



PROGRAMA DE DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA, CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

**“DEFICIENCIA DE VITAMINA D Y DIABETES GESTACIONAL  
EN RELACIÓN CON EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL”**

**Núria Agüero Domènech**

Director de la tesis

**Prof. Dr. D. Ernesto Cortés Castell**

Codirectora de la tesis

**Dra. Dña. María Josefa García Teruel**

---

Universidad Miguel Hernández de Elche



La presente memoria de tesis doctoral, con el título “DEFICIENCIA DE VITAMINA D Y DIABETES GESTACIONAL EN RELACIÓN CON EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL” y presentada por Dña. Nuria Agüero Doménech está basada en los artículos cuya primera firmante es la autora y con los índices de calidad que se expresan:

1. Agüero-Domenech, N.; Jover, S.; Sarrión, A.; Baranda, J.; Quesada-Rico, J.A.; Pereira-Expósito, A.; Gil-Guillén, V.; Cortés-Castell, E.; García-Teruel, M.J. Vitamin D Deficiency and Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Body Mass Index. *Nutrients* 2022, 14, 102. <https://doi.org/10.3390/nu14010102>.

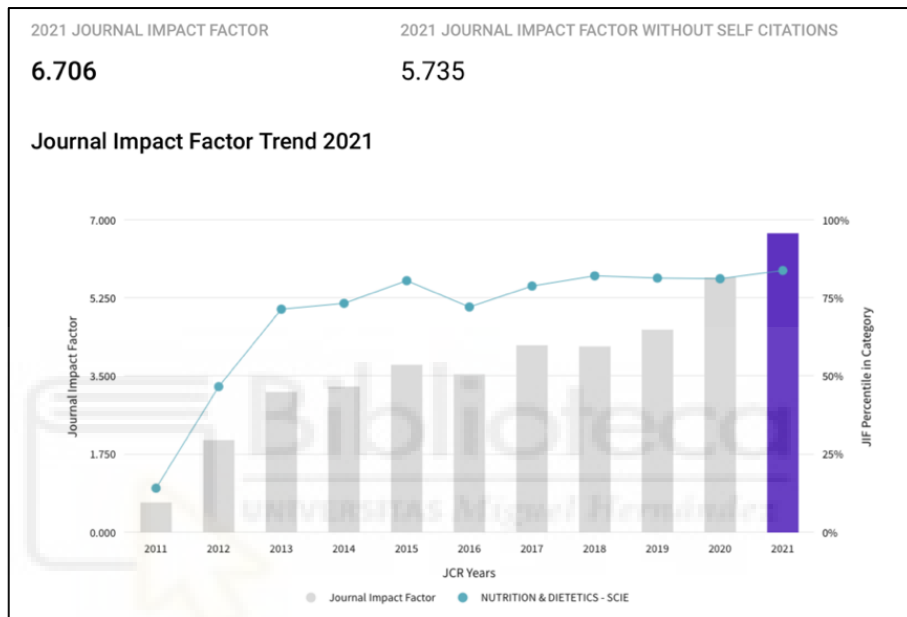
2. Agüero-Domenech, N.; Bernabeu, E.; García-Valentín, A.; Sarrión, A.; Jover, S.; Baranda, J.; Cortés-Castell, E.; Gil-Guillén, V.; García-Teruel, M.J. Influence of Strict Lockdown on Vitamin D Deficiency in Pregnant Women: A Word of Caution. *Nutrients* 2023, 15, 1972. <https://doi.org/10.3390/nu15081972>









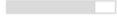




Indicadores de calidad revista **Nutrients** (ISSN:2072-6643), según *Journal Citation Reports* (Clarivate):

<https://jcr.clarivate.com/jcr-jp/journal-profile?journal=NUTRIENTS&year=2021&fromPage=%2Fjcr%2Fbrowse-journals>

Factor de Impacto (año 2021): **6.706**; Factor de Impacto (últimos 5 años): **7.185**



JCR category Rank: **Q1**. Nutrition and Dietetics; H5-Index **125**. Nutrition Science.

EDITION				
Science Citation Index Expanded (SCIE)				
CATEGORY				
NUTRITION & DIETETICS				
<b>15/90</b>				
JCR YEAR	JIF RANK	QUART ILE	JIF PERCENTILE	
2021	15/90	Q1	83.89	
2020	17/88	Q1	81.25	
2019	17/89	Q1	81.46	
2018	16/87	Q1	82.18	
2017	18/83	Q1	78.92	
2016	23/81	Q2	72.22	
2015	16/80	Q1	80.63	
2014	21/77	Q2	73.38	
2013	23/79	Q2	71.52	
2012	41/76	Q3	46.71	
2011	64/74	Q4	14.19	





PROGRAMA DE DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA, CIENCIAS MÉDICAS Y  
QUIRÚRGICAS

Dña. María del Mar Masiá Canuto, Coordinadora del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

AUTORIZA:

La presentación y defensa como tesis doctoral del trabajo **“DEFICIENCIA DE VITAMINA D Y DIABETES GESTACIONAL EN RELACIÓN CON EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL”** realizado por Dña. Nuria Agüero Doménech bajo la dirección del Dr. D. Ernesto Cortés Castell y la Dra. Dña. María Josefa García Teruel.

De acuerdo con la información recibida sobre las evaluaciones previas realizadas en cumplimiento de la normativa vigente y propia de la Universidad Miguel Hernández de Elche y según lo certificado por las personas que han realizado la tutoría y la dirección, la tesis cumple los requisitos para proceder a su defensa pública.

San Joan d'Alacant, a 20 de septiembre de dos mil veintitrés.

Fdo. Profesora María del Mar Masiá Canuto

Coordinadora del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y  
Quirúrgicas

Catedrática de la Universidad Miguel Hernández de Elche

PROGRAMA DE DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA, CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

Campus de Sant Joan d'Alacant. Ctra. de Valencia (N-332), Km. 87- 03550 Sant Joan d'Alacant

Telf: 96 5233755 [malmarcha@umh.es/](mailto:malmarcha@umh.es)







PROGRAMA DE DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA, CIENCIAS MÉDICAS Y  
QUIRÚRGICAS

AUTORIZACIÓN DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. Ernesto Cortés Castell, director, y la Dra. Dña. María José García Teruel, codirectora de la tesis doctoral titulada **“DEFICIENCIA DE VITAMINA D Y DIABETES GESTACIONAL EN RELACIÓN CON EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL”**

**INFORMAN:**

Que Dña. Nuria Agüero Doménech, ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “Deficiencia de vitamina D y Diabetes Gestacional en relación con el Índice de Masa Corporal” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo con el Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos para los efectos oportunos, en San Juan de Alicante, a 20 de  
septiembre de 2023.

Director de la tesis

Codirectora de la tesis

Fdo. D. Ernesto Cortés Castell

Fdo. Dña. María Josefa García Teruel

PROGRAMA DE DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA, CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

Campus de Sant Joan d'Alacant. Ctra. de Valencia (N-332), Km. 87- 03550 Sant Joan d'Alacant

Telf: 96 5233755 malmarcha@umh.es/





## INFORME DE EVALUACIÓN DE INVESTIGACIÓN RESPONSABLE

Elche, a 24/05/2023

Director/a	Ernesto Cortés Castell
Codirectores/as	María Josefa García Teruel
Estudiante	Nuria Agüero Domenech
Programa de doctorado	Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas
Título de la tesis doctoral	Deficiencia de vitamina D y diabetes gestacional en relación con el índice de masa corporal
Tipo de actividad	Adherido a un proyecto autorizado
Evaluación de riesgos laborales	No solicitado/No procede
Evaluación ética	No solicitado/No procede
Código provisional	230522190511
Código de autorización COIR	ADH.SPU.ECC.NAD.23
Caducidad	8 años*

**\*Importante:** La caducidad de las autorizaciones de tesis, basadas en la adhesión a un proyecto de investigación, están condicionadas a la vigencia de la autorización de dicho proyecto en este sentido: todas las actividades de la tesis que tengan implicaciones ético-legales deberán realizarse mientras dicho proyecto esté vigente. Dicho de otro modo, sólo podrán realizarse actividades de carácter intelectual una vez el proyecto al que se adhiere haya caducado.

Se considera que la presente actividad no supone riesgos laborales adicionales a los ya evaluados en el proyecto de investigación al que se adhiere. No obstante, es responsabilidad del tutor/a informar y/o formar al estudiante de los posibles riesgos laborales de la presente actividad.

La necesidad de evaluación ética del trabajo titulado: **Deficiencia de vitamina D y diabetes gestacional en relación con el índice de masa corporal** ha sido realizada en base a la información aportada en el formulario online: "Solicitud Código de Investigación Responsable (COIR)", habiéndose determinado que no requiere ninguna evaluación adicional. Es importante destacar que si la información aportada en dicho formulario no es correcta este informe no tiene validez.

Por todo lo anterior, **se autoriza** la realización de la presente actividad.

Atentamente,

Alberto Pastor Campos  
Secretario del CEII  
Vicerrectorado de Investigación y Transferencia

Página 1 de 2



Información adicional:

- En caso de que la presente actividad se desarrolle total o parcialmente en otras instituciones es responsabilidad del investigador principal solicitar cuantas autorizaciones sean pertinentes, de manera que se garantice, al menos, que los responsables de las mismas están informados.
- Le recordamos que durante la realización de este trabajo debe cumplir con las exigencias en materia de prevención de riesgos laborales. En concreto: las recogidas en el plan de prevención de la UMH y en las planificaciones preventivas de las unidades en las que se integra la investigación. Igualmente, debe promover la realización de reconocimientos médicos periódicos entre su personal; cumplir con los procedimientos sobre coordinación de actividades empresariales en el caso de que trabaje en el centro de trabajo de otra empresa o que personal de otra empresa se desplace a las instalaciones de la UMH; y atender a las obligaciones formativas del personal en materia de prevención de riesgos laborales. Le indicamos que tiene a su disposición al Servicio de Prevención de la UMH para asesorarle en esta materia.

La información descriptiva básica del presente trabajo será incorporada al repositorio público de tesis autorizadas por la Oficina de Investigación Responsable de la Universidad Miguel Hernández. También se puede acceder a través de <https://oir.umh.es/solicitud-de-evaluacion/proyectos-de-investigacion/>



## **Beca y financiación externa recibida.**

La autora de la presente tesis doctoral recibió una ayuda de investigación para la realización de parte del presente proyecto de investigación a través de la **Fundación Navarro-Tripodi**, en su convocatoria correspondiente al año 2020. El Patronato de la Fundación está constituido por el Colegio de Médicos de Alicante (COMA), la Cámara de Comercio de Alicante y la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH).

Importe de la beca: 1520€.





## TABLA DE CONTENIDOS

0.- LISTADO DE ABREVIATURAS .....	19
1.- RESÚMENES / SUMMARIES.....	21
1.1.- Resúmenes: .....	21
1.1.1.- “Deficiencia de vitamina D y Diabetes Gestacional en relación con el Índice de Masa Corporal” .....	21
1.1.2.- “Influencia del confinamiento estricto en la deficiencia de vitamina D en gestantes: un toque de atención” .....	22
1.2.- Summaries: .....	23
1.2.1.- “Vitamin D Deficiency and Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Body Mass Index “ .....	23
1.2.2.- “Influence of Strict Lockdown on Vitamin D Deficiency in Pregnant Women: A Word of Caution” .....	24
2.-INTRODUCCIÓN. ....	25
2.1.- ¿Sería aconsejable el cribado universal de la deficiencia de vitamina D en la población? .....	27
2.2.- ¿Qué fracción de la vitamina D es la que mejor refleja su situación global en el ser humano?.....	27
2.3.- ¿Cuál es la forma más adecuada de medir la vitamina D?.....	28
2.4.- ¿Qué niveles se consideran óptimos para cubrir las necesidades del organismo, tanto a nivel óseo como en el resto de las funciones en las que participa la vitamina D?.....	28
2.5.- ¿Debemos estudiar la deficiencia de vitamina D en la gestación? ¿Debemos suplementar con vitamina D a las gestantes? ¿Debemos tratar la insuficiencia de vitamina D durante el embarazo? .....	29
2.6.- ¿Es seguro administrar vitamina D en la gestación? .....	31
2.7.- La deficiencia de vitamina D en la gestación en subgrupos de riesgo: obesidad y diabetes gestacional.....	33
3.- JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO E HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	35

3.1.- Justificación del estudio.....	35
3.2.- Hipótesis de trabajo.....	36
4.- OBJETIVOS.....	37
4.1.- Objetivo primario.....	37
4.2.- Objetivos secundarios.....	37
5.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
5.1. Población de estudio.....	39
5.2. Recogida de datos.....	40
5.2.1. Evaluación de los niveles de vitamina D, (25(OH)D).....	40
5.2.2. Evaluación de la diabetes gestacional (DG).....	40
5.2.3. Evaluación del Índice de Masa Corporal (IMC).....	41
5.2.4. Evaluación del resto de covariables.....	41
5.2.5. Definición del grupo de confinamiento estricto (CE).....	42
5.2.6. Valoración de la dosis UVB específica para la vitamina D (D-UVB), en el área geográfica del estudio.....	42
5.3.- Análisis estadístico.....	43
5.3.1.- Cálculo del tamaño muestral.....	43
5.3.2.- Análisis descriptivo.....	44
5.3.3.- Primer estudio: Análisis de la asociación entre DVD con DG en relación con el IMC.....	44
5.3.4.- Segundo estudio: Análisis de la asociación entre el CE y la prevalencia de DVD.....	44
5.3.5.- Herramientas empleadas.....	45
6.- RESULTADOS.....	47
6.1. Características de las participantes en el primer estudio.....	47
6.2. Características de las participantes en el segundo estudio.....	51



6.3.- Resultados del primer estudio:.....	53
6.3.1.- Valoración de la asociación entre DVD y DG: relación con el IMC. ....	53
6.3.2.- Valoración de eventos secundarios obstétricos y neonatales: asociación con el DVD y con el IMC. ....	55
6.4.- Resultados del segundo estudio:.....	57
6.4.1.- Distribución de la dosis de D-UVB en nuestra área geográfica.....	57
6.4.2.- Distribución estacional de la media de VD.....	58
6.4.3.- Distribución estacional de la prevalencia de DVD. ....	58
6.4.4.- Análisis de regresión de los niveles de 25(OH)D y dosis D-UVB en relación con la situación de CE. ....	60
6.4.5.- Estudio transversal: valoración de la asociación entre DVD y CE. ....	60
6.4.6.- Modelo logístico binario de DVD en relación con el CE, ajustado por la dosis medida de D-UVB.....	61
7.- DISCUSION.....	63
7.1. Discusión del primer estudio. ....	63
7.2. Discusión del segundo estudio. ....	65
8.- LIMITACIONES. ....	69
8.1. Limitaciones del primer estudio. ....	69
8.2. Limitaciones (y fortaleza) del segundo estudio.....	70
9.- CONCLUSIONES.....	71
9.1. Conclusiones del primer estudio. ....	71
9.2. Conclusiones del segundo estudio. ....	71
10.- REFERENCIAS. ....	73
11.- ANEXO. ....	83
12.- AGRADECIMIENTOS.....	107



## 0.- LISTADO DE ABREVIATURAS

25(OH)D	25-hidroxi-vitamina D
AIC	Criterio de información Akaike
BMI	<i>Body mass index</i>
CDC	Centro para el control de enfermedades de los Estados Unidos de America
CE	Confinamiento estricto
DE	Desviación estándar
DG	Diabetes gestacional
D-UVB	Dosis de UVB específica de vitamina D
DVD	Deficiencia de vitamina D
ESA	Agencia Espacial Europea
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
GDM	<i>Gestational diabetes mellitus</i>
HOMA-IR	<i>Homeostasis modelo f assessment-insuline resistance</i>
IC95%	Intervalo de confianza al 95%
IMC	Indice de masa corporal
IOF	<i>International Osteoporosis Foundation</i>
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
JCR	<i>Journal Citation Report</i>
NCE	No confinamiento estricto
NY	Nueva York
OMS	Organización Mundial de la Salud

PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PCR	Proteína C reactiva
POR	<i>Odds ratio</i> de la prevalencia.
PR	<i>Prevalence ratio</i>
RP	Razón de prevalencia
SEGO	Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia
SEIOMM	Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral
SL	<i>Strict lockdown</i>
SOG	Sobrecarga oral de glucosa
TEMIS	Servicio de Internet de Monitorización de Emisiones Troposféricas
TX	Texas
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
UI	Unidades Internacionales
USA	Estados Unidos de América
UVB	Ultravioleta B
VD	Vitamina D
VDD	<i>Vitamin D deficiency</i>
VDSCP	Programa de estandarización y certificación de vitamina D
WA	Washington



## **1.- RESÚMENES / SUMMARIES.**

### **1.1.- Resúmenes:**

*1.1.1.- “Deficiencia de vitamina D y Diabetes Gestacional en relación con el Índice de Masa Corporal”.*

Se ha descrito una relación entre la deficiencia de vitamina D (DVD) y la diabetes gestacional (DG). Dado que la prevalencia de DG varía con el Índice de Masa Corporal (IMC), nuestro objetivo primario fue determinar si la DVD estaba asociada con la DG de forma independiente del IMC. Para ello, realizamos un estudio observacional y transversal con 886 gestantes, en Elda (España) entre septiembre de 2019 y julio de 2020. Se estimó la asociación mediante ajuste de modelos de Poisson con varianza robusta y estimación de razón de prevalencias. La prevalencia observada de DG fue del 10.5%, y de DVD del 55.5%. El ajuste crudo mostró que la DVD y la obesidad se asociaron a la DG, pero en el modelo multivariante solo el DVD mantuvo su asociación significativa (RP = 1.635, p = 0.038). El análisis de otros eventos secundarios no mostró diferencias con el DVD, pero sí con el IMC como la mayor frecuencia de parto por cesáreas y de neonatos con percentiles >90 de peso en el grupo de madres con obesidad. En conclusión, la DVD está asociada a DG de forma independiente del BMI. Futuros estudios longitudinales podrían establecer relaciones causales.

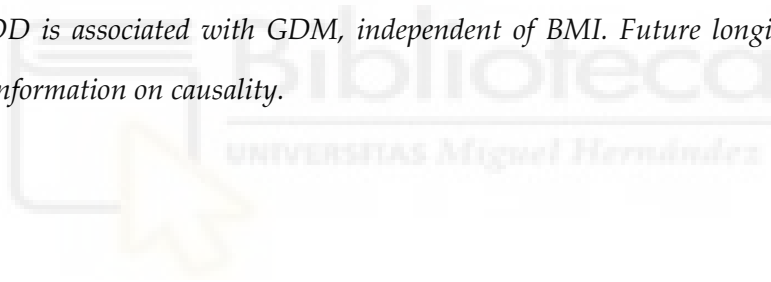
### 1.1.2.- “Influencia del confinamiento estricto en la deficiencia de vitamina D en gestantes: un toque de atención”.

