B1 converte a 25(OH)D na sua forma ativa e ela se torna mais disponível circulante seja a nível sérico ou local, mais receptores se fazem presentes em seus respectivos tecidos alvos - consequentemente na placenta - e desse modo, há a contribuição no desenvolvimento da receptividade endometrial (Guo *et al.*, 2020).

Sabe-se também que a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, não é capaz de atravessar a placenta, apenas em sua forma de armazenamento ela é capaz de ultrapassar a barreira placentária para então ser convertida em sua forma ativa, através da ação extrarrenal da 1α -hidroxilase. Por isso os níveis de 25(OH)D circulantes no soro materno são diretamente proporcionais a transferência e consequente produção de vitamina D em meio intrauterino (Dutra *et al.*, 2021). Em um estudo realizado por Andersen *et al.* (2015), foi encontrada uma associação entre baixo status de vitamina D e aborto espontâneo no primeiro trimestre de gestação, em uma coorte de 1683 mulheres doadoras de soro antes da 22ª semana de gravidez, dando luz novamente a uma possível relação entre baixos níveis de VD e perdas gestacionais.

A vitamina D também exerce um papel importante na modulação do sistema imune (Hii e Ferrante, 2016), por isso sua deficiência/insuficiência pode levar a quadros de doenças autoimunes, além de causar complicações na gestação, uma vez que ela pode atuar no estabelecimento da tolerância a implantação fetal (Ota *et al.*, 2014).

No estudo realizado por Li *et al.* (2017), foi encontrada uma diminuição de 25(OH)D e aumento das IL-23 e IL-17 em amostras decíduais de mulheres com histórico de aborto espontâneo recorrente, em comparação com as amostras de mulheres com histórico de gestações normais, deixando clara uma relação significativa negativa de 25(OH)D frente ao eixo IL-23/IL-17. Outro estudo proposto por Zhu *et al.* (2016), demonstrou níveis menores de Treg e IL-10, e maiores de Th17 e IL-6 em um grupo de mulheres com histórico de aborto espontâneo recorrente, quando comparado com um grupo controle de mulheres férteis saudáveis.

A 1,25(OH)₂D atua na resposta imunológica adaptativa inibindo a proliferação e diferenciação de linfócitos B e T, levando a uma mudança para T auxiliar (Th) 2, referente ao equilíbrio Th2/Th1. A vitamina D também aumenta a produção de citocinas Th2, enquanto diminui as citocinas Th17, possivelmente por inibir a produção de IL-6 e IL-23 (Schröder-Heurich *et al.*, 2020). Além disso, o calcitriol promove a ação de células Treg, que são uma subpopulação de linfócitos T capazes de suprimir respostas imunológicas adversas, através da atenuação de células T citotóxicas, células Th1, macrófagos, células dendríticas (CDs) e células natural killer (NK) (Zhang *et al.*, 2022). No que diz respeito as respostas imunológicas inatas, a vitamina D atua em monócitos/macrófagos potencializando seus efeitos antimicrobianos, ela também inibe a maturação de CDs, direcionando essas células a um estado mais tolerogênico (Martens *et al.*, 2020).

As células Th17 apresentam papel importante na regulação de doenças autoimunes e processos inflamatórios, por meio da produção de interleucinas, entre elas a IL-17, uma interleucina com papel pró-inflamatório. Em alguns casos de AER inexplicável, houve relatos de níveis de IL-17 e IL-23 - interleucina precursora de Th17 - aumentados no soro sanguíneo e na decídua, quando comparados a gestações normais. Células do tipo Treg também foram encontradas em níveis baixos em alguns casos de aborto espontâneo sem explicação (Fu *et al.*, 2014).

Outro estudo realizado por Chary *et al.* (2015), avaliou os níveis de células Treg e IL-10 a partir de amostras de sangue de 158 mulheres gestantes, que foram divididas em três grupos (vitamina D suficiente, insuficiente e deficiente), dependendo do seu status de vitamina D. Foram encontrados níveis menores da interleucina 10 ($p < 5$) em gestantes dos grupos com insuficiência e deficiência de 25(OH)D, tanto no sangue materno, como do cordão umbilical. Da mesma forma, a população de células Treg, tanto do sangue materno, quanto no cordão umbilical, se apresentou menor (p

< 0,05) em gestantes com deficiência de 25(OH)D, quando comparado com mulheres dos outros dois grupos, propondo mais uma vez a existência de uma relação direta entre a vitamina D e a modulação do sistema imune, com consequente impacto na tolerância imunológica.

As diretrizes sobre cuidados pré-natais para o bom curso da gestação foram públicas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) pela primeira vez em 2016, e posteriormente, recomendações específicas a respeito da suplementação da vitamina D foram publicadas pelo mesmo órgão. De acordo com a OMS (2020), gestantes que possuem uma dieta pobre em alimentos fontes de vitamina D e baixa exposição solar, podem carecer de suplementação via oral dessa vitamina, contudo, a avaliação para as doses necessárias de suplementação deve ser individualizada para cada gestante, e embasadas por exames laboratoriais, a partir da avaliação das concentrações séricas de 25(OH)D.

Diante da sugestão de relação entre aborto espontâneo e quadros de deficiência/insuficiência de VD, uma pesquisa realizada por Mansur *et al.* (2022), identificou que intervenções não tardias na constatação da baixa de vitamina D e suplementação da mesma, auxiliam na prevenção de doenças respiratórias, autismo, esclerose e até mesmo em casos de perdas gestacionais. Foi demonstrado que valores desse micronutriente superiores a 40 ng/mL favorecem o possível resultado clínico positivo de neonatos e de suas mães. Até mesmo na fase da lactação, Pilz *et al.* (2018) afirmam que essa reposição deve ser feita com afinco, visto que quantidades mínimas - aproximadamente 20% - de 25(OH)D séricas materna são transferidas para o leite da mãe.

Apesar de não haver consenso em relação a um padrão de doses necessárias no processo de suplementação de vitamina D durante a gestação, uma revisão sistemática avaliou os impactos dessa suplementação nos níveis séricos maternos durante a gravidez, e concluiu que a suplementação com doses acima de 1000UI/dia desse micronutriente, resultaram em efeitos positivos em relação as concentrações séricas de vitamina D das gestantes (Colonetti *et al.*, 2022). Já um estudo randomizado duplo-cego avaliou os resultados da suplementação de 25(OH)D em casos de AER, e obtiveram como resposta a diminuição dos níveis da IL-23 e subsequentemente queda na incidência de aborto espontâneo (Samimi *et al.*, 2017), evidenciando a importância de suplementação de vitamina D para o bom curso da gestação, especialmente no primeiro trimestre da gravidez.

5. CONCLUSÃO

O quadro de aborto espontâneo pode apresentar diferentes causas, como anomalias genéticas, infecções durante a gestação, tabagismo e até deficiências nutricionais. A vitamina D é um importante micronutriente que vem sendo relacionado como possível causa para alguns casos de perda gestacional. Diversos estudos concluíram que a deficiência/insuficiência de 25(OH)D pode modular negativamente o primeiro trimestre de gravidez. Além disso, algumas pesquisas de coorte também chegaram à conclusão de que a hipovitaminose D leva a um desequilíbrio imunológico, que pode predispor o aumento de perdas gestacionais. Por isso, a intervenção periconcepcional voltada especificamente para análise do status de vitamina D se faz importante, uma vez que dessa forma é possível avaliar a necessidade de suplementação dessa vitamina no primeiro trimestre de gestação, ou até mesmo ao longo de toda gravidez.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, John. *et al.* Regulation of the Extrarenal CYP27B1-Hydroxylase. **Science Direct**. Volume 144, parte A. pg 22-27. Out, 2014.
- ALVES, M. *et al.* Revisão: Vitamina D—importância da avaliação laboratorial. **Rev Port Endocrinol Diabetes Metab**. 8:32–9, 2013.
- AMEGAH, A. Kofi; KLEVOR, Moses K.; WAGNER, Carol L. Maternal vitamin D insufficiency and risk of adverse pregnancy and birth outcomes: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. **PLoS One**, v. 12, n. 3, p. e0173605, 2017.
- ANDERSEN, Louise B. *et al.* Vitamin D insufficiency is associated with increased risk of first-trimester miscarriage in the Odense Child Cohort. **The American journal of clinical nutrition**, v. 102, n. 3, p. 633-638, 2015.
- AO, Tomoka; KIKUTA, Junichi; ISHII, Masaru. The effects of vitamin D on immune system and inflammatory diseases. **Biomolecules**, v. 11, n. 11, p. 1624, 2021.
- BAKLEICHEVA, M.; BESPALOVA, O.; KOVALEVA, I. Features of the 1st trimester of pregnancy course with severe deficiency of 25 (OH) D. **Gynecological Endocrinology**, v. 37, n. sup1, p. 49-53, 2021.
- BRITO, Bárbara. *et al.* Vitamina D: relação com a imunidade e prevalência de doenças. **Journal of Medicine and Health Promotion**, v.2, n.2, abr/jul, 2017.
- CAMPBELL, MK. Bioquímica. Porto Alegre: Artmed, 2000. 751p.