La principal fuente de vitamina D resulta de la exposición cutánea a la luz solar. El DVD está asociado a varios eventos adversos durante el embarazo. En el curso de un estudio transversal con 886 gestantes en Elda (España) entre septiembre de 2019 y julio de 2020 para determinar la asociación entre el DVD y la DG en relación con el IMC, se declaró un confinamiento estricto por la pandemia por COVID-19 entre el 15 de marzo de 2020 y el 15 de mayo de 2020. Para determinar si el confinamiento estricto influyó en la prevalencia de DVD en la población local de embarazadas, se realizó de forma retrospectiva un estudio transversal para estimar la *odds ratio* de la prevalencia (POR) para la asociación entre VDD y el confinamiento estricto. Se calculó un modelo crudo de regresión logística, y posteriormente fue ajustado por la dosis quincenal medida de ultravioleta B específico de vitamina D en nuestra área geográfica. La POR durante el confinamiento estricto fue 4.0 (IC95% = 2.7 – 5.7), con una prevalencia del 77.8% en el periodo de cuarentena. Nuestros resultados revelaron que la prevalencia de DVD en la población gestante fue influida por el confinamiento estricto. Esta valiosa información podría guiarnos en el futuro si las autoridades ordenan a la población permanecer en los domicilios por cualquier motivo.

## **1.2.- Summaries:**

### *1.2.1.- "Vitamin D Deficiency and Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Body Mass Index "*

*A relationship between vitamin D deficiency (VDD) and gestational diabetes mellitus (GDM) has been described. Considering that GDM prevalence depends on body mass index (BMI), our main objective was to determine if VDD is associated with GDM, independent of BMI. A cross-sectional study with 886 pregnant women was conducted in Elda (Spain) from September 2019 to July 2020. To assess the association, Poisson regression models with robust variance were used to estimate the prevalence ratio (PR). The observed GDM prevalence was 10.5%, while the VDD prevalence was 55.5%. In the crude model, both VDD and obesity were associated with GDM, but in the adjusted model, only VDD was statistically significant (PR = 1.635,  $p = 0.038$ ). A secondary event analysis did not detect differences in VDD, but BMI yielded a higher frequency of births by cesarean section and newborns with a >90 percentile weight in the obesity group. In conclusion, VDD is associated with GDM, independent of BMI. Future longitudinal studies could provide information on causality.*



### 1.2.2.- *“Influence of Strict Lockdown on Vitamin D Deficiency in Pregnant Women: A Word of Caution”*

*The main source of vitamin D results from skin sunlight exposure. Vitamin D deficiency (VDD) is linked to several adverse events during pregnancy. While performing a cross-sectional study with 886 pregnant women in Elda (Spain) from September 2019 to July 2020 to determine the association of VDD with gestational diabetes mellitus in relation to body mass index, a strict lockdown (SL) due to the COVID-19 pandemic was declared from 15 March 2020 to 15 May 2020. To determine if VDD prevalence in the local population of pregnant women was influenced by SL, a retrospective cross-sectional study was conducted to estimate the prevalence odds ratio (POR) for the association of VDD and SL. A crude logistic regression model was calculated, and then further adjusted by the biweekly measured vitamin D-specific UVB dose in our geographical area. The POR during SL was 4.0 (95%CI = 2.7–5.7), with a VDD prevalence of 77.8% in the quarantine period. Our results revealed that VDD prevalence in pregnant women was influenced by SL. This valuable information could guide us in future if public officials order the population to stay indoors for any given reason.*





## 2.-INTRODUCCIÓN.

La deficiencia de vitamina D (DVD) en España es una realidad cada vez más evidenciada en la bibliografía reciente, al igual que ocurre este fenómeno en la población mundial [1-3].

La vitamina D (VD) o calciferol es una vitamina liposoluble cuya principal fuente de obtención para el organismo humano es su síntesis endógena, a nivel cutáneo, a partir de la transformación del 7-dehidrocolesterol en colecalciferol en presencia de luz solar. Es la radiación ultravioleta B (UVB) con una longitud de onda de 280-315 nanómetros (nm) la responsable de la adquisición del 80% - 85% de la cantidad diaria de vitamina D que requiere el organismo[4-6]. La absorción de radiación UVB está condicionada por el tipo de exposición solar que depende de la latitud y altitud terrestre, el ángulo cenital solar, de la extensión corporal presentada, de la estación del año y del momento del día, así como de factores poblacionales como el fototipo cutáneo, el uso de protectores solares, la edad y el índice de masa corporal (IMC) entre otros [7-11]. Hay varios estudios que han explorado la relación entre la exposición a radiación solar UVB y los niveles séricos de 25-hidroxi-vitamina D (25(OH)D) [12-14]. Recientemente, se han descrito variaciones significativas estacionales y regionales en la radiación UVB en Europa, las cuales pueden tener un impacto en la producción corporal de VD. Además, las diferencias mensuales en la radiación acumulada y media ponderada, la cual toma en cuenta factores como latitud, altitud y nubosidad, están correlacionadas de forma significativa con cambios en la media de 25(OH)D en diferentes poblaciones [15]. En la población general, se recomiendan exposiciones solares diarias de 10 a 20 minutos, en función de la estación del año, para conseguir producir dosis saludables de VD (correspondientes a la ingesta de 1000 UI) [16].

El aporte dietético, aunque en menor medida, también puede contribuir a conseguir niveles óptimos de VD, en su forma vegetal (ergocalciferol o vitamina D<sub>2</sub>) o en su forma animal (colecalciferol o vitamina D<sub>3</sub>). Son muy pocos los alimentos que contienen de forma natural esta vitamina, por lo que resulta casi inalcanzable conseguir un aporte

adecuado de VD solo con la dieta. En países como Estados Unidos de América (USA), Canadá y Finlandia, tienen décadas de experiencia en la fortificación de algunos alimentos con VD, como los lácteos, para asegurar que la población consiga niveles adecuados de forma efectiva y segura [17,18].

La VD tiene un papel crítico tanto, en el adecuado metabolismo del fósforo y del calcio, como en la calidad ósea. Su deficiencia se relaciona, dependiendo de la duración y severidad de su carencia, con el desarrollo de raquitismo en la infancia y con la aparición de osteomalacia y osteoporosis en el adulto. También participa en otras múltiples funciones extra esqueléticas menos conocidas, relacionadas con el sistema muscular, el sistema cardiocirculatorio, el sistema inmune y su déficit parece asociarse a un mayor riesgo de determinadas neoplasias, entre otros [19]. En muchos estudios, se ha relacionado su déficit como posible marcador de estrés oxidativo y de riesgo metabólico [20,21].

En las revisiones bibliográficas actuales sobre los niveles de VD en la población mundial, encontramos concentraciones séricas de 25(OH)D menores a 30 nmol/L y menores a 50 nmol/L en un 13,0% y un 40,4% de la población general en Europa, y un 6,7% y 26,0% de la población de USA, respectivamente [22,23].

En la población española esta situación es muy similar. Los datos disponibles confirman que existe una insuficiencia, y aún franca deficiencia, en la población española, en todas las edades estudiadas y en ambos sexos [24]. Se han encontrado concentraciones de 25(OH)D por debajo de 20 ng/mL en el 80-100 % de los individuos mayores de 65 años y en el 40 % de los menores de 65 años [25].

Esta deficiencia es similar a la existente en todo el mundo, incluyendo en ellas a regiones muy soleadas, incluidos otros países de la cuenca del Mediterránea [26]. En España, tanto la ingesta estimada de VD, como el uso de suplementos de VD, son unos de los más bajos de Europa [27]. Estos hechos, junto a la creciente protección solar en los meses estivales, y que la mayor parte del territorio español se sitúa por encima del paralelo

35°N podría explicar, en parte, la elevada incidencia de DVD en nuestra población. Existen subpoblaciones de alto riesgo, como las embarazadas y la obesidad.

### **2.1.- ¿Sería aconsejable el cribado universal de la deficiencia de vitamina D en la población?**

La respuesta a esta pregunta es controvertida. La Sociedad Española de Endocrinología no respalda el cribado universal de DVD, sino que recomienda que las medidas de Salud Pública deben dirigirse a personas o grupos que acumulan factores de riesgo, como ocurre en el caso de las embarazadas y mujeres lactantes [28], enfermedades que limitan la absorción de la VD (como las enfermedades inflamatorias intestinales o la cirugía bariátrica), las enfermedades relacionadas con el metabolismo óseo (como la osteoporosis), las enfermedades renales crónicas, la población anciana (sobre todo en caso de estar institucionalizada), los pacientes obesos, y los colectivos con baja exposición solar, entre otros [29,30].

La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO), en su protocolo de manejo de la gestación actualizado en 2017, recomienda que si bien no hay datos suficientes para indicar un cribado rutinario de VD a todas las embarazadas, en aquellas gestantes con mayor riesgo de DVD, como las obesas, las que tengan factores de riesgo de preeclampsia, una baja exposición solar, o aquellas que hayan sido sometidas a cirugías gastrointestinales que limiten la absorción, se debería realizar esta determinación al inicio de la gestación [31]. Pese a esta recomendación, esta práctica no está generalizada en la actualidad.

### **2.2.- ¿Qué fracción de la vitamina D es la que mejor refleja su situación global en el ser humano?**

Dada la existencia de múltiples metabolitos con diferente actividad biológica, debemos establecer cuál es el que mejor evalúa el valor real de la VD. Las guías actuales recomiendan usar en la práctica clínica habitual el nivel de 25(OH)D circulante [32]. Este metabolito, también denominado calcifediol, engloba la cantidad de la VD obtenida por la síntesis endógena (a través de la exposición solar), la obtenida por medio de la dieta,

y la VD suplementada. Existen evidencias sólidas de que los niveles de este metabolito están en relación con eventos clínicos, como la mineralización ósea, el riesgo de fractura, la mortalidad general y los eventos cardiovasculares [33].

### **2.3.- ¿Cuál es la forma más adecuada de medir la vitamina D?**

En la actualidad, la valoración de las concentraciones en sangre de 25(OH)D resulta dificultosa. Existen múltiples métodos de laboratorio para su determinación, con diferencias en cuanto a su precisión y exactitud [34,35].

La cromatografía líquida de alta resolución con detección ultravioleta es la técnica de referencia más accesible. También se emplea ampliamente el inmunoensayo, aunque presenta menor exactitud [36,37].

### **2.4.- ¿Qué niveles se consideran óptimos para cubrir las necesidades del organismo, tanto a nivel óseo como en el resto de las funciones en las que participa la vitamina D?**

En la actualidad, no existe un criterio claramente establecido sobre las concentraciones de VD necesaria en la población sana, ni en la de alto riesgo. Recientemente, se ha indicado que el rango óptimo deseable de 25(OH)D sérica estaría entre 20-40 ng/mL [38,39], y que las concentraciones por debajo de estos valores serían indicativas de un DVD.

Existen diferentes puntos de corte aceptados como valores de normalidad de niveles séricos de 25(OH)D en función de la institución que consultemos. Para el *Institute of Medicine* (IOM) [40] se consideran valores de suficiencia aquellos superiores a 20 ng/mL a diferencia de los referidos por la *International Osteoporosis Foundation* (IOF) que considera como valores de normalidad niveles por encima de 30 ng/mL. Este umbral está apoyado por la *American Society of Endocrinology* [28]. En España, la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM) considera unos niveles inferiores a 20 ng/mL como claramente patológicos. Unas concentraciones en sangre superiores a 30 ng/mL garantizarían una salud ósea óptima, aunque es posible

que se precisen valores superiores para conseguir resultados favorables en otros problemas de salud [25,41].

Existen estudios que intentan definir el nivel máximo seguro de VD, dado que algunos trabajos relacionan unos niveles elevados mantenidos de 25(OH)D con riesgo por muerte cardiovascular (niveles superiores a 50-60 ng/mL). Actualmente, hasta que no se consoliden evidencias más sólidas sobre los beneficios extraóseos de niveles más elevados de VD, parece razonable tener como objetivo concentraciones séricas de 25(OH)D entre 30 y 50 ng/mL con los que se consigue un perfil óptimo de seguridad [25].

## **2.5.- ¿Debemos estudiar la deficiencia de vitamina D en la gestación? ¿Debemos suplementar con vitamina D a las gestantes? ¿Debemos tratar la insuficiencia de vitamina D durante el embarazo?**

La DVD es común en el embarazo y en el recién nacido (se presenta en el 54% y el 75%, respectivamente) [1,42]. Al igual que en la población general, esta circunstancia afecta a gestantes de todas las latitudes, no sólo a aquellas con menor exposición solar. En estudios realizados en población gestante del Mediterráneo la prevalencia de insuficiencia de VD oscila del 9,3% al 41,4% [43].

En la actualidad no existe un consenso acerca de la necesidad de evaluación de los niveles de VD durante la gestación, ni de la necesidad de la suplementación durante el mismo [44,45].

La importancia del estudio del nivel de VD en la gestación, radica en que su déficit ha sido relacionado, con evidencias contradictorias [44], con la aparición de diversos eventos adversos durante el embarazo, como la aparición de pre-eclampsia [46], de diabetes gestacional (DG) [47], de parto prematuro, de mayor riesgo de cesárea. También se ha relacionado con consecuencias en el recién nacido, como el bajo peso al nacimiento (< 2500g), la disminución del perímetro cefálico y problemas en el neurodesarrollo infantil [48,49].

La suplementación de VD en el embarazo se ha sugerido como una intervención que podría mejorar estos resultados. En la actualidad, existe un creciente número de estudios que examinan la eficacia y la seguridad de esta intervención en el embarazo [50,51]. Una reciente revisión sistemática evaluó la suplementación con VD frente al placebo/control, y encontró una probable reducción del riesgo relativo de preeclampsia, de DG, de recién nacido con bajo peso al nacimiento (< 2500g), y una posible reducción de la hemorragia postparto. Sin embargo, encontró poca o ninguna diferencia con respecto al riesgo de tener un parto prematuro (< 37 semanas de gestación) [52]. Recientemente, Rostami M. *et al.* describieron la eficacia de un programa de cribado para mejorar los niveles de 25(OH)D en la gestación, y encontraron una marcada reducción en los eventos adversos registrados en las gestantes que fueron cribadas y suplementadas con VD [53,54].

Existe controversia en la actualidad respecto a la necesidad de suplementar sistemáticamente con VD a todas las gestantes, y la realidad en nuestro medio es que no se suplementan de rutina. Aunque algunas gestantes toman polivitamínicos, la mayoría de los comercializados en nuestro país para las gestantes sólo contienen 5 µg (200 unidades) de VD, y sólo algunos contienen 10 µg (400 unidades). Estas cantidades son muy inferiores a las recomendadas en caso de DVD.

La última revisión sobre este tema, actualizada en el “*Up-to-date*” [38], se recomienda la suplementación rutinaria de los niños de 1 a 18 años, los adultos menores de 70 años, las gestantes y también las mujeres durante la lactancia, con dosis de alrededor de 600 UI (los mayores de 70 años deberían recibir dosis superiores, sobre las 800 UI), siguiendo las indicaciones de distintas guías [40,55,56] entre las que se incluye la de la SEGO [31].

En lo que sí que coincide, de forma consistente la literatura, es en la indicación del tratamiento del DVD [31,55], en caso de ser diagnosticado.

La dosis adecuada de tratamiento actualmente es muy controvertida. Hemos de tener en cuenta que la respuesta individual a la administración de esta vitamina es muy heterogénea, ya que será el resultado de la combinación de múltiples factores

(exposición solar, IMC, factores genéticos y los niveles de 25(OH)D de los que partamos). Los diferentes estudios realizados utilizan dosis muy variables, desde 400 UI diarias a 4000 UI diarias. Las distintas sociedades científicas tampoco llegan a un acuerdo al respecto. Se proponen pautas tan dispares como la de OMS [50,57] con 200 UI diarias, frente a la pauta de la SEGO que propone 1000 UI al día. Otras guías recomiendan dosis superiores como tratamiento en gestantes con insuficiencia de VD o con alto riesgo de DVD al menos con 1000 UI diarias, y en gestantes con niveles deficientes (<15 ng/mL) deberían administrarse 2000 UI al día [31,55].

Existen diferentes formas comerciales de la VD disponibles en el mercado y, aunque difieren en su potencia, todas ellas tienen un resultado similar en la madre y el feto. Está firmemente establecido que la administración materna de VD tiene como resultado el incremento significativo de los niveles de 25(OH)D en la madre y en el recién nacido [58]. La suplementación diaria de las embarazadas con VD (colecalfiferol o ergocalciferol) parece segura durante el embarazo, siendo preferible el colecalfiferol (vitamina D3) al ergocalciferol (vitamina D2), para la prevención de la DVD, y del calcidiol para su tratamiento, dado que consigue un efecto más potente precisando una dosis menor.

## **2.6.- ¿Es seguro administrar vitamina D en la gestación?**

Actualmente, no existe una clara asociación entre la aparición de efectos secundarios maternos o neonatales con la administración de VD durante el embarazo. En general, los estudios realizados en animales y en seres humanos indican que es poco probable que ocurra un exceso fetal de metabolitos de VD cuando las concentraciones maternas están dentro de un rango normal [59]. Actualmente, su posible asociación al desarrollo fetal del Síndrome de Williams [60] ha sido descartada, dado que existen múltiples estudios que niegan la aparición de las alteraciones asociadas a este síndrome, como la estenosis aórtica supralvular y las anomalías en la dentición fetal [61].

La VD se encuentra clasificada en la categoría A por la *Food and Drug Administration* (FDA). Esta clasificación establece cinco categorías en función del potencial teratogénico de los medicamentos. La categoría A corresponde a aquellos fármacos que cuentan con estudios adecuados y bien controlados, no han demostrado riesgo para el feto en el primer trimestre de embarazo, y no existe evidencia de riesgo en trimestres posteriores. La posibilidad de daño fetal parece remota.

Se sabe que la VD a dosis muy elevadas (de 4 a 15 veces las recomendadas en humanos) es teratogénica en animales, pero no existe evidencia en humanos. Se desconoce si todos los análogos pasan a través de la placenta, sin embargo, se ha confirmado con calcifediol y calcitriol cuya transferencia es muy lenta debido, posiblemente, a su unión a la proteína transportadora de vitamina D<sub>3</sub>.

La VD ha sido utilizada a altas dosis para el tratamiento de hipoparatiroidismo materno durante la gestación sin complicaciones [62]. Existen en la literatura múltiples análisis en los que se usaron dosis superiores a 2000, 3000 y 4000 UI diarias de VD durante la gestación de forma segura [50]. Diferentes estudios han tratado de definir la dosis máxima segura en gestantes. Todos coinciden en que como mínimo, dosis menores a 4000 UI diarias son seguras. En una revisión Cochrane al respecto, no se encontraron efectos secundarios en los estudios revisados [59,63,64].

Un DHD severo durante el embarazo podría dar lugar a osteomalacia y, por lo tanto, a un aumento en el riesgo de morbilidad en la madre (pérdida de peso y deformidad pélvica) y en el feto (disminución del crecimiento, esmalte dental defectuoso e hipocalcemia neonatal) [65,66].

Partiendo de la base que los niveles de calcio no se incrementan durante la gestación normal [67], hemos de tener conocimiento de que los efectos potencialmente tóxicos maternos de la suplementación con VD son la aparición de hipercalcemia e hipercalcemia. En general, se consideran niveles patológicos los  $\geq 10,5$  mg/dL de calcio en sangre, y calcio urinario  $> 250$  mg/dL. Estas cifras se han observado sólo con niveles



de 25(OH)D > 220 nmol/dL[68]. En 2010, la IOM definió el límite superior de seguridad de la VD en 4000 UI diaria, siendo válido también para gestantes y durante la lactancia [40]. Se recomienda la monitorización de la excreción del calcio en orina durante el tratamiento de la DVD, especialmente en mujeres con antecedentes de cálculos renales.

La pauta más adecuada de administración durante el embarazo es la diaria, ya que alcanza niveles más estables y sin picos elevados. La administración de grandes dosis, en intervalos espaciados, parece ser la forma menos segura de tratamiento.

## **2.7.- La deficiencia de vitamina D en la gestación en subgrupos de riesgo: obesidad y diabetes gestacional.**

Todas estas cuestiones planteadas se podrían trasladar a su vez a un subgrupo de embarazadas considerado de riesgo de DVD. La mayoría de los estudios y de las revisiones sistemáticas que describen prevalencias altas de DVD en la gestación, no discriminan entre subgrupos de riesgo de DVD, como sucede con la obesidad.

La prevalencia de gestantes con sobrepeso y obesidad va en aumento en España [69,70].

De todos los eventos relacionados con el DVD en la gestación, la diabetes gestacional (DG) es, sin duda, la patología más prevalente. La DG es una entidad clínica relacionada con múltiples complicaciones durante el embarazo como la fetopatía diabética con hiperinsulinismo fetal, macrosomía, hipoxia y acidosis fetal y metabolopatía neonatal.

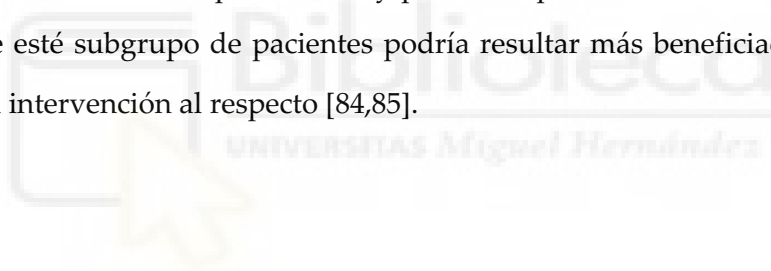
La DG identifica una población de mujeres con alto riesgo de desarrollo de Diabetes Tipo 2 [71,72], representando una estación temprana en la historia natural de la enfermedad. Estudios recientes, postulan que la VD podría ser clave en la regulación del metabolismo hepático, la función y desarrollo de los islotes pancreáticos, los niveles de calcio en sangre, el estrés oxidativo y el sistema inmune e inflamatorio para mediar el comienzo de la DG [73] y que, por ello, la existencia de DVD podría postularse como un marcador independiente de riesgo cardiovascular y de síndrome metabólico [74,75], al igual que otros biomarcadores existentes de síndrome metabólico y de resistencia a la insulina, como el HOMA-IR (*homeostasis model of assesment-insuline resistance*), la insulina en

ayunas, la glucosa en ayunas, la proteína C reactiva (PCR), el fibrinógeno y el perfil lipídico, entre otros [76].

Entre los factores de riesgo, claramente establecidos para la aparición de DG, se encuentran el IMC, la edad materna, el antecedente de hijo previo macrosoma, y el desarrollo de DG en una gestación previa. La mayoría de los estudios consideran que el IMC es el factor de riesgo independiente de mayor importancia entre todos [77-79].

La DG es la complicación médica con más alta prevalencia en la gestación que oscila entre un 7-12% (SEGO) de la población, incrementándose su incidencia en función del IMC [80-82]. Encontramos valores de prevalencia de DG del 10,2% para IMC > 25, y del 16,7% para IMC >30 [83].

Las mujeres con IMC > 25 tienen una mayor prevalencia de DVD, al igual que sus recién nacidos por una menor biodisponibilidad y paso transplacentario de esta vitamina. Se considera que este subgrupo de pacientes podría resultar más beneficiado en caso de realizarse una intervención al respecto [84,85].



### **3.- JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO E HIPÓTESIS DE TRABAJO.**

#### **3.1.- Justificación del estudio.**

La justificación general de la presente Tesis Doctoral es la aspiración de encontrar algunas respuestas a preguntas clínicas que surgen en la práctica asistencial diaria de forma consecuente a lo expuesto. Fueron estos múltiples interrogantes los que motivaron el estudio que se llevó a cabo:

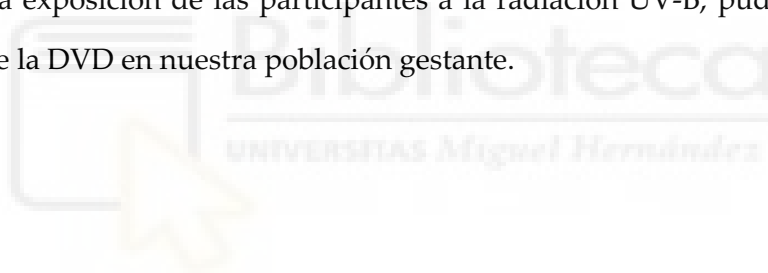
- ¿Realmente existe una prevalencia alta de DVD en las gestantes de nuestra población? Ante la existencia de datos limitados hasta el momento solo hemos podido realizar inferencias a partir de estudios realizados en otras poblaciones que nos sugieren que es esperable que nuestras gestantes presenten un DVD.
- En caso afirmativo, ¿existirán diferencias entre las gestantes con sobrepeso y obesidad con DVD y aquellas con IMC normal? Dado que se han establecido factores de riesgo que aumentan la prevalencia de DVD pretendemos dilucidar si debemos estratificar a nuestras gestantes en función de estos factores de riesgo de DVD o por el contrario los diferentes grupos se van a comportar igual.
- ¿La DG y el DVD están asociados en nuestro medio? En base a la disparidad de las conclusiones de la bibliografía existente en relación con esta asociación resulta de interés saber cómo se comporta nuestra población al respecto.

Como consecuencia de la situación excepcional del confinamiento domiciliario, decretado en España por las autoridades gubernamentales, como respuesta a la pandemia por COVID-19, en el segundo trabajo nos planteamos si dicho confinamiento influyó la prevalencia del DVD en nuestra población gestante.

### **3.2.- Hipótesis de trabajo.**

Para nuestra investigación planteamos una hipótesis de trabajo basada en el conocimiento de la naturaleza liposoluble de la Vitamina D, cualidad física responsable de su almacenaje en las células adiposas del tejido graso. Esta circunstancia biológica hace que las personas con sobrepeso y, sobre todo, con obesidad grave, acumulen mayores cantidades de VD en el tejido adiposo, lo que se traduce en unas menores cantidades circulantes de esta vitamina en sangre. Nuestra hipótesis fue que, si la DVD puede asociarse a la DG en la gestación, y el nivel en sangre de VD varía en función del índice de masa corporal (IMC), el desarrollo del DG en pacientes con DVD podría ser dependiente de su IMC.

En nuestro segundo trabajo, la hipótesis de trabajo se basó en que la fuente principal de la VD en el humano proviene de la síntesis cutánea, y que el confinamiento domiciliario al modificar la exposición de las participantes a la radiación UV-B, pudo influir en la prevalencia de la DVD en nuestra población gestante.



## **4.- OBJETIVOS.**

### **4.1.- Objetivo primario.**

El objetivo primario del primer trabajo fue determinar si el DVD se asociaba a la DG de forma independiente del IMC.

El objetivo primario del segundo trabajo fue determinar si la prevalencia de DVD en las gestantes estuvo influenciada por el confinamiento estricto en España.

### **4.2.- Objetivos secundarios.**

Los objetivos secundarios que nos planteamos en el primer trabajo fueron:

- Establecer la prevalencia de DVD en las gestantes de nuestra población, en concreto aquellas que presentaban un factor de riesgo claramente establecido como la obesidad.
- Caracterizar el estado actual de nuestra población respecto a su distribución de IMC, y su relación con la prevalencia de DG.
- Conocer si existen diferencias en la frecuencia de los eventos secundarios obstétricos y del recién nacido, según los niveles de 25(OH)D materna y el IMC. Se consideraron eventos secundarios adversos maternos, los siguientes: parto prematuro (el acontecido antes de las 37 semanas de gestación), la preeclampsia (según los criterios establecidos por la SEGO), y la finalización de la gestación por cesárea. Se consideraron eventos secundarios del recién nacido, los siguientes: ingreso en UCI, bajo peso para la edad gestacional al nacimiento, disminución del perímetro cefálico y disminución de la longitud.
- Conocer, mediante la información recogida en un cuestionario auto administrado el perfil de estilo de vida de nuestra población gestante.

En el segundo trabajo no planteamos objetivos secundarios adicionales.



## **5.- MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **5.1. Población de estudio.**

En el primero y en el segundo trabajo, se empleó la misma población de estudio.

Se llevó a cabo un estudio de base poblacional unicéntrico, observacional, transversal y analítico, en el que se invitó a participar a todas las gestantes del Departamento de Salud de Elda. Para la consecución de los objetivos secundarios del primer trabajo, que perseguía conocer si existían diferencias en la frecuencia de los eventos secundarios obstétricos y del recién nacido según la presencia de DVD materna y el IMC, se realizó un seguimiento longitudinal de las participantes hasta la finalización de la gestación. Ambos estudios fueron aprobados por el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Hospital General Universitario de Elda (código protocolo estudio clínico: VITD) y todas las participantes firmaron un consentimiento informado previo a su entrada. La inclusión de las gestantes se realizó en el segundo trimestre del embarazo, por muestreo consecutivo exhaustivo, abarcando desde septiembre de 2019 a julio de 2020, siendo el único criterio de participación el estado de gestación. Se consideraron como criterios de exclusión la gestación múltiple y el antecedente personal de diabetes pre-gestacional (diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2).

Durante el desarrollo de nuestra investigación sucedió un acontecimiento inesperado. La aparición del coronavirus SARS-CoV-2 provocó una emergencia sanitaria a nivel internacional declarada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la enfermedad causada por este nuevo coronavirus se denominó COVID-19. El 11 de marzo de 2020 la COVID-19 fue declarada pandemia por la OMS y esta situación llevó a los gobiernos de todo el mundo a adoptar medidas para controlar la interacción social a fin de evitar el contagio y la propagación de este virus. En España, el gobierno declaró el estado de alarma para la gestión de la crisis sanitaria el 14 de marzo de 2020, y toda la población española, del 15 de marzo de 2020 hasta el 15 de mayo de 2020, realizó un confinamiento estricto que supuso una restricción a la exposición solar.

Como consecuencia de la pandemia por COVID-19 y las medidas implementadas por el Gobierno de España, una cohorte significativa de participantes en la población de estudio experimentó dicho confinamiento estricto. Por lo tanto, en el segundo estudio, realizamos de forma retrospectiva, un análisis adicional para describir el impacto de la cuarentena en la prevalencia de DVD en la población gestante.

## **5.2. Recogida de datos.**

Se recogieron los datos a lo largo de un periodo de 10 meses empleando formularios de datos anonimizados, de forma retrospectiva y prospectiva, dependiendo de la variable.

### *5.2.1. Evaluación de los niveles de vitamina D, (25(OH)D).*

Se tomó una muestra de sangre en la visita rutinaria del segundo trimestre del embarazo, junto con una prueba de cribado para DG. La concentración sérica de 25(OH)D se midió mediante un ensayo automatizado por electroquimioluminiscencia (Modular Analytics E170 y Elecsys Vitamina D Total II, Roche Diagnostics, GmbH (Manheim, Alemania)), con un rango de 3 – 70 ng/mL. Este ensayo ha sido previamente validado frente a cromatografía líquida y espectrometría de masa en tándem (LC/MS/MS), y ha sido acreditado por el Programa de Estandarización y Certificación de Vitamina D (VDSCP) del Centro para el Control de Enfermedades de los USA (CDC) [86–90]. Se definió el DVD como una concentración sérica de 25(OH)D < 20 ng/mL. En caso diagnosticarse un DVD, se recomendó el suplemento de 480 UI de calcidiol hasta el final de la gestación.

### *5.2.2. Evaluación de la diabetes gestacional (DG).*

El diagnóstico de DG se completó en dos etapas, siguiendo los criterios de Carpenter y Coustan [91], siguiendo la propuesta de la *4th Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus* [92] y la *American Diabetes Association*. [93] Una prueba de cribado positiva (test de O'Sullivan) era seguida de una prueba de sobrecarga oral de glucosa (SOG) con 100g de glucosa, evaluando la glucemia a las 0 h, 1 h, 2 h y 3 h. Si  $\geq 2$  valores eran superiores a los valores de corte en cualquier momento de la curva (valores de corte de glucemia: 0 h > 95 mg/dL, 1 h > 180 mg/dL, 2h > 155 mg/dL y 3 h > 140 mg/dL), se establecía el



diagnóstico de DG. Estos criterios han sido validados con anterioridad en la población española [94].

### 5.2.3. Evaluación del Índice de Masa Corporal (IMC).

El IMC se calculó con las medidas de peso (en kg) y la altura (en m) registrados en la visita de rutina del primer trimestre del embarazo. De acuerdo con el IMC, las mujeres fueron clasificadas en grupos según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud: normal (< 25), sobrepeso (25 – 30), y obesidad (> 30).

### 5.2.4. Evaluación del resto de covariables.

En la visita del primer trimestre del embarazo, se realizó una historia médica y una exploración física, recogiendo datos sociodemográficos y relacionados con la gestación, incluyendo la edad materna (en años), el hábito tabáquico, hipotiroidismo, etnicidad, peso (en kg), altura (en m), paridad e historia previa de parto por cesárea.

En el segundo trimestre de la gestación, coincidiendo con el examen ecográfico de las 20 semanas, se pasó un cuestionario (cuestionario del estudio San Carlos) para evaluar la actividad física, los hábitos nutricionales y estilo de vida (cuyo resultado se expresa en forma de puntuaciones). Este cuestionario se basa en las recomendaciones sobre nutrición basadas en la evidencia de la *American Diabetes Association*, adaptadas a la población española siguiendo el *Diabetes Nutrition and Complications Trial* (DNCT), y que ha sido validado en nuestra población [95,96]. La analítica de sangre del segundo trimestre incluyó: proteína C reactiva (PCR) (en mg/dL), ferritina (en mg/dL), colesterol total (en mg/dL), colesterol LDL (en mg/dL), triglicéridos (en mg/dL), fibrinógeno (en mg/dL), hemoglobina (en g/dL) y hematocrito (en %).

Tras el parto, se recogieron el resto de las variables: hipotiroidismo gestacional, parto pretérmino, preeclampsia, parto por cesárea, ingreso del neonato en UCI, y percentiles neonatales de peso, altura y perímetro cefálico (basados en las gráficas de la población española).

Para completar el segundo trabajo, se definieron dos nuevas variables: el grupo de confinamiento estricto y la dosis de UVB específica de vitamina-D (D-UVB).

#### *5.2.5. Definición del grupo de confinamiento estricto (CE).*

Se categorizó como grupo CE a todas las participantes a las cuales se les extrajo la muestra de sangre para medición de los niveles de 25(OH)D entre el 15 de marzo de 2020 y el 15 de mayo de 2020. El resto de las participantes se categorizó como grupo sin confinamiento estricto (NCE).

De acuerdo con el Real Decreto 463/2020, de 14 de marzo, por el que se declara el estado de alarma para la gestión de la situación de crisis sanitaria ocasionada por el COVID-19., <https://www.boe.es/eli/es/rd/2020/03/14/463/con>, se anunció que, a partir del siguiente día, todos los trabajadores no esenciales debían permanecer en casa durante los siguientes 14 días (excepto en casos excepcionales, y para el abastecimiento de comida y productos de primera necesidad). Esta situación se fue prorrogando de forma consecutiva hasta el 15 de mayo de 2020.

#### *5.2.6. Valoración de la dosis UVB específica para la vitamina D (D-UVB), en el área geográfica del estudio.*

El Servicio de Internet de Monitorización de Emisiones Troposféricas (*Tropospheric Emission Monitoring Internet Service, TEMIS*) es parte del programa de datos de la Agencia Espacial Europea (*European Space Agency, ESA*). El proyecto TEMIS genera conjuntos de datos con varios ítems de información, y permite su consulta y uso gratuitos a través de internet ([www.temis.nl/uvradiation/UVdose.html](http://www.temis.nl/uvradiation/UVdose.html)) (accedido el 10 de febrero de 2023); versión 2.0) [97]. La D-UVB es la irradiación efectiva (en kJ/m<sup>2</sup>) que alcanza la superficie terrestre integrada a lo largo del día, y se calcula considerando la dosis de radiación UVB en las longitudes de onda que pueden inducir producción cutánea de VD (290 – 315 nm) [15]. Esta base de datos ya ha sido empleada y descrita en el pasado [98,99].

Se recogieron las dosis diarias de D-UVB en las tres coordenadas geográficas correspondientes a nuestra área, desde el 16 de septiembre de 2019 hasta el 15 de agosto de 2020 ({1}: latitud 38.375 y longitud  $-0.875$ ; {2}: latitud 38.375 y longitud  $-0.620$ ; {3}: latitud 38.625 y longitud  $-0.875$ ). Las medias ponderadas de las tres coordenadas fueron empleadas para los cálculos. Para tomar en consideración los efectos de las nubes en las mediciones de D-UVB, se empleó el conjunto de datos modificados por nubosidad disponible en TEMIS. Para cada quincena del estudio, se calculó una dosis media de D-UVB. A todas las participantes se les asignó una dosis D-UVB basada en el periodo quincenal en el cual se les determinó sus niveles de 25(OH)D.

### **5.3.- Análisis estadístico.**

#### *5.3.1.- Cálculo del tamaño muestral.*

En el proyecto de investigación se calculó el tamaño muestral en base al objetivo primario del estudio, empleando como estadístico de contraste de hipótesis una comparación de proporciones para no igualdad en dos grupos independientes (test exacto de Fisher). Los parámetros objetivo fueron un error  $\alpha=0.05$ , un error  $\beta=0.20$  (potencia del 80%) y una relación entre grupos de 0.5 (relación 2:1 entre no DVD y DVD). La prevalencia de la diabetes gestacional en gestantes españolas es de 10%, y asumimos como clínicamente relevante un aumento de la prevalencia hasta un 20% en caso de DVD. Con estos valores el tamaño muestral calculado fue de 449 pacientes, de las cuales 299 estarían en el grupo no DVD D y 150 en el grupo con DVD. El tiempo requerido para la inclusión de dicho tamaño muestral, de forma aproximada, se estimó en 6 meses.

Durante el desarrollo de nuestra investigación sucedió el acontecimiento inesperado mencionado en el apartado Población de estudio. Dada la íntima relación de los niveles de VD en sangre y la exposición solar consideramos de interés prolongar la duración del estudio, por lo que el tamaño muestral calculado en el proyecto de investigación fue ampliamente superado.

### 5.3.2.- *Análisis descriptivo.*

Se realizó un análisis descriptivo para examinar la distribución de las variables estudiadas, con cálculo de frecuencias para las variables categóricas, y medias y desviaciones estándar para las variables continuas. Para el manejo de los valores perdidos se empleó la metodología de pares de variables (*pairwise*). Para las variables sociodemográficas, se calcularon los intervalos de confianza al 95% (IC95%) empleando el método de Wilson para proporciones y el método asintótico para las variables continuas. Para evaluar los factores asociados con DG y DVD se emplearon tablas de contingencia. Las variables categóricas se compararon empleando la prueba de chi-cuadrado, y las variables cuantitativas usando la prueba de t de Student.

En el segundo trabajo, se realizó un análisis descriptivo similar. Para evaluar los factores asociados con CE y DVD se emplearon tablas de contingencia.

### 5.3.3.- *Primer estudio: Análisis de la asociación entre DVD con DG en relación con el IMC.*

Para estimar la magnitud de la asociación de DVD con DG y su relación con el IMC, se desarrollaron modelos de regresión de Poisson con varianza robusta crudo y ajustados, y se calcularon la razón de prevalencia (RP) con sus respectivos IC95%. Las variables predictoras se seleccionaron empleando una metodología de regresión en pasos sucesivos (*stepwise regression method*), y el modelo más ajustado fue seleccionado por el Criterio de Información de Akaike.

Se consideró un nivel de significación estadística con un *p*-valor de < 0.05 para el objetivo primario, y de < 0.025 para los objetivos secundarios, con ajuste de Bonferroni para comparación dos variables.

### 5.3.4.- *Segundo estudio: Análisis de la asociación entre el CE y la prevalencia de DVD.*

Se realizó un estudio transversal para estimar la *odds ratio* de la prevalencia (POR) para la asociación entre DVD y CE en nuestra población de gestantes. Para controlar la influencia de las variaciones estacionales en la irradiación solar, el modelo de regresión

logística fue ajustado por la dosis quincenal de D-UVB medida en nuestra área geográfica. El resto de covariables se estudiaron como factores de confusión y se realizaron análisis multivariante para determinar el modelo explicativo más sencillo.

#### *5.3.5.- Herramientas empleadas.*

En el primer trabajo, todos los análisis se realizaron empleando IBM SPSS v.26 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) y el programa informático gratuito para computación estadística y gráficos R v.4.0.2 [100].

En el segundo estudio, los análisis se realizaron con STATA 14 (StatCorp LLC, College Station, TX, USA) e IBM SPSS v.26 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Las figuras se construyeron con Microsoft Excel para Mac (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA).





## 6.- RESULTADOS.

### 6.1. Características de las participantes en el primer estudio.

En el periodo de estudio, un total de 923 gestantes fueron elegibles para su inclusión. Treinta y siete fueron excluidas, para finalizar con una muestra total de 886, aunque los niveles de 25(OH)D fueron obtenidos sólo en 881. En la Tabla 1.1, se describen las características de las participantes en relación con la DG.

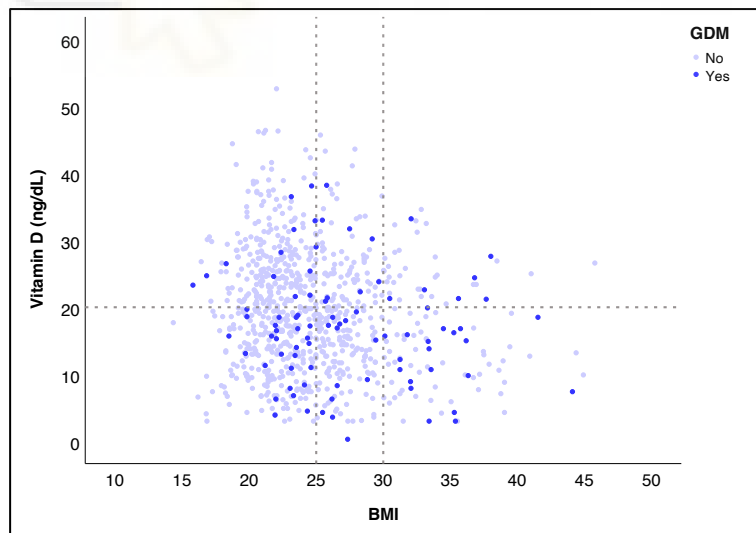
**Tabla 1.1.** Características de los participantes en relación con la diabetes gestacional (DG).

Características	Muestra total	No DG (n = 793, 89.5%)	DG (n = 93, 10.5%)	p-Valor
<b>Características sociodemográficas</b>				
Edad (años), media (DE)	32.0 (5.8)	31.7 (5.7)	34.2 (5.7)	<0.001 *
Cuestionario (Estudio San Carlos), media (DE)				
Actividad física	-0.7 (1.4)	-0.7 (1.4)	-0.8 (1.3)	0.942
Estado nutricional	3.9 (3.7)	3.8 (3.7)	4.0 (3.6)	0.813
Estilo de vida	3.1 (4.2)	3.2 (3.9)	3.2 (3.9)	0.758
Hábito tabáquico materno, n (%)	91 (10.3)	79 (10.0)	12 (12.9)	0.377
Hipotiroidismo materno, n (%)	48 (5.4)	40 (5.0)	8 (8.6)	0.152
Etnia, n (%)				0.045 *
Caucásica	766 (86.7)	692 (87.6)	74 (80.6)	
Sudamericana	62 (7.0)	54 (6.8)	8 (8.6)	
Otras	55 (6.2)	44 (5.6)	11 (11.8)	
<b>Características relacionadas con la gestación</b>				
PAS, primer trimestre (mmHg), media (DE)	110.8 (11.7)	110.2 (11.5)	116.4 (12.0)	<0.001 *
PAD, primer trimestre (mmHg), media (DE)	68.8 (8.8)	68.3 (8.6)	73.0 (9.7)	<0.001 *
DVD, n (%)	489 (55.5)	429 (54.1)	60 (68.2)	0.012 *
IMC, n (%)	24.8 (4.8)	24.5 (4.5)	27.5 (5.9)	0.021 *
Grupo IMC, n (%)				<0.001 *
Normal (<25)	532 (60.4)	491 (62.3)	41 (44.1)	
Sobrepeso (25–30)	234 (26.6)	212 (26.9)	22 (23.7)	
Obesidad (>30)	115 (13.0)	85 (10.8)	30 (32.2)	
Paridad, n (%)				0.464
Primigesta	446 (50.3)	402 (50.7)	44 (47.3)	
2 gestaciones	332 (37.5)	298 (37.6)	34 (36.6)	
≥3 gestaciones	108 (12.2)	93 (11.7)	15 (16.1)	
Historia de cesárea, n (%)	98 (11.1)	85 (10.5)	13 (14.0)	0.345
Hipotiroidismo gestacional, n (%)	195 (22.0)	175 (22.1)	20 (21.5)	0.901
<b>Analítica de sangre, media (DE)</b>				
Vitamina D, 25(OH)D (ng/mL)	19.3 (8.9)	19.5 (8.9)	17.2 (8.6)	0.021 *
Proteína C reactiva (mg/dL)	5.7 (5.8)	5.7 (6.0)	6.2 (4.0)	0.005 *
Ferritina (mg/dL)	24.6 (25.5)	24.3 (25.8)	26.7 (21.7)	0.249
Colesterol (mg/dL)	224.3 (38.7)	223.7 (38.8)	229.5 (37.4)	0.084
HDL colesterol (mg/dL)	75.8 (15.3)	76.3 (15.2)	72.1 (15.7)	0.034 *
LDL colesterol (mg/dL)	114.1 (32.5)	113.5 (32.0)	119.7 (36.1)	0.197
Triglicéridos (mg/dL)	177.2 (68.1)	172.2 (62.4)	220.5 (95.3)	<0.001 *
Fibrinógeno (mg/dL)	397.8 (56.3)	394.5 (54.6)	425.5 (62.3)	<0.001 *
Hemoglobina (g/dL)	11.6 (0.9)	11.6 (0.9)	11.6 (0.8)	0.747
Hematocrito (%)	34.2 (2.5)	34.2 (2.5)	34.2 (2.4)	0.597

\*  $p < 0.05$ . Abreviaturas: DG, diabetes gestacional; DVD, deficiencia de vitamina D; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; IMC, índice de masa corporal.

Entre las participantes del estudio, el número de mujeres con DG constituyó un 10.5% (IC95% = 8.6 – 12.7%). La media de la concentración sérica de 25(OH)D en el total de la muestra fue 19.3 (8.9) ng/mL (IC95% = 18.7 – 19.9). En total, un 55.5% (IC95% = 51.9 – 58.4%) de las gestantes presentaron DVD. La edad media fue 32.0 (5.8) años (IC95% = 31.6 – 32.4), y el IMC medio fue 24.8 (4.8) (IC95% = 24.5 – 25.1). La distribución por grupos del IMC resultó en un 60.4% de grupo normal (IC95% = 56.8 – 63.2), seguido de un 26.6% de sobrepeso (IC95% = 23.6 – 29.4) y un 13.0% de obesidad (IC95% = 10.9 – 15.4%). El hábito tabáquico materno estuvo presente en el 10.3% (IC95% = 8.4 – 12.4) del total. La etnia caucásica representó el 86.7% (IC95% = 84.0 – 88.6). En cuanto a la paridad, las primigestas fueron el 50.3% (IC95% = 47.1 – 53.6), las gestantes con 2 gestaciones fueron el 37.5% (IC95% = 34.3 – 40.7), y con  $\geq 3$  gestaciones el 12.2% (IC95% = 10.2 – 14.5) del total de la muestra. Se encontró una historia previa de cesárea en el 11.1% (IC95% = 9.2 – 13.3) de las participantes.

La Figura 1.1 dibuja la distribución de los valores individuales de 25(OH)D, en relación con el IMC, estratificando según la presencia de DG.

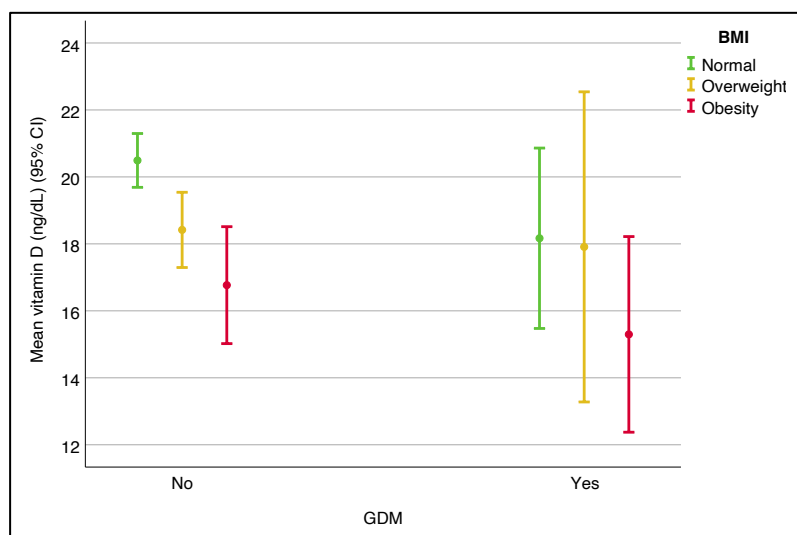


**Figura 1.1.** Distribución individual los niveles séricos de la vitamina D, 25(OH)D, en la muestra total, en relación con IMC y DG (la línea de puntos horizontal representa el umbral para considerar DVD (20 ng/mL), y las líneas de puntos verticales representan los límites de los grupos de IMC: normal <25, sobrepeso 25–30, y obesidad >30). Los puntos oscuros representan las participantes con DG, y los claros las participantes sin DG.



En el análisis univariante (Tabla 1.1), se comparó a las participantes de acuerdo con la presencia de DG. El grupo con DG mostró niveles medios de 25(OH)D menores ( $p = 0.02$ ) y una mayor prevalencia de DVD (68.2% frente a 54.1%,  $p = 0.01$ ). De manera adicional, en la comparación de las variables continuas, las gestaciones con DG presentaron de forma significativa una mayor edad materna ( $p < 0.01$ ), mayores IMC ( $p < 0.01$ ), mayores niveles de PAS ( $p < 0.01$ ) y PAD ( $p < 0.01$ ) en el primer trimestre de la gestación, menores niveles de colesterol HDL ( $p < 0.05$ ), y niveles más elevados de triglicéridos ( $p < 0.01$ ), proteína C reactiva ( $p < 0.01$ ) y fibrinógeno ( $p < 0.01$ ). En el análisis cualitativo, la frecuencia de la etnia fue diferente, siendo la raza caucásica más frecuente en el grupo sin DG ( $p < 0.05$ ). De acuerdo con el IMC, se observaron diferencias significativas, siendo la proporción de gestantes obesas muy superior en el grupo de DG (32.2% frente a 10.8%,  $p < 0.01$ ). No se detectaron diferencias significativas en el resto de las variables.

La Figura 1.2 representa los niveles séricos medios de 25(OH)D en relación con el grupo de IMC, estratificados por la presencia de DG. En ausencia de DG, los niveles de 25(OH)D fueron significativamente inferiores en el grupo de obesidad (IC95% = 15.2 – 18.5) frente al grupo de IMC normal (IC95% = 19.6-21.3,  $p < 0.01$ ). La tendencia fue similar en presencia de DG, aunque no se alcanzó significación estadística ( $p = 0.376$ ).



**Figura 1.2.** Niveles medios séricos de 25(OH)D en relación con el IMC y agrupados por la presencia de DG. Las barras de error representan la media y el IC95%.



## 6.2. Características de las participantes en el segundo estudio.

Una muestra total de 886 participantes fue incluida, aunque los niveles de 25(OH)D fueron obtenidos sólo en 881 de ellas. En la Tabla 2.1, se describen las características de las participantes en relación con el grupo de CE.

**Tabla 2.1.** Características de los participantes en relación con la situación de “Confinamiento Estricto” (CE).

Características	NCE (n = 715, 80.7%)	CE (n = 171, 19.3%)	p-Valor
<b>Características sociodemográficas</b>			
Edad (años), media (DE)	32.0 (5.8)	31.7 (5.6)	0.48
Cuestionario (Estudio San Carlos), media (DE)			
Actividad física	-0.7 (1.4)	-0.8 (1.4)	0.26
Estado nutricional	4.1 (3.6)	3.2 (3.9)	0.02 *
Estilo de vida	3.3 (4.1)	2.3 (4.4)	<0.01 *
Hábito tabáquico materno, n (%)	79 (11.0)	12 (7.0)	0.12
Hipotiroidismo materno, n (%)	158 (22.1)	37 (21.6)	0.90
Etnia, n (%)			0.12
Caucásica	626 (87.7)	140 (82.8)	
Sudamericana	44 (6.2)	18 (10.7)	
Otras	44 (6.2)	11 (6.5)	
<b>Características relacionadas con la gestación</b>			
PAS, primer trimestre (mmHg), media (DE)	110.6 (11.7)	111.7 (11.6)	0.28
PAD, primer trimestre (mmHg), media (DE)	68.8 (9.1)	68.7 (7.8)	0.78
DVD, n (%)	356 (50.1)	133 (77.8)	<0.01 *
IMC, n (%)	73 (10.2)	20 (11.7)	0.57
IMC, media (DE)	24.7 (4.7)	25.2 (4.8)	0.25
Grupo IMC, n (%)			0.12
Normal (<25)	441 (62.0)	91 (53.5)	
Sobrepeso (25-30)	180 (25.3)	54 (31.8)	
Obesidad (>30)	90 (12.7)	25 (14.7)	
Paridad, n (%)			0.84
Primigesta	360 (50.3)	86 (50.3)	
2 gestaciones	270 (37.8)	62 (36.3)	
≥3 gestaciones	85 (11.9)	23 (13.5)	
Historia de cesárea, n (%)	77 (10.8)	21 (12.4)	0.55
Hipotiroidismo gestacional, n (%)	158 (22.0)	37 (21.6)	0.90
<b>Analítica de sangre, media (DE)</b>			
Vitamina D, 25(OH)D (ng/mL)	20.5 (8.9)	14.2 (6.7)	<0.01 *
Proteína C reactiva (mg/dL)	5.8 (6.1)	5.3 (4.9)	0.22
Ferritina (mg/dL)	24.6 (25.3)	24.5 (26.4)	0.96
Colesterol (mg/dL)	223.4 (37.4)	228.4 (43.4)	0.18
HDL colesterol (mg/dL)	76.0 (15.1)	75.0 (15.9)	0.44
LDL colesterol (mg/dL)	113.8 (32.0)	115.5 (34.6)	0.58
Triglicéridos (mg/dL)	173.4 (63.7)	193.5 (82.5)	<0.01 *
Fibrinógeno (mg/dL)	399.5 (56.2)	391.1 (56.1)	0.09
Hemoglobina (g/dL)	11.6 (0.9)	11.6 (0.8)	0.64
Hematocrito (%)	34.1 (2.5)	34.4 (2.7)	0.23

\*  $p < 0.05$ . Abreviaturas: NCE, no confinamiento estricto; CE: confinamiento estricto; DVD, deficiencia de vitamina D; DG, diabetes gestacional; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; IMC, índice de masa corporal.

En el análisis univariante (Tabla 2.1), se compararon las participantes en relación con su situación de pertenencia al grupo de CE. El grupo de CE presentó menores niveles de 25(OH)D (14.2 ng/mL frente a 20.5 ng/mL,  $p < 0.01$ ) y una mayor prevalencia de DVD (77.8% frente a 50.1%,  $p < 0.01$ ) comparado con el grupo de NCE. Además, en la comparación de las variables continuas, las gestantes en el grupo CE presentaron niveles más elevados de triglicéridos (193.5 mg/dL frente a 173.4 mg/dL,  $p < 0.01$ ) y unas menores puntuaciones en los apartados de estado nutricional (4.1 frente a 3.2,  $p < 0.05$ ) y estilo de vida (3.3 frente a 2.3,  $p < 0.01$ ) del cuestionario del Estudio San Carlos. En el análisis cualitativo, no se encontraron diferencias significativas en otras variables, incluidas la prevalencia de DG o la distribución de los grupos de IMC.



### 6.3.- Resultados del primer estudio:

#### 6.3.1.- Valoración de la asociación entre DVD y DG: relación con el IMC.

Mediante un estudio multivariante, empleando modelos ajustado de regresión de Poisson con varianza robusta, se realizó un estudio de asociación entre DVD y DG. Se calcularon la razón de prevalencia (RP) y los IC95% (Tabla 1.2).

**Tabla 1.2.** Estudio de asociación. Razón de prevalencia para DG, estimada por modelos de regresión de Poisson.

		Modelo crudo			Modelo 1			Modelo 2			Modelo ajustado (AIC)		
		RP	IC95%	p-Valor	RP	IC95%	p-Valor	RP	IC95%	p-Valor	RP	IC95%	p-Valor
DVD:	Si	1			1			1			1		
	No	1.718	(1.119–2.637)	0.013 *	1.567	(1.016–2.417)	0.042 *	1.660	(1.042–2.645)	0.033 *	1.635	(1.027–2.604)	0.038 *
IMC:	Normal	1			1			1					
	Sobrepeso	1.220	(0.744–2.001)	0.431	1.137	(0.680–1.899)	0.625	0.724	(0.404–1.299)	0.279	NS		
	Obesidad	3.385	(2.212–5.181)	<0.001 *	2.992	(1.907–4.694)	<0.001 *	1.395	(0.788–2.469)	0.253	NS		
Etnia:	Caucásica	1			-								
	Sudamericana	1.336	(0.675–2.642)	0.406	-			NS			NS		
	Otras	2.070	(1.169–3.665)	0.013 *	-			NS			NS		
Paridad:	Primigesta	1			-								
	2 gestaciones	1.038	(0.679–1.587)	0.863	-			NS			NS		
	≥3 gestaciones	1.408	(0.815–2.433)	0.220	-			NS			NS		
Historia de cesárea	1.305	(0.755–2.256)	0.340	-			NS			NS			
Hipotiroidismo gestacional	0.971	(0.608–1.551)	0.901	-			NS			NS			
Edad	1.078	(1.035–1.122)	<0.001 *	-			1.062	(1.020–1.104)	0.003 *	1.064	(1.022–1.107)	0.003 *	
Triglicéridos	1.005	(1.004–1.007)	<0.001 *	-			1.003	(1.001–1.005)	0.002 *	1.003	(1.002–1.005)	<0.001 *	
Fibrinógeno	1.008	(1.005–1.011)	<0.001 *	-			1.006	(1.002–1.009)	0.001 *	1.005	(1.002–1.009)	<0.001 *	
PAS	1.042	(1.025–1.060)	<0.001 *	-			1.027	(1.009–1.045)	0.003 *	1.031	(1.013–1.049)	<0.001 *	
DAP	1.055	(1.032–1.079)	<0.001 *	-			NS			NS			
PCR	1.013	(0.994–1.032)	0.193	-			NS			NS			
Ferritina	1.003	(0.998–1.007)	0.285	-			NS			NS			
Colesterol	1.003	(0.999–1.008)	0.160	-			NS			NS			
HDL	0.984	(0.970–0.997)	0.019 *	-			NS			NS			
LDL	1.005	(0.998–1.012)	0.133	-			NS			NS			
Cuestionario:	Actividad física	0.990	(0.858–1.142)	0.889	-			NS			NS		
	Hábito nutricional	1.008	(0.951–1.069)	0.778	-			NS			NS		
	Estilo de vida	1.005	(0.958–1.055)	0.827	-			NS			NS		
Hemoglobina	1.046	(0.837–1.308)	0.692	-			NS			NS			
Hematocrito	1.010	(0.939–1.087)	0.793	-			NS			NS			
Hábito tabáquico materno	1.294	(0.735–2.280)	0.372	-			NS			NS			
Hipotiroidismo materno	1.643	(0.846–3.192)	0.143	-			NS			NS			

\*  $p < 0.05$ . Abreviaturas: RP, razón de prevalencia; IC, intervalo de confianza; NS, no significativo; IMC, índice de masa corporal; DVD, deficiencia de vitamina D; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; PCR, proteína C reactiva. Modelo 1: ajustado exclusivamente con DVD e IMC. Modelo 2: Más ajustado con edad, triglicéridos, fibrinógeno, y PAS. Modelo: construido empleando un método en pasos sucesivos (*stepwise*) basado en el Criterio de Información Akaike.

En el modelo crudo, el DVD se asoció de forma significativa con una prevalencia aumentada de DG (IC95% = 1.12 – 2.64;  $p = 0.01$ ). La obesidad también se asoció con DG (IC95% = 2.21 – 5.20;  $p < 0.01$ ), pero no el sobrepeso (IC95% = 0.74 – 2.00,  $p = 0.43$ ). El resto

de las variables asociadas con DG fueron mayor edad (IC95% = 1.03 – 1.12;  $p < 0.01$ ) y mayores niveles de triglicéridos (IC95% = 1.00 – 1.01,  $p < 0.01$ ), fibrinógeno (IC95% = 1.00 – 1.01,  $p < 0.01$ ), PAS (IC95% = 1.03 – 1.06,  $p < 0.01$ ) y PAD (IC95% = 1.03 – 1.08,  $p < 0.01$ ) en el primer trimestre de la gestación, y menores niveles de HDL colesterol (IC95% = 0.97 – 0.99;  $p = 0.02$ ). Otras etnias comparadas con la caucásica también estuvieron asociadas a DG (IC95% = 1.17 – 3.66;  $p = 0.01$ ).

No hubo asociación con ninguna de las otras variables analizadas, destacándose la ausencia de asociación con variables maternas como el hábito tabáquico, la historia de hipotiroidismo, o la puntuación en las escalas del cuestionario referentes a la actividad física, al hábito nutricional y al estilo de vida.

En el Modelo 1, que incluyó exclusivamente la DVD y el grupo de IMC como modelo explicativo de variables independientes, ambas variables fueron significativas. La razón de prevalencia para DVD fue de 1.57 (IC95% = 1.02 – 2.42,  $p < 0.05$ ), mientras que, para la obesidad, fue de 2.99 (IC95% = 1.91 – 4.69);  $p < 0.01$ .

En el Modelo 2, ajustado por todas las variables significativas, el grupo obesidad de IMC perdió su significación estadística. Cuando se ajustó por edad ( $p < 0.01$ ), triglicéridos ( $p < 0.01$ ), fibrinógeno ( $p < 0.01$ ) y TAS en el primer trimestre de la gestación ( $p < 0.01$ ), el efecto de la obesidad en la prevalencia de la DG desapareció (RP = 1.39; IC95% = 0.79 – 2.47,  $p = 0.25$ ), mientras que el DVD mantuvo su asociación significativa con DG (RP = 1.66; IC95% = 1.04 – 2.65,  $p < 0.05$ ).

Para la construcción del Modelo ajustado (AIC), se empleó una regresión en pasos sucesivos (*stepwise*), y la selección de variables se basó en el Criterio de Información de Akaike. La presencia de DVD se asoció con un aumento en 1.6 veces de riesgo de DG (RP = 1.63; IC95% = 1.03 – 2.60;  $p < 0.05$ ), cuando se ajustó por edad ( $p < 0.01$ ), triglicéridos ( $p < 0.01$ ), fibrinógeno ( $p < 0.01$ ) y TAS en el primer trimestre de la gestación ( $p < 0.01$ ).

Este resultado significa que tanto el DVD como la obesidad están asociados con un aumento de prevalencia de DG, pero que una vez ajustados por otras variables, sólo el DVD retiene su asociación significativa con la DG.

### 6.3.2.- Valoración de eventos secundarios obstétricos y neonatales: asociación con el DVD y con el IMC.

Los eventos secundarios obstétricos y neonatales se analizaron en relación con el DVD y el grupo de IMC (Tabla 1.3).

**Tabla 1.3.** Eventos secundarios maternos y neonatales: asociaciones con DVD y grupo de IMC.

	DVD		p-Valor	Grupo IMC			p-Valor
	No	Si		Normal	Sobrepeso	Obesidad	
DG	28 (7.1)	60 (12.3)	0.012 *	41 (7.7)	22 (9.4)	30 (26.1)	<0.001 *
Parto pretérmino	23 (5.9)	20 (4.1)	0.224	23 (4.3)	18 (7.7)	2 (1.7)	0.034
Preeclampsia	10 (2.6)	13 (2.7)	0.921	11 (2.1)	6 (2.6)	6 (5.2)	0.158
Parto por cesárea	79 (20.3)	90 (18.6)	0.534	86 (16.3)	52 (22.5)	31 (27.4)	0.009 *
Ingreso en UCI neonatal	79 (21.3)	99 (21.2)	0.961	106 (21.0)	42 (18.8)	32 (28.6)	0.115
Percentil peso			0.054				<0.001 *
<10	35 (8.9)	29 (5.9)		44 (8.3)	9 (3.8)	10 (8.7)	
10-90	312 (79.6)	377 (77.1)		424 (79.7)	188 (80.3)	75 (65.2)	
>90	30 (7.7)	59 (12.1)		39 (7.3)	27 (11.5)	25 (21.7)	
Perdido	15 (3.8)	24 (4.9)		25 (4.7)	10 (4.3)	5 (4.3)	
Percentil altura			0.068				0.078
<10	32 (8.2)	21 (4.3)		34 (6.4)	10 (4.3)	9 (7.8)	
10-90	272 (69.4)	349 (71.4)		386 (72.6)	164 (70.1)	69 (60.0)	
>90	71 (18.1)	88 (18.0)		85 (16.0)	44 (18.8)	31 (27.0)	
Perdido	17 (4.3)	31 (6.3)		27 (5.1)	16 (6.8)	6 (5.2)	
Percentil perímetro cefálico			0.465				0.039
<10	31 (7.9)	43 (8.8)		50 (9.4)	12 (5.1)	12 (10.4)	
10-90	322 (82.1)	388 (79.3)		431 (81.0)	192 (82.1)	84 (73.0)	
>90	21 (5.4)	24 (4.9)		23 (4.3)	12 (5.1)	12 (10.4)	
Perdido	18 (4.6)	34 (7.0)		28 (5.3)	18 (7.7)	7 (6.1)	

\*  $p < 0.025$ . Abreviaturas: DG, diabetes gestacional; DVD, deficiencia de vitamina D; IMC, índice de masa corporal; UCI, unidad de cuidados intensivos.

En el caso del DVD, no hubo diferencias en la aparición de eventos maternos o neonatales, a parte del porcentaje aumentado de DG (12.3% frente a 7.1%;  $p = 0.01$ ). Con respecto al grupo de IMC, la prevalencia de DG fue muy superior en el grupo de obesidad (26.1%), en comparación con el grupo de sobrepeso (9.4%) y grupo de peso normal (7.7%) ( $p < 0.01$ ). Las mujeres gestantes con sobrepeso presentaron una proporción superior de partos pretérmino en comparación con el grupo de IMC normal y el grupo de obesidad, aunque este hallazgo no alcanzó significación estadística ( $p = 0.03$ ), asumiendo el umbral de significación con ajuste de Bonferroni para comparación

dos variables. Con el aumento del grupo de BMI se observó un incremento de la frecuencia de partos por cesárea y de neonatos con un percentil de peso  $> 90$  ( $p < 0.01$ ). La proporción de casos con un perímetro cefálico  $> 90$  también aumentó, aunque sin alcanzar la significación estadística ( $p = 0.04$ ).



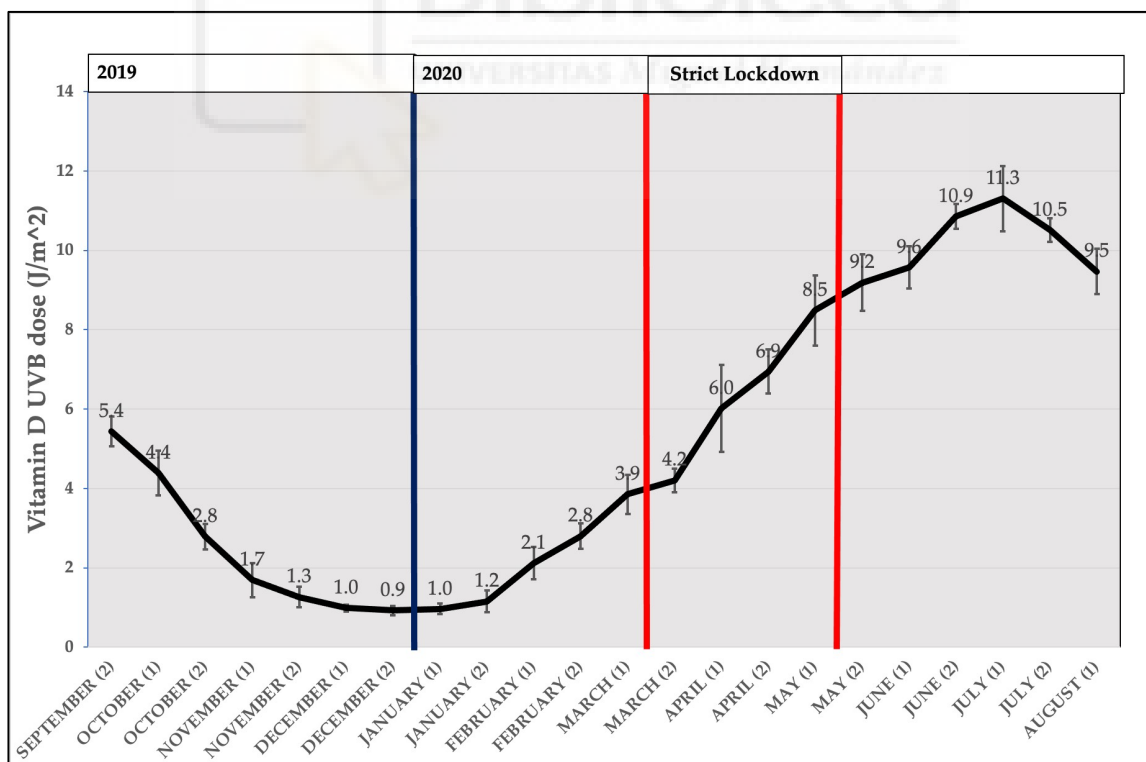


## 6.4.- Resultados del segundo estudio:

### 6.4.1.- Distribución de la dosis de D-UVB en nuestra área geográfica.

La Figura 2.1. representa la distribución de la dosis media quincenal de D-UVB en nuestra área geográfica, como media aritmética de tres localizaciones de observación medidas y registradas en la base de datos TEMIS (conjunto de datos modificados por nubosidad), desde mitad de septiembre de 2019 hasta mitad de agosto de 2020.

Hubo un descenso de los valores de dosis D-UVB hacia final del año 2019, con el punto más bajo en la segunda quincena de diciembre de 2019, seguido de un progresivo incremento en la dosis D-UVB, alcanzando un pico hacia julio de 2020. Se ha definido el “invierno de VD” como el umbral de dosis D-UVB a partir del cual la síntesis cutánea de VD es insignificante ( $< 1 \text{ kJ/m}^2$ ) [15,101]. En el área de nuestro estudio, esto correspondería a un periodo desde diciembre a mitad de enero (con una duración  $< 2$  meses).

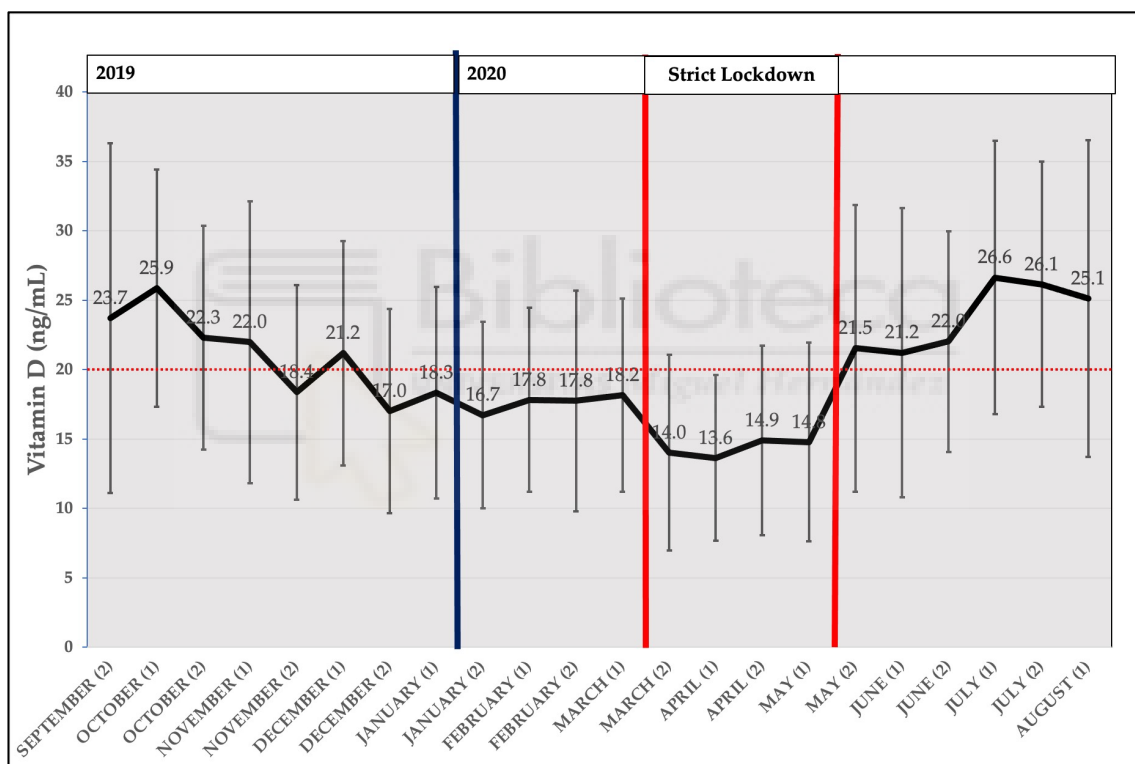


**Figura 2.1.** Distribución de la dosis de D-UVB ( $\text{J/m}^2$ ) por quincenas desde septiembre de 2019 hasta agosto de 2020, resumido como la media de los días de cada quincena. Las barras representan IC95%. La línea

vertical azul sólida representa el inicio del año 2020. Las líneas verticales rojas sólidas representan el inicio y el final del confinamiento estricto.

#### 6.4.2.- Distribución estacional de la media de VD.

La Figura 2.2. representa la distribución de la media quincenal de 25(OH)D en las participantes. Mientras que la distribución de las medias siguió un patrón estacional entre septiembre de 2019 y marzo de 2020, hubo una caída durante el periodo de CE (entre las líneas rojas). Tras el fin del periodo de cuarentena, los niveles 25(OH)D retornaron a los niveles esperados. Los niveles medios de 25(OH)D fueron inferiores en el periodo de CE, incluso comparados con el “invierno de VD”.

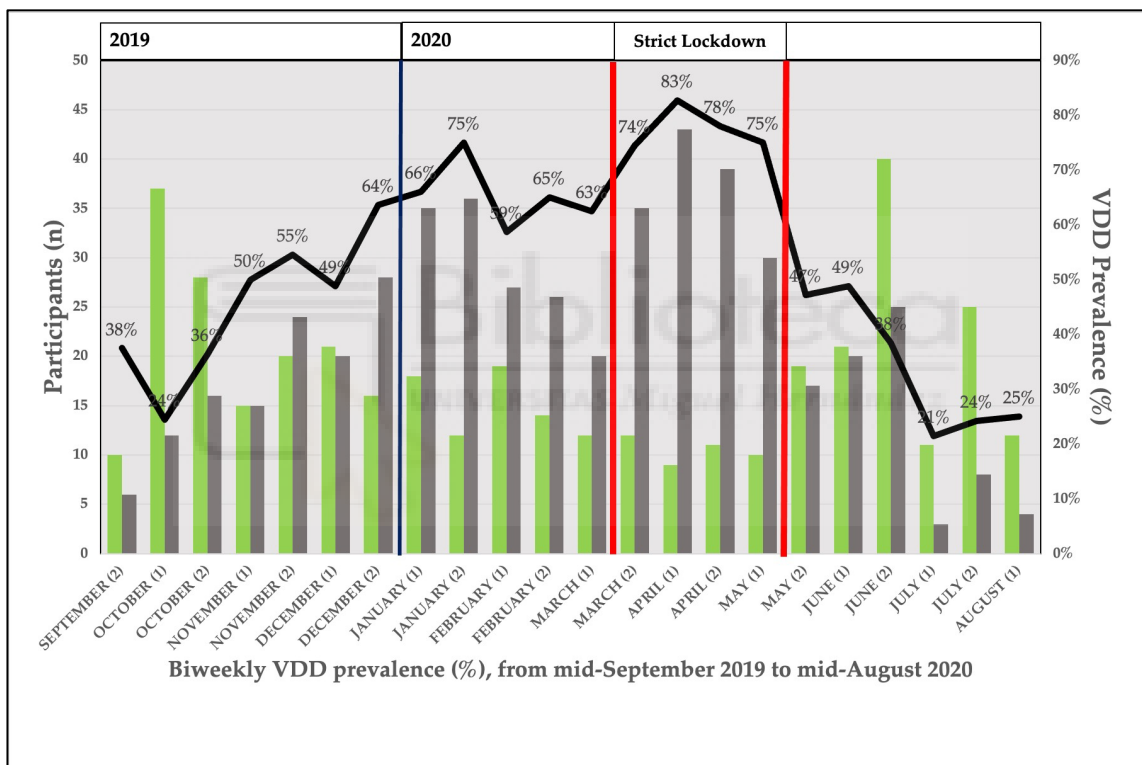


**Figura 2.1.** Distribución de los niveles medios de 25(OH)D por quincenas desde septiembre de 2019 hasta agosto de 2020, resumido como la media de los días de cada quincena. Las barras representan IC95%. La línea vertical azul sólida representa el inicio del año 2020. Las líneas verticales rojas sólidas representan el inicio y el final del confinamiento estricto. La línea de puntos horizontal roja representa el umbral para el diagnóstico de VDD (20 ng/mL).

#### 6.4.3.- Distribución estacional de la prevalencia de DVD.

La Figura 2.3. representa la distribución de la prevalencia de DVD a lo largo del periodo del estudio. La prevalencia siguió un patrón estacional. De forma predecible, la

prevalencia de DVD aumentó con la disminución de la irradiación UVB. Esta prevalencia alcanzó un pico en relación con el “invierno de VD”. Con un aumento de la irradiación UVB, la prevalencia de DVD fue disminuyendo. Sin embargo, el período de CE entre marzo de 2020 y mayo de 2020 se siguió de un segundo incremento de la prevalencia de DVD, alcanzando un pico del 83% en la primera quincena de abril de 2020. Dicho pico excedió el alcanzado en el periodo de “invierno de VD”, apareciendo un segundo pseudo- “invierno de VD”.



**Figura 2.3.** Distribución de la prevalencia de DVD por quincenas desde mitad de septiembre de 2019 a mitad de agosto de 2020, expresado como porcentaje de participantes con DVD en intervalos quincenales (línea negra sólida). Las barras representan los participantes con 25(OH)D >20 ng/mL (barras verdes) o < 20 ng/mL (barras grises) en cada periodo quincenal. La línea vertical azul sólida representa el inicio del año 2020. Las líneas verticales rojas sólidas representan el inicio y el final del confinamiento estricto.

6.4.4.- *Análisis de regresión de los niveles de 25(OH)D y dosis D-UVB en relación con la situación de CE.*

Para comprender la relación entre los niveles de 25(OH)D y la dosis D-UVB, realizamos un análisis de regresión y exploramos el impacto de la situación de CE. Este análisis proporcionó los siguientes coeficientes: constante = 11.6 ( $p < 0.01$ ), dosis [D-UVB] = 0.4 ( $p < 0.01$ ), y [CE] = -6.9 ( $p < 0.01$ ).

La ecuación resultante de la regresión fue:

$$25(\text{OH})\text{D} \text{ (ng/mL)} = 18.5 - 6.9 \times [\text{CE}] + 0.4 \times [\text{D-UVB}] \text{ (J/m}^2\text{)} \quad (1)$$

Grupo de CE: [CE] = 1, y grupo NCE: [CE] = 0

Este resultado significó que la media de los niveles de 25(OH)D fueron, de promedio, 6.9 ng/mL superiores en el grupo NCE comparado con el grupo CE ( $p < 0.01$ ).

6.4.5.- *Estudio transversal: valoración de la asociación entre DVD y CE.*

Para un total de 881 observaciones válidas (99.4%), la prevalencia de DVD fue del 55.5% (IC95% = 52.2 – 58.4%). En el grupo CE, la prevalencia de DVD fue de 77.8% (IC95% = 71.0 – 83.3%), mientras que fue solo de 50.1% en el grupo NCE (IC95% = 46.5 – 53.8%) (Tabla 2.1), con una *odds ratio* de la prevalencia (POR) de 3.5 (IC95% = 2.4 – 5.1,  $p < 0.01$ ) (Tabla 2.2).

**Tabla 2.2.** Estudio de asociación. *Odds ratio* de la prevalencia de DVD, estimado mediante modelos de regresión logística crudo y ajustado.

		Modelo crudo			Modelo ajustado		
		POR	IC95%	p-Valor	POR	IC95%CI	p-Valor
Confinamiento estricto:	No	1			1		
	Si	3.5	(2.4-5.1)	<0.01 *	4.0	(2.7-5.7)	<0.01 *
Dosis D-UVB:					0.9	(0.9-0.9)	<0.01 *

\*  $p < 0.05$ . Abreviaturas: POR, *odds ratio* de la prevalencia; IC, intervalo de confianza; DVD, deficiencia de vitamina D; D-UVB, dosis de ultravioleta B.

6.4.6.- Modelo logístico binario de DVD en relación con el CE, ajustado por la dosis medida de D-UVB.

El modelo logístico binario crudo fue ajustado por la exposición D-UVB para excluir un sesgo estacional (Tabla 2.2). A todos los participantes se les asignó la dosis media de la quincena en la cual se determinó su nivel de 25(OH)D. Una vez ajustado por las medidas reales quincenales obtenidas de la base de datos TEMIS en nuestra área geográfica, el POR subió hasta 4.0 (IC95% = 2.7 – 5.7), mientras que el POR de la dosis D-UVB fue 0.9 (IC95% = 0.9 – 0.9). El resto de las variables fueron exploradas como factores de confusión en los modelos multivariantes, pero no se encontró modificaciones significativas del POR de DVD o mejora en la precisión de los intervalos de confianza obtenidos, siendo del modelo bivariante el más parsimonioso.

La ecuación del modelo de regresión ajustado, que representa la probabilidad de DVD, fue la siguiente:

$$P(\text{DVD}) = \frac{1}{1 + e^{-(1.53 + 4.01 \times [\text{CE}] + 0.91 \times [\text{D-UVB}] (\text{J/m}^2))}} \quad (2)$$

Grupo CE: [CE] = 1, y grupo NCE: [CE] = 0

Este resultado significa que la prevalencia de DVD en las gestantes participantes fue influida de forma significativa por el CE. Esta observación fue independiente de la dosis de D-UVB medida en nuestra área geográfica. Sin embargo, dada la naturaleza transversal del estudio, no se permite un análisis de causalidad.



## **7.- DISCUSION.**

### **7.1. Discusión del primer estudio.**

Nuestros resultados mostraron que hay una elevada frecuencia de DVD en la población gestante de nuestra región (55.5%). En nuestro día a día, entre cinco y seis embarazadas de cada diez se presentarán con esta condición. Este resultado es consistente con los datos previamente publicados [24,102].

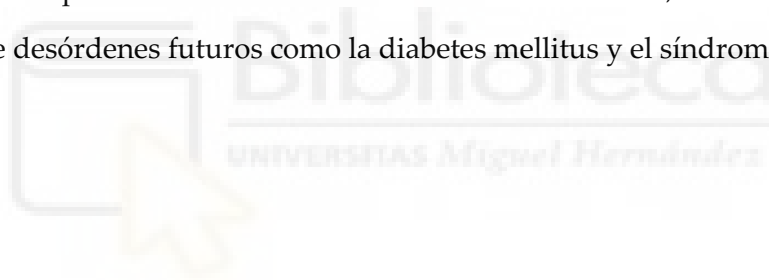
La prevalencia de DG en nuestro departamento fue similar a la de la población gestante española [81]. Aproximadamente, 1 de cada 10 embarazos recibe este diagnóstico, lo cual lo convierte en un problema clínicamente relevante.

En este estudio, encontramos que hubo unos niveles superiores de DVD (68.2% frente a 54.1%) y de obesidad (32.2% frente a 10.8%) en gestantes con DG. En el análisis multivariante, encontramos una RP de 1.63 para DG cuando el DVD estaba presente, que fue estadísticamente significativa. Esta asociación no fue dependiente del IMC. Estos resultados están alineados con los resultados recientemente publicados en la población de Taiwan, en la que se reveló una relación no lineal entre los niveles de 25(OH)D y el riesgo de DG [103]. La relación entre DVD e IMC y el potencial efecto del IMC ha sido explorada en la población de China, habiéndose descrito una correlación, siendo más fuerte en los grupos de sobrepeso y de obesidad [104].

De forma opuesta a otros estudios [52,92], no encontramos que el DVD estuviera asociado con un aumento de la frecuencia de eventos secundarios, a parte de la DG (12.3% frente a 7.1%). No hubo diferencias en la frecuencia de parto pretérmino, preeclampsia, y admisión neonatal a la UCI, o en la distribución de los percentiles en las medidas de los neonatos. Ignoramos si la suplementación con calcidiol en nuestras gestantes con DVD pudo haber influido en la incidencia de estos eventos secundarios. Además, las frecuencias observadas de estos eventos en nuestro estudio fueron inferiores a las publicadas, excepto para la DG. Por lo tanto, existe la posibilidad de que las diferencias no fueran detectadas.

Sin embargo, encontramos diferencias en los eventos secundarios en relación con el grupo de IMC. Hubo una mayor frecuencia de parto pretérmino en el grupo de sobrepeso, aunque no estadísticamente significativa, pero no en el grupo de obesidad. Estos resultados difieren de estudios previos [105,106]. Es posible que no detectáramos ninguna asociación en gestantes con obesidad dado el pequeño tamaño de dicho subgrupo y la baja incidencia esperada. Tanto los partos por cesárea como los percentiles neonatales de peso >90 fueron más prevalentes en el grupo de obesidad, pero no encontramos diferencias en la admisión neonatal en UCI en comparación con los otros [106].

La asociación entre DVD y DG nos permite enfocarnos en una población sobre la cual actuar. Sugerimos la realización de estudios longitudinales adicionales para establecer cualquier relación de causalidad. Esto podría llevar a la intervención con suplementos de VD, y a una potencial influencia en la incidencia de DG, con la consiguiente prevención de desórdenes futuros como la diabetes mellitus y el síndrome metabólico.





## 7.2. Discusión del segundo estudio.

En lo que respecta, este es el primer trabajo que explora los cambios en los niveles de 25(OH)D en la población gestante, en relación con el confinamiento por la pandemia por COVID-19.

Los resultados mostraron una elevada frecuencia de DVD entre las gestantes en nuestra región (55.5%), lo cual es consistente con series previas [24,102]. Esta prevalencia de DVD fue influenciada de forma importante por la cuarentena, con un incremento significativo en el grupo de CE (77.8%), como consecuencia de una disminución en la exposición solar dado el confinamiento domiciliario en esta cohorte de participantes. La mitad de las gestantes en nuestra área de estudio tienen una DVD. Pese a que estos datos son comparables a otros estudios, son importantes desde un punto de vista de la Salud Pública. Nuestros datos describen una realidad preocupante que debería ser atendida.

La 25(OH)D es el marcador sérico preferido para evaluar el estado de la VD, y tiene una semivida de 15 días [107]. Con el fin de ajustar por la irradiación estacional, incluimos en nuestro modelo una variable ambiental, la dosis quincenal de D-UVB. Se acepta que la síntesis cutánea de la VD está influenciada por la latitud [14]. De hecho, el término “invierno de VD”, se acuñó para describir el hecho de que la exposición a la luz solar invernal en Boston (42.2°N) y en Edmonton (52°N) no promovía la síntesis en la piel humana desde noviembre a febrero en Boston, y desde octubre a marzo en Edmonton [108]. Se ha realizado recientemente un análisis exhaustivo de la variación estacional y geográfica de los niveles de D-UVB en Europa [15]. Esta variación en los niveles de D-UVB ha sido previamente conectada con los niveles de 25(OH)D [101], también en Europa. Se define el “invierno de VD” como el umbral de dosis de D-UVB por debajo del cual (<1 kJ/m<sup>2</sup>) la síntesis de VD es insignificante [15,101]. En el sureste de España, el “invierno de VD” fue desde diciembre de 2019 a mediados de enero de 2020. De acuerdo con el estudio de Khanna *et al.*, a pesar de una relativa moderada variación latitudinal en Europa (35 – 64° N), se han descrito grandes variaciones estacionales y regionales a lo largo del continente europeo. El “invierno de VD” fue <2 meses en latitudes inferiores

(y >7 meses en latitudes superiores). En nuestro estudio, el “invierno de VD” fue desde diciembre de 2019 a mediados de enero de 2020, lo que es consistente con las observaciones en las latitudes inferiores de Europa.

Nuestros resultados revelaron un desacoplamiento de la dosis de D-UVB y los niveles de 25(OH)D durante el CE. Mientras que las dosis de D-UVB tuvieron un rango desde 4.2 kJ/m<sup>2</sup> hasta 8.5 kJ/m<sup>2</sup> durante el periodo de CE, los niveles medios de 25(OH)D fueron inferiores a los del verdadero “invierno de VD” (con irradiación < 1kJ/m<sup>2</sup>). La prevalencia del DVD se incrementó durante el CE con respecto al “invierno de VD” pese a que la irradiación D-UVB fue cuatro veces superior. Podríamos decir que el CE produjo un segundo “invierno de VD” en las gestantes de forma artificial.

El músculo esquelético ha sido recientemente implicado en el mantenimiento de los niveles de VD durante el “invierno de VD”. Dado que no existe un claro reservorio para la VD (órgano o tejido), se ha sugerido que sólo puede obtenerse un estado apropiado de niveles de VD en invierno mediante los suplementos orales. Se ha descrito que el principal metabolito circulante de la VD, el 25(OH)D, se acumula en las células musculares estriadas, las cuales podrían constituir una reserva funcional durante los meses de invierno [109,110]. No encontramos diferencias del IMC o los grupos de IMC, en relación con el CE. Sin embargo, la cantidad de músculo varía ampliamente, incluso para un nivel dado de IMC [111]. La composición muscular de las participantes no fue medida; por lo tanto, no pudimos valorar el papel de esta variable en los resultados obtenidos.

De forma adicional a la producción cutánea, las dietas enriquecidas en VD y los suplementos son una fuente relevante de VD. El acceso a los alimentos y a la medicación no fue restringido de forma significativa en el confinamiento domiciliario, y no se tomaron medidas especiales para suplementar a las participantes en relación con esta situación excepcional.

En relación con el CE, no se encontraron diferencias en la distribución de otras variables, incluyendo la prevalencia de DG, de IMC y del grupo de IMC. Sólo los triglicéridos fueron significativamente superiores en el grupo de CE, así como los ítems de estado nutricional y estilo de vida del cuestionario del Estudio San Carlos. En los modelos de regresión logística ajustada, estas variables, no influyeron de forma significativa en el POR de DVD. Estos resultados podrían ser consistentes con una situación de confinamiento. Es probable que algunos efectos de la cuarentena, tanto comportamentales como biológicos, pueden llevar más tiempo que otros en ser evidentes.

En el modelo de regresión logística binario ajustado, el CE fue el factor más importante que explicó el incremento abrupto de la prevalencia de DVD. No hubo otros factores que influenciaran estos resultados (DG, grupo de IMC o etnia). Por lo tanto, en el caso de encontrarnos en una situación similar, un aumento de la prevalencia de DVD debe ser esperado, independientemente de estas condiciones.

En contraste a nuestro resultado, un estudio que incluyó a todos los pacientes ambulatorios mayores a 18 años en un hospital regional en Verona (Italia), informó de una prevalencia similar de DVD durante y después de confinamiento, comparado con los dos años previos al mismo [112]. La población gestante de Elda (España) tuvo una mayor prevalencia de DVD en el periodo previo al CE que la descrita en el estudio de Verona, pero esta fue similar a otras series maternas [24,43,102]. La caída de los niveles de 25(OH)D que encontramos en el CE ha sido descrita en la población infantil en China durante el confinamiento domiciliario durante la pandemia por COVID-19 [113].



## 8.- LIMITACIONES.

### 8.1. Limitaciones del primer estudio.

Se deben reconocer algunas limitaciones. Primero, dada la naturaleza regional del estudio, nuestros resultados podrían no ser generalizables. Se requieren trabajos adicionales que corroboren nuestros hallazgos en otras localizaciones alrededor del mundo. Segundo, una limitación importante de nuestra investigación es su naturaleza transversal, que imposibilita el análisis de causalidad. Con este diseño experimental, el hecho de que la DG modifique los niveles séricos de 25(OH)D y todos los demás valores no puede ser excluido. Otra limitación que presenta este trabajo fue, el confinamiento que sufrió España, debido a la pandemia por COVID-19. Esta situación puede haber impactado la prevalencia de DVD, dado que la mayor fuente de VD en niños y adultos es la exposición solar. Sin embargo, como esta variable no fue incluida en este estudio, no fue analizada<sup>1</sup>. Finalmente, la suplementación con calcidiol en los participantes con DVD, desde la semana 26 de gestación, podría haber sesgado la incidencia de eventos secundarios maternos y neonatales. Siguiendo las recomendaciones de las guías de práctica clínica nacionales, se consideró no ético no suplementar con calcidiol una vez establecido el diagnóstico de DVD. Sin embargo, se desconoce si las dosis empleadas consiguieron una normalización de las concentraciones séricas de 25(OH)D, dado que no se realizaron análisis de sangre adicionales.

---

<sup>1</sup> De hecho, fue esta limitación del primer estudio, y la posterior posibilidad de acceder a los datos de irradiación D-UVB en nuestra área geográfica (a través de la base de datos TEMIS de la Agencia Espacial Europea), la que nos impulsó a plantear el segundo estudio incluido en esta Tesis Doctoral.

## 8.2. Limitaciones (y fortaleza) del segundo estudio.

Se deben reconocer algunas limitaciones. Primero, al igual que en el primer trabajo, los resultados pueden no ser generalizables dada la naturaleza unicéntrica del mismo. Segundo, los datos ambientales de dosis D-UVB en nuestra área podrían no reflejar la exposición individual de los participantes. Nosotros empleamos los datos medidos de TEMIS-ESA como un subrogado de la exposición individual [15,101]. Algunos estudios refuerzan la importancia de las medidas individuales de radiación UVB por encima de asumir la exposición individual [114]. Nuestro estudio transversal no tuvo en cuenta la cantidad o duración de la exposición solar de cada individuo participante. Esto es consecuencia de su carácter retrospectivo. Estas variaciones en la exposición solar entre participantes podrían haber sesgado nuestros resultados. Finalmente, la presente investigación fue basada en una única medida en cada participante de 25(OH)D, y no consideró los cambios longitudinales en los niveles de 25(OH)D. En un estudio longitudinal, se describieron cambios en los niveles de 25(OH)D en el embarazo, con un progresivo aumento de los mismos en cada trimestre [115]. El diseño transversal nos impidió hacer un análisis de causalidad.

Una fortaleza de este estudio es la serendipia. Tuvimos la “oportunidad única” de evaluar un evento raro, como es un confinamiento domiciliario, en un grupo de participantes de un estudio transversal [116]. Por razones éticas, esta situación nunca podría haberse reproducido experimentalmente de forma intencional.

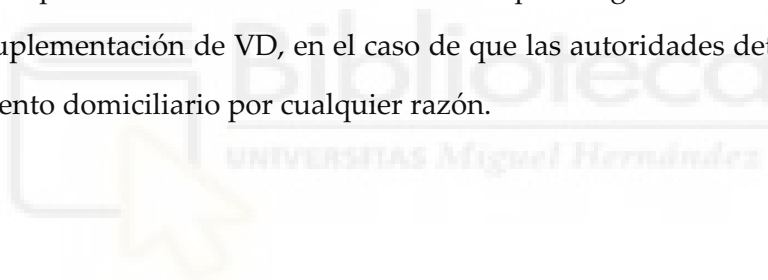
## **9.- CONCLUSIONES.**

### **9.1. Conclusiones del primer estudio.**

- Los resultados revelaron una asociación entre DVD y DG, que fue independiente de IMC. Esta relación podría indicar una posible influencia de los niveles de 25(OH)D en el desarrollo de la DG. Sin embargo, se precisarían estudios longitudinales adicionales para establecer causalidad.
- La DVD no estuvo relacionada con eventos secundarios, en oposición a los grupos de IMC, los cuales mostraron una mayor proporción de partos por cesárea y percentil de peso neonatal >90 en obesidad.

### **9.2. Conclusiones del segundo estudio.**

- Los resultados mostraron que la prevalencia de DVD en gestantes estuvo influenciada por el CE. Esta valiosa información podría guiarnos futuras acciones, como la suplementación de VD, en el caso de que las autoridades determinasen un confinamiento domiciliario por cualquier razón.







## 10.- REFERENCIAS.

1. Palacios, C.; Gonzalez, L. Is Vitamin D Deficiency a Major Global Public Health? *J Steroid Biochem Mol Biol* **2014**, *144PA*, 138, doi:10.1016/J.JSBMB.2013.11.003.
2. Hilger, J.; Friedel, A.; Herr, R.; Rausch, T.; Roos, F.; Wahl, D.A.; Pierroz, D.D.; Weber, P.; Hoffmann, K.; Hoffmann, D.K. Systematic Review A Systematic Review of Vitamin D Status in Populations Worldwide. *British Journal of Nutrition* **2021**, *111*, 23–45, doi:10.1017/S0007114513001840.
3. Pilz, S.; März, W.; Cashman, K.D.; Kiely, M.E.; Whiting, S.J.; Holick, M.F.; Grant, W.B.; Pludowski, P.; Hiligsmann, M.; Trummer, C.; et al. Rationale and Plan for Vitamin D Food Fortification: A Review and Guidance Paper. *Front Endocrinol (Lausanne)* **2018**, *0*, 373, doi:10.3389/FENDO.2018.00373.
4. Torres del Pliego, E.; Nogués Solán, X. ¿Cómo Utilizar La Vitamina D y Qué Dosis de Suplementación Sería La Más Idónea Para Tener El Mejor Balance Eficacia/Seguridad? *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral* **2014**, *6*, 1–4, doi:10.4321/S1889-836X2014000500001.
5. Holick, M.F.; Chen, T.C.; Lu, Z.; Sauter, E. Vitamin D and Skin Physiology: A D-Lightful Story. *J Bone Miner Res* **2007**, *22 Suppl 2*, doi:10.1359/JBMR.07S211.
6. Holick, M.F. Environmental Factors That Influence the Cutaneous Production of Vitamin D. *American Journal of Clinical Nutrition* **1995**, *61*, doi:10.1093/ajcn/61.3.638S.
7. Gilaberte, Y.; Aguilera, J.; Carrascosa, J.; Figueroa, F.; Romaní de Gabriel, J.; Nagore, E. [Vitamin D: Evidence and Controversies]. *Actas Dermosifiliogr* **2011**, *102*, doi:10.1016/J.AD.2011.03.015.
8. Fioletov, V.E.; McArthur, L.J.B.; Mathews, T.W.; Marrett, L. On the Relationship between Erythemal and Vitamin D Action Spectrum Weighted Ultraviolet Radiation. *J Photochem Photobiol B* **2009**, *95*, 9–16, doi:10.1016/J.JPHOTOBIO.2008.11.014.
9. DeLuca, H.F. Overview of General Physiologic Features and Functions of Vitamin D. *Am J Clin Nutr* **2004**, *80*, doi:10.1093/ajcn/80.6.1689s.
10. DeLuca, H.F. Vitamin D: Historical Overview. *Vitam Horm* **2016**, *100*, 1–20, doi:10.1016/BS.VH.2015.11.001.
11. Adams, J.S.; Hewison, M. Update in Vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* **2010**, *95*, 471–478, doi:10.1210/JC.2009-1773.
12. Mendes, M.M.; Hart, K.H.; Williams, E.L.; Mendis, J.; Lanham-New, S.A.; Botelho, P.B. Vitamin D Supplementation and Sunlight Exposure on Serum Vitamin D Concentrations in 2 Parallel, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trials. *Journal of Nutrition* **2021**, *151*, 3137–3150, doi:10.1093/jn/nxab209.
13. Shahriari, M.; Kerr, P.E.; Slade, K.; Grant-Kels, J.E. Vitamin D and the Skin. *Clin Dermatol* **2010**, *28*, 663–668, doi:10.1016/J.CLINDERMATOL.2010.03.030.
14. Engelsen, O. The Relationship between Ultraviolet Radiation Exposure and Vitamin D Status. *Nutrients* **2010**, *2*, 482–495, doi:10.3390/NU2050482.
15. Khanna, T.; Shraim, R.; Zarkovic, M.; van Weele, M.; van Geffen, J.; Zgaga, L. Comprehensive Analysis of Seasonal and Geographical Variation in UVB Radiation Relevant for Vitamin D Production in Europe. *Nutrients* **2022**, *14*, doi:10.3390/NU14235189.

16. Aguilera, J.; de Gálvez, M. V.; Aguilera, P.; de Troya, M.; Gilaberte, Y. Recommendations on Sun Exposure and Photoprotection Following Easing of the COVID-19 Pandemic Lockdown: Spanish Photobiology Group of the Spanish Academy of Dermatology and Venerology (AEDV). *Actas Dermosifiliogr* **2020**, *111*, 799–801, doi:10.1016/J.AD.2020.06.001.
17. Guo, J.; Lovegrove, J.A.; Ian Givens, D. 25(OH)D3-Enriched or Fortified Foods Are More Efficient at Tackling Inadequate Vitamin D Status than Vitamin D3. *Proc Nutr Soc* **2018**, *77*, 282, doi:10.1017/S0029665117004062.
18. Fisk, C.M.; Theobald, H.E.; Sanders, T.A.B. Fortified Malted Milk Drinks Containing Low-Dose Ergocalciferol and Cholecalciferol Do Not Differ in Their Capacity to Raise Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in Healthy Men and Women Not Exposed to UV-B. *J Nutr* **2012**, *142*, 1286–1290, doi:10.3945/JN.111.156166.
19. Caccamo, D.; Ricca, S.; Currò, M.; Ientile, R. Health Risks of Hypovitaminosis D: A Review of New Molecular Insights. *Int J Mol Sci* **2018**, *19*, doi:10.3390/IJMS19030892.
20. Esmailzadeh, A.; Samimi, M.; Tabassi, Z.; Shakeri, H.; Asemi, Z. Vitamin D Supplementation Affects Serum High-Sensitivity C-Reactive Protein, Insulin Resistance, and Biomarkers of Oxidative Stress in Pregnant Women. *J Nutr* **2013**, doi:10.3945/jn.113.177550.
21. Melguizo-Rodríguez, L.; Costela-Ruiz, V.J.; García-Recio, E.; De Luna-Bertos, E.; Ruiz, C.; Illescas-Montes, R. Role of Vitamin D in the Metabolic Syndrome. **2021**, doi:10.3390/nu13030830.
22. Cashman, K.D.; Dowling, K.G.; Škrabáková, Z.; Gonzalez-Gross, M.; Valtueña, J.; De Henauw, S.; Moreno, L.; Damsgaard, C.T.; Michaelsen, K.F.; Mølgaard, C.; et al. Vitamin D Deficiency in Europe: Pandemic? *American Journal of Clinical Nutrition* **2016**, doi:10.3945/ajcn.115.120873.
23. Holick, M.F. The Vitamin D Deficiency Pandemic: Approaches for Diagnosis, Treatment and Prevention. *Rev Endocr Metab Disord* **2017**, *18*, 153–165, doi:10.1007/S11154-017-9424-1.
24. Quesada-Gómez, J.; Diaz-Curiel, M.; Sosa-Henriquez, M.; Malouf-Sierra, J.; Nogues-Solan, X.; Gomez-Alonso, C.; Rodriguez-Mañas, L.; Neyro-Bilbao, J.; Cortes, X.; J, D. Low Calcium Intake and Inadequate Vitamin D Status in Postmenopausal Osteoporotic Women. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2013**, *136*, 175–177, doi:10.1016/J.JSBMB.2012.10.013.
25. Varsavsky, M.; Rozas Moreno, P.; Becerra Fernández, A.; Luque Fernández, I.; Quesada Gómez, J.M.; Ávila Rubio, V.; García Martín, A.; Cortés Berdonces, M.; Naf Cortés, S.; Romero Muñoz, M.; et al. Recommended Vitamin D Levels in the General Population. *Endocrinol Diabetes Nutr* **2017**, *64*, 7–14, doi:10.1016/j.endinu.2016.11.002.
26. Manios, Y.; Moschonis, G.; Lambrinou, C.P.; Tsoutsouloupoulou, K.; Binou, P.; Karachaliou, A.; Breidenassel, C.; Gonzalez-Gross, M.; Kiely, M.; Cashman, K.D. A Systematic Review of Vitamin D Status in Southern European Countries. *Eur J Nutr* **2018**, *57*, 2001–2036, doi:10.1007/S00394-017-1564-2.
27. Spiro, A.; Buttriss, J.L. Vitamin D: An Overview of Vitamin D Status and Intake in Europe. *Nutr Bull* **2014**, *39*, 322–350, doi:10.1111/NBU.12108.
28. Holick, M.F.; Binkley, N.C.; Bischoff-Ferrari, H.A.; Gordon, C.M.; Hanley, D.A.; Heaney, R.P.; Murad, M.H.; Weaver, C.M. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* **2011**, *96*, 1911–1930, doi:10.1210/JC.2011-0385.

29. Díaz-López, A.; Jardí, C.; Villalobos, M.; Serrat, N.; Basora, J.; Arija, V. Prevalence and Risk Factors of Hypovitaminosis D in Pregnant Spanish Women. *Sci Rep* **2020**, *10*, doi:10.1038/S41598-020-71980-1.
30. Lips, P.; Cashman, K.D.; Lamberg-Allardt, C.; Bischoff-Ferrari, H.A.; Obermayer-Pietsch, B.; Bianchi, M.L.; Stepan, J.; Fuleihan, G.E.H.; Bouillon, R. Current Vitamin D Status in European and Middle East Countries and Strategies to Prevent Vitamin D Deficiency: A Position Statement of the European Calcified Tissue Society. *Eur J Endocrinol* **2019**, *180*, P23–P54, doi:10.1530/EJE-18-0736.
31. Guía de Asistencia Práctica\* Prenatal Control of Normal Pregnancy Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia Revista Oficial de La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia., doi:10.20960/j.pog.00141.
32. Seamans, K.M.; Cashman, K.D. Existing and Potentially Novel Functional Markers of Vitamin D Status: A Systematic Review. *American Journal of Clinical Nutrition* **2009**, *89*, doi:10.3945/ajcn.2009.27230D.
33. Bischoff-Ferrari, H.A.; Giovannucci, E.; Willett, W.C.; Dietrich, T.; Dawson-Hughes, B. Estimation of Optimal Serum Concentrations of 25-Hydroxyvitamin D for Multiple Health Outcomes. *Am J Clin Nutr* **2006**, *84*, 18–28, doi:10.1093/AJCN/84.1.18.
34. Holmes, E.W.; Garbincius, J.; McKenna, K.M. Analytical Variability among Methods for the Measurement of 25-Hydroxyvitamin D: Still Adding to the Noise. *Am J Clin Pathol* **2013**, *140*, 550–560, doi:10.1309/AJCPU2SKW1TFKSWY.
35. Sempos, C.T.; Vesper, H.W.; Phinney, K.W.; Thienpont, L.M.; Coates, P.M. Vitamin D Status as an International Issue: National Surveys and the Problem of Standardization. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* **2012**, *243*, 32–40, doi:10.3109/00365513.2012.681935.
36. Wallace, A.M.; Gibson, S.; de la Hunty, A.; Lamberg-Allardt, C.; Ashwell, M. Measurement of 25-Hydroxyvitamin D in the Clinical Laboratory: Current Procedures, Performance Characteristics and Limitations. *Steroids* **2010**, *75*, 477–488, doi:10.1016/J.STEROIDS.2010.02.012.
37. Hoofnagle, A.N.; Eckfeldt, J.H.; Lutsey, P.L. Vitamin D-Binding Protein Concentrations Quantified by Mass Spectrometry. *N Engl J Med* **2015**, *373*, 1480–1482, doi:10.1056/NEJMC1502602.
38. Vitamin D Deficiency in Adults: Definition, Clinical Manifestations, and Treatment - UpToDate Available online: [https://www.uptodate.com.sangva.a17.csinet.es/contents/vitamin-d-deficiency-in-adults-definition-clinical-manifestations-and-treatment?search=vitamin%20D%20deficiency%20in%20adults&source=search\\_result&select-edTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com.sangva.a17.csinet.es/contents/vitamin-d-deficiency-in-adults-definition-clinical-manifestations-and-treatment?search=vitamin%20D%20deficiency%20in%20adults&source=search_result&select-edTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1) (accessed on 5 March 2023).
39. Giustina, A.; Adler, R.A.; Binkley, N.; Bouillon, R.; Ebeling, P.R.; Lazaretti-Castro, M.; Marcocci, C.; Rizzoli, R.; Sempos, C.T.; Bilezikian, J.P. Controversies in Vitamin D: Summary Statement From an International Conference. *J Clin Endocrinol Metab* **2019**, *104*, 234–240, doi:10.1210/JC.2018-01414.
40. Ross, A.C.; Manson, J.A.E.; Abrams, S.A.; Aloia, J.F.; Brannon, P.M.; Clinton, S.K.; Durazo-Arvizu, R.A.; Gallagher, J.C.; Gallo, R.L.; Jones, G.; et al. The 2011 Report on Dietary Reference

Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know. *J Clin Endocrinol Metab* **2011**, *96*, 53–58, doi:10.1210/JC.2010-2704.

41. Gómez de Tejada Romero, M.; Sosa Henríquez, M.; del Pino Montes, J.; Jodar Gimeno, E.; Quesada Gómez, J.; Cancelo Hidalgo, M.; Díaz Curiel, M.; Mesa Ramos, M.; Muñoz Torres, M.; Carpintero Benítez, P.; et al. Documento de Posición Sobre Las Necesidades y Niveles Óptimos de Vitamina D Sociedad Española de Investigación Ósea y Del Metabolismo Mineral (SEIOMM) y Sociedades Afines. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral* **2011**, *3*, 53–64.
42. Mansur, J.L.; Oliveri, B.; Giacoia, E.; Fusaro, D.; Costanzo, P.R. Vitamin D: Before, during and after Pregnancy: Effect on Neonates and Children. *Nutrients* **2022**, *14*, doi:10.3390/nu14091900.
43. Saraf, R.; Morton, S.; Camargo, C.; Grant, C. Global Summary of Maternal and Newborn Vitamin D Status - a Systematic Review. *Matern Child Nutr* **2016**, *12*, 647–668, doi:10.1111/MCN.12210.
44. De-Regil, L.; Palacios, C.; Lombardo, L.; Peña-Rosas, J. Vitamin D Supplementation for Women during Pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* **2016**, *2016*, doi:10.1002/14651858.CD008873.PUB3.
45. Palmrich, P.; Thajer, A.; Schirwani, N.; Haberl, C.; Zeisler, H.; Ristl, R.; Binder, J. Longitudinal Assessment of Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels during Pregnancy and Postpartum—Are the Current Recommendations for Supplementation Sufficient? *Nutrients* **2023**, *15*, doi:10.3390/NU15020339/S1.
46. van der Pligt, P.; Willcox, J.; Szymlek-Gay, E.A.; Murray, E.; Worsley, A.; Daly, R.M. Associations of Maternal Vitamin D Deficiency with Pregnancy and Neonatal Complications in Developing Countries: A Systematic Review. *Nutrients* **2018**, *10*, doi:10.3390/NU10050640.
47. Zhang, Y.; Gong, Y.; Xue, H.; Xiong, J.; Cheng, G. Vitamin D and Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review Based on Data Free of Hawthorne Effect. *BJOG* **2018**, *125*, 784–793, doi:10.1111/1471-0528.15060.
48. Urrutia, R.; Thorp, J. Vitamin D in Pregnancy: Current Concepts. *Curr Opin Obstet Gynecol* **2012**, *24*, 57–64, doi:10.1097/GCO.0B013E3283505AB3.
49. Sotunde, O.F.; Laliberte, A.; Weiler, H.A. Maternal Risk Factors and Newborn Infant Vitamin D Status: A Scoping Literature Review. *Nutrition Research* **2019**, *63*, 1–20, doi:10.1016/J.NUTRES.2018.11.011.
50. Dawodu, A.; Saadi, H.F.; Bekdache, G.; Javed, Y.; Altaye, M.; Hollis, B.W. Randomized Controlled Trial (RCT) of Vitamin D Supplementation in Pregnancy in a Population with Endemic Vitamin D Deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **2013**, *98*, 2337–2346, doi:10.1210/jc.2013-1154.
51. Roth, D.E.; Al Mahmud, A.; Raqib, R.; Akhtar, E.; Perumal, N.; Pezzack, B.; Baqui, A.H. Randomized Placebo-Controlled Trial of High-Dose Prenatal Third-Trimester Vitamin D3 Supplementation in Bangladesh: The AViDD Trial. *Nutr J* **2013**, *12*, doi:10.1186/1475-2891-12-47.
52. Palacios, C.; Kostiuk, L.K.; Peña-Rosas, J.P. Vitamin D Supplementation for Women during Pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2019**, *2019*, doi:10.1002/14651858.CD008873.PUB4.

53. Rostami, M.; Tehrani, F.R.; Simbar, M.; Yarandi, R.B.; Minooe, S.; Hollis, B.W.; Hosseinpanah, F. Effectiveness of Prenatal Vitamin D Deficiency Screening and Treatment Program: A Stratified Randomized Field Trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **2018**, *103*, 2936–2948, doi:10.1210/jc.2018-00109.
54. Holick, M.F. A Call to Action: Pregnant Women In-Deed Require Vitamin D Supplementation for Better Health Outcomes. *J Clin Endocrinol Metab* **2019**, *104*, 13–15, doi:10.1210/JC.2018-01108.
55. ACOG Committee Opinion No. 495: Vitamin D: Screening and Supplementation during Pregnancy. *Obstetrics and Gynecology* **2011**, *118*, 197–198, doi:10.1097/AOG.0B013E318227F06B.
56. Overview | Maternal and Child Nutrition | Guidance | NICE.
57. Guideline: Vitamin D Supplementation in Pregnant Women - PubMed Available online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26269868/> (accessed on 5 March 2023).
58. Gallo, S.; McDermid, J.M.; Al-Nimr, R.I.; Hakeem, R.; Moreschi, J.M.; Pari-Keener, M.; Stahnke, B.; Papoutsakis, C.; Handu, D.; Cheng, F.W. Vitamin D Supplementation during Pregnancy: An Evidence Analysis Center Systematic Review and Meta-Analysis. *J Acad Nutr Diet* **2020**, *120*, 898-924.e4, doi:10.1016/J.JAND.2019.07.002.
59. Roth, D.E. Vitamin D Supplementation during Pregnancy: Safety Considerations in the Design and Interpretation of Clinical Trials. *J Perinatol* **2011**, *31*, 449–459, doi:10.1038/JJP.2010.203.
60. Rowe, R.D.; Cooke, R.E. Vitamin D and Craniofacial and Dental Anomalies of Supravalvular Stenosis. *Pediatrics* **1969**, *43*, 1–2, doi:10.1542/peds.43.1.1.
61. Hollis, B.W.; Wagner, C.L. Substantial Vitamin D Supplementation Is Required during the Prenatal Period to Improve Birth Outcomes. *Nutrients* **2022**, *14*, doi:10.3390/NU14040899.
62. Ali, D.S.; Dandurand, K.; Khan, A.A. Hypoparathyroidism in Pregnancy and Lactation: Current Approach to Diagnosis and Management. *J Clin Med* **2021**, *10*, 10, doi:10.3390/JCM10071378.
63. Hollis, B.W.; Johnson, D.; Hulsey, T.C.; Ebeling, M.; Wagner, C.L. Vitamin D Supplementation during Pregnancy: Double-Blind, Randomized Clinical Trial of Safety and Effectiveness. *J Bone Miner Res* **2011**, *26*, 2341–2357, doi:10.1002/JBMR.463.
64. Enkhmaa, D.; Tanz, L.; Ganmaa, D.; Enkhtur, S.; Oyun-Erdene, B.; Stuart, J.; Chen, G.; Carr, A.; Seely, E.W.; Fitzmaurice, G.; et al. Randomized Trial of Three Doses of Vitamin D to Reduce Deficiency in Pregnant Mongolian Women. *EBioMedicine* **2019**, *39*, 510–519, doi:10.1016/J.EBIOM.2018.11.060.
65. SMHSTAR. Medicamentos y Embarazo: Informes de Evaluación de Teratogenia En El Primer Trimestre de Embarazo Available online: <https://www.smhstar.org/noticias/97/medicamentos-y-embarazo-informes-de-evaluacion-de-teratogenia-en-el-primer-trimestre-de-embarazo> (accessed on 5 March 2023).
66. Schaefer, C.; Peters, P.; Miller, R.K.; Diego, S.; Francisco, S. *Drugs During Pregnancy and Lactation Treatment Options and Risk Assessment Second Edition*. **2001**.
67. Seely, E.W.; Brown, E.M.; Demaggio, D.M.; Weldon, D.K.; Graves, S.W. A Prospective Study of Calcitropic Hormones in Pregnancy and Post Partum: Reciprocal Changes in Serum Intact Parathyroid Hormone and 1,25-Dihydroxyvitamin D. *Am J Obstet Gynecol* **1997**, *176*, 214–217, doi:10.1016/S0002-9378(97)80039-7.

68. Vieth, R. Vitamin D Supplementation, 25-Hydroxyvitamin D Concentrations, and Safety. *Am J Clin Nutr* **1999**, *69*, 842–856, doi:10.1093/AJCN/69.5.842.
69. Chodankar, R.; Middleton, G.; Lim, C.; Mahmood, T. Obesity in Pregnancy. *Obstet Gynaecol Reprod Med* **2018**, *28*, 53–56, doi:10.1016/J.OGRM.2017.11.003.
70. Obesity in Pregnancy: ACOG Practice Bulletin, Number 230. *Obstetrics and Gynecology* **2021**, *137*, e128–e144, doi:10.1097/AOG.0000000000004395.
71. Bellamy, L.; Casas, J.P.; Hingorani, A.D.; Williams, D. Type 2 Diabetes Mellitus after Gestational Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Lancet* **2009**, *373*, 1773–1779, doi:10.1016/S0140-6736(09)60731-5.
72. Vounzoulaki, E.; Khunti, K.; Abner, S.C.; Tan, B.K.; Davies, M.J.; Gillies, C.L. Progression to Type 2 Diabetes in Women with a Known History of Gestational Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis. *The British Medical Journal* **2020**, *369*, doi:10.1136/bmj.m1361.
73. Nikooyeh, B.; Neyestani, T.R. Oxidative Stress, Type 2 Diabetes and Vitamin D: Past, Present and Future. *Diabetes Metab Res Rev* **2016**, *32*, 260–267, doi:10.1002/DMRR.2718.
74. Contreras-Bolívar, V.; García-Fontana, B.; García-Fontana, C.; Muñoz-Torres, M. Mechanisms Involved in the Relationship between Vitamin D and Insulin Resistance: Impact on Clinical Practice. *Nutrients* **2021**, *13*, doi:10.3390/NU13103491.
75. Wimalawansa, S.J. Associations of Vitamin D with Insulin Resistance, Obesity, Type 2 Diabetes, and Metabolic Syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2018**, *175*, 177–189, doi:10.1016/J.JSBMB.2016.09.017.
76. Srikanthan, K.; Feyh, A.; Visweshwar, H.; Shapiro, J.I.; Sodhi, K. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *Int J Med Sci* **2016**, *13*, 25–38, doi:10.7150/IJMS.13800.
77. Zehravi, M.; Maqbool, M.; Ara, I. Correlation between Obesity, Gestational Diabetes Mellitus, and Pregnancy Outcomes: An Overview. *Int J Adolesc Med Health* **2021**, *33*, 339–345, doi:10.1515/IJAMH-2021-0058.
78. [Gestational Diabetes. Determination of Relative Importance of Risk Factors] - PubMed Available online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11374138/> (accessed on 1 March 2023).
79. Avci, M.E.; Şanlıkan, F.; Çelik, M.; Avci, A.; Kocaer, M.; Göçmen, A. Effects of Maternal Obesity on Antenatal, Perinatal and Neonatal Outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med* **2015**, *28*, 2080–2083, doi:10.3109/14767058.2014.978279.
80. Wang, H.; Li, N.; Chivese, T.; Werfalli, M.; Sun, H.; Yuen, L.; Hoegfeldt, C.A.; Elise Powe, C.; Immanuel, J.; Karuranga, S.; et al. IDF Diabetes Atlas: Estimation of Global and Regional Gestational Diabetes Mellitus Prevalence for 2021 by International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group's Criteria. *Diabetes Res Clin Pract* **2022**, *183*, doi:10.1016/J.DIABRES.2021.109050.
81. Ben-Haroush, A.; Yogev, Y.; Hod, M. Epidemiology of Gestational Diabetes Mellitus and Its Association with Type 2 Diabetes. *Diabet Med* **2004**, *21*, 103–113, doi:10.1046/J.1464-5491.2003.00985.X.
82. Sweeting, A.; Wong, J.; Murphy, H.R.; Ross, G.P. A Clinical Update on Gestational Diabetes Mellitus. *Endocr Rev* **2022**, *43*, 763, doi:10.1210/ENDREV/BNAC003.

83. Yang, Z.; Phung, H.; Freebairn, L.; Sexton, R.; Raulli, A.; Kelly, P. Contribution of Maternal Overweight and Obesity to the Occurrence of Adverse Pregnancy Outcomes. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* **2019**, *59*, 367–374, doi:10.1111/AJO.12866.
84. Josefson, J.L.; Feinglass, J.; Rademaker, A.W.; Metzger, B.E.; Zeiss, D.M.; Price, H.E.; Langman, C.B. Maternal Obesity and Vitamin D Sufficiency Are Associated with Cord Blood Vitamin D Insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* **2013**, *98*, 114–119, doi:10.1210/JC.2012-2882.
85. Pena, H.R.; de Lima, M.C.; Brandt, K.G.; de Antunes, M.M.C.; da Silva, G.A.P. Influence of Preeclampsia and Gestational Obesity in Maternal and Newborn Levels of Vitamin D. *BMC Pregnancy Childbirth* **2015**, *15*, doi:10.1186/S12884-015-0547-7.
86. Emmen, J.M.A.; Wielders, J.P.M.; Boer, A.K.; Van Den Ouweland, J.M.W.; Vader, H.L. The New Roche Vitamin D Total Assay: Fit for Its Purpose? *Clin Chem Lab Med* **2012**, *50*, 1969–1972, doi:10.1515/CCLM-2011-0085.
87. Leino, A.; Turpeinen, U.; Koskinen, P. Automated Measurement of 25-OH Vitamin D3 on the Roche Modular E170 Analyzer. *Clin Chem* **2008**, *54*, 2059–2062, doi:10.1373/clinchem.2008.111732.
88. Knudsen, C.S.; Nexø, E.; Højskov, C.S.; Heickendorff, L. Analytical Validation of the Roche 25-OH Vitamin D Total Assay. *Clin Chem Lab Med* **2012**, *50*, 1965–1968, doi:10.1515/cclm-2011-0964.
89. Iglesias Álvarez, E.M.; Granada Ybern, M.L.; Doladé Botías, M.; Barallat Martínez de Osaba, J.; Hidalgo Sáez, I.; Cruz Pastor Ferrer, M. Comparación de Las Concentraciones de Vitamina D Por 3 Métodos Comerciales. *Revista del Laboratorio Clínico* **2013**, *6*, 2–9, doi:10.1016/J.LABCLI.2012.05.003.
90. VDSCP List of Certified Participants | CDC Available online: [https://www.cdc.gov/labstandards/vdscp\\_participants.html](https://www.cdc.gov/labstandards/vdscp_participants.html) (accessed on 22 November 2021).
91. Carpenter, M.; Coustan, D. Criteria for Screening Tests for Gestational Diabetes. *Am J Obstet Gynecol* **1982**, *144*, 768–773, doi:10.1016/0002-9378(82)90349-0.
92. Metzger, B.; Coustan, D. Summary and Recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. *Diabetes Care* **1998**, *21 Suppl 2*, B161-7.
93. Bloomgarden, Z. American Diabetes Association 60th Scientific Sessions, 2000: Diabetes and Pregnancy. *Diabetes Care* **2000**, *23*, 1699–1702, doi:10.2337/DIACARE.23.11.1699.
94. Corcoy, R.; Lumbreras, B.; Bartha, J.L.; Ricart, W.; Embarazo Nuevos Criterios Diagnósticos de Diabetes Mellitus Gestacional a Partir Del Estudio HAPO. ¿Son Válidos En Nuestro Medio? *Avances en Diabetología* **2010**, *26*, 139–142, doi:10.1016/S1134-3230(10)63001-3.
95. The Diabetes and Nutrition Study Group of the Spanish Diabetes Association Diabetes Nutrition and Complications Trial. *Diabetes Care* **2004**, *27*, 984–987, doi:10.2337/DIACARE.27.4.984.
96. Durán, A.; Martín, P.; Runkle, I.; Pérez, N.; Abad, R.; Fernández, M.; Del Valle, L.; Sanz, M.; Calle-Pascual, A. Benefits of Self-Monitoring Blood Glucose in the Management of New-Onset Type 2 Diabetes Mellitus: The St Carlos Study, a Prospective Randomized Clinic-Based Interventional Study with Parallel Groups. *J Diabetes* **2010**, *2*, 203–211, doi:10.1111/J.1753-0407.2010.00081.X.

97. Zempila, M.M.; Van Geffen, J.H.G.M.; Taylor, M.; Fountoulakis, I.; Koukouli, M.E.; Van Weele, M.; Van Der A, R.J.; Bais, A.; Meleti, C.; Balis, D. TEMIS UV Product Validation Using NILU-UV Ground-Based Measurements in Thessaloniki, Greece. *Atmos Chem Phys* **2017**, *17*, doi:10.5194/acp-17-7157-2017.
98. Kelly, D.; Theodoratou, E.; Farrington, S.M.; Fraser, R.; Campbell, H.; Dunlop, M.G.; Zgaga, L. The Contributions of Adjusted Ambient Ultraviolet B Radiation at Place of Residence and Other Determinants to Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations. *British Journal of Dermatology* **2016**, *174*, 1068–1078, doi:10.1111/bjd.14296.
99. O'Sullivan, F.; Laird, E.; Kelly, D.; van Geffen, J.; van Weele, M.; McNulty, H.; Hoey, L.; Healy, M.; McCarroll, K.; Cunningham, C.; et al. Ambient UVB Dose and Sun Enjoyment Are Important Predictors of Vitamin D Status in an Older Population. *Journal of Nutrition* **2017**, *147*, doi:10.3945/jn.116.244079.
100. R: The R Project for Statistical Computing Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 1 November 2021).
101. O'Neill, C.M.; Kazantzidis, A.; Ryan, M.J.; Barber, N.; Sempos, C.T.; Durazo-Arvizu, R.A.; Jorde, R.; Grimnes, G.; Eiriksdottir, G.; Gudnason, V.; et al. Seasonal Changes in Vitamin D-Effective UVB Availability in Europe and Associations with Population Serum 25-Hydroxyvitamin D. *Nutrients* **2016**, *8*, doi:10.3390/nu8090533.
102. Cashman, K.D.; Dowling, K.G.; Škrabáková, Z.; Gonzalez-Gross, M.; Valtueña, J.; Henauw, S. De; Moreno, L.; Damsgaard, C.T.; Michaelsen, K.F.; Mølgaard, C.; et al. Vitamin D Deficiency in Europe: Pandemic? *Am J Clin Nutr* **2016**, *103*, 1033, doi:10.3945/AJCN.115.120873.
103. Pham, T.T.M.; Huang, Y.-L.; Chao, J.C.-J.; Chang, J.-S.; Chen, Y.-C.; Wang, F.-F.; Bai, C.-H. Plasma 25(OH)D Concentrations and Gestational Diabetes Mellitus among Pregnant Women in Taiwan. *Nutrients* **2021**, *13*, 2538, doi:10.3390/NU13082538.
104. Shao, B.; Mo, M.; Xin, X.; Jiang, W.; Wu, J.; Huang, M.; Wang, S.; Muyiduli, X.; Si, S.; Y, S.; et al. The Interaction between Prepregnancy