CASTRO, Luiz Claudio Gonçalves de. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 55, p. 566-575, 2011.

CHARY, A. Vijayendra *et al.* Vitamin D deficiency in pregnant women impairs regulatory T cell function. **The journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 147, p. 48-55, 2015.

COLONETTI, Tamy *et al.* Suplementação de vitamina D durante a gravidez para a prevenção da deficiência de vitamina D em recém-nascidos: uma revisão sistemática e meta-análise. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 22, p. 199-211, 2022.

CYPRIAN, Farhan *et al.* Immunomodulatory effects of vitamin D in pregnancy and beyond. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 2739, 2019.

DAI, Jin *et al.* Metabolism-associated danger signal-induced immune response and reverse immune checkpoint-activated CD40+ monocyte differentiation. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 10, n. 1, p. 1-18, 2017.

DARLING, Andrea L. Vitamin D deficiency in western dwelling South Asian populations: an unrecognised epidemic. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 79, n. 3, p. 259-271, 2020.

DHULL, Rachita Singh *et al.* Raquitismo dependente de vitamina D: tipo 1: série de casos de dois irmãos com mutação CYP27B1 e revisão da literatura. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 42, p. 494-497, 2020.

DUTRA, Letícia Veríssimo; SOUZA, Fabíola Isabel Suano de; KONSTANTYNER, Tulio. Efeitos da suplementação de vitamina D durante a gestação no recém-nascido e lactente: uma revisão integrativa. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 39, 2021.

ESPINOSA, Jaclyn R.; WHEATON, Joshua D.; CIOFANI, Maria. In Vitro Differentiation of CD4+ T Cell Effector and Regulatory Subsets. **T-Cell Receptor Signaling: Methods and Protocols**, p. 79-89, 2020.

FÉLIZ, Débora; ANDRADE, Romário e ROSÁRIO, Kauane. Influência da vitamina D na saúde humana. **Revista de iniciação científica e extensão**, 2019;2(3):163-6.

FU, Binqing; TIAN, Zhigang; WEI, Haiming. TH17 cells in human recurrent pregnancy loss and pre-eclampsia. **Cellular & molecular immunology**, v. 11, n. 6, p. 564-570, 2014.

GALVÃO, Letícia. *et al.* Considerações atuais sobre a vitamina D. **Brasília Med** 2013;50(4):324-332.

GUO, Jing. *et al.* **Characterization of VDR and CYP27B1 expression in the endometrium during the menstrual cycle before embryo transfer: implications for endometrial receptivity.** Reproductive Biology and Endocrinology. Mar, 2020.

HARBOUR, Stacey N. *et al.* TH17 cells require ongoing classic IL-6 receptor signaling to retain transcriptional and functional identity. **Science immunology**, v. 5, n. 49, p. eaaw2262, 2020.

Hill, Charles S.; FERRANTE, Antonio. The non-genomic actions of vitamin D. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 135, 2016.

HOU, W. *et al.* Decreased serum vitamin D levels in early spontaneous pregnancy loss. **European journal of clinical nutrition**, v. 70, n. 9, p. 1004-1008, 2016.

IDERAABDULLAH, Folami. *et al.* Maternal vitamin D deficiency and developmental origins of health and disease (DOHaD). **Journal of Endocrinology**, 241, R65-R80, 2019.

LEMOS, Anderson. *et al.* Interferências no efeito farmacológico mediadas pelas biotransformações dos citocromos p450. **Revista Científica do ITPAC**. Araguaína, v.7, n.2, Pub.3, Abr, 2014.

LI, N. *et al.* Women with recurrent spontaneous abortion have decreased 25 (OH) vitamin D and VDR at the fetal-maternal interface. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, 2017.

LICHTENSTEIN, Arnaldo. *et al.* Vitamina D: ações extraósseas e uso racional. **Rev. Assoc. Med. Bras.** 59 (5). Outubro, 2013.

MAN, Ryan Eyn Kidd *et al.* Prevalence and determinants of suboptimal vitamin D levels in a multiethnic Asian population. **Nutrients**, v. 9, n. 3, p. 313, 2017.

MANSUR, José Luis *et al.* Vitamin D: before, during and after pregnancy: effect on neonates and children. **Nutrients**, v. 14, n. 9, p. 1900, 2022.

MARTENS, Pieter-Jan *et al.* Vitamin D's effect on immune function. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1248, 2020.

MEYER, Mark. *et al.* Mechanistic homeostasis of vitamin D metabolism in the kidney through reciprocal modulation of Cyp27b1 and Cyp24a1 expression. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. Volume 196, Fev, 2020.

MOMENTTI, Ana Carolina; ESTADELLA, Débora; PISANI, Luciana Pellegrini. Role of vitamin D in pregnancy and Toll-like receptor pathway. **Steroids**, v. 137, p. 22-29, 2018.

O'BRIEN, Kimberly. *et al.* Placental CYP27B1 and CYP24A1 Expression in Human Placental Tissue and Their Association With Maternal and Neonatal Calcitropic Hormones. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. Volume 99, Edição 4, pg 1348–1356. Abr, 2014.

OLIVEIRA, Maria Tânia Silva *et al.* Fatores associados ao aborto espontâneo: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 20, p. 361-372, 2020.

OTA, Kuniaki *et al.* Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity. **Human reproduction**, v. 29, n. 2, p. 208-219, 2014.

PALACIOS, Cristina; GONZALEZ, Lilliana. Is vitamin D deficiency a major global public health problem?. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 144, p. 138-145, 2014.

PILZ, Stefan *et al.* The role of vitamin D in fertility and during pregnancy and lactation: a review of clinical data. **International journal of environmental research and public health**, v. 15, n. 10, p. 2241, 2018.

RADZINSKY, V. E. *et al.* Vitamin D insufficiency as a risk factor for reproductive losses in miscarriage. **Gynecological Endocrinology**, v. 37, n. sup1, p. 8-12, 2021.

RUTERBUSCH, Mikel *et al.* In vivo CD4+ T cell differentiation and function: revisiting the Th1/Th2 paradigm. **Annual review of immunology**, v. 38, p. 705-725, 2020.

SAMIMI, Mansoureh *et al.* Effect of vitamin D supplementation on unexplained recurrent spontaneous abortion: a double-blind randomized controlled trial. **Global Journal of Health Science**, v. 9, n. 3, p. 95, 2016.

SCHRÖDER-HEURICH, Bianca; SPRINGER, Clara Juliane Pacifica; VON VERSEN-HÖYNCK, Frauke. Vitamin D effects on the immune system from periconception through pregnancy. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1432, 2020.

SUN, L. *et al.* Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. *Redox Biol* 37: 101759. 2020.

TAMBLYN, Jennifer A. *et al.* Vitamin D and miscarriage: a systematic review and meta-analysis. **Fertility and sterility**, 2022.

URRUTIA-PEREIRA, Marilyn; SOLÉ, Dirceu. Deficiência de vitamina D na gravidez e o seu impacto sobre o feto, o recém-nascido e na infância. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, p. 104-113, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience Nutritional interventions update: Vitamin D supplements during pregnancy**. World Health Organization, 2020.

YONG, Hannah EJ; CHAN, Shiao-Yng. Current approaches and developments in transcript profiling of the human placenta. **Human Reproduction Update**, v. 26, n. 6, p. 799-840, 2020.

ZACHARIOUDAKI, Maria. *et al.* Vitamin D receptor, vitamin D binding protein and CYP27B1 single nucleotide polymorphisms and susceptibility to viral infections in infants. **Scientific Reports**. Jul, 2021.

ZHANG, Heng *et al.* Relationship between maternal Vitamin D levels and adverse outcomes. **Nutrients**, v. 14, n. 20, p. 4230, 2022.

ZHU, Liqiong *et al.* Treg/Th17 cell imbalance and IL-6 profile in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. **Reproductive Sciences**, v. 24, n. 6, p. 882-890, 2017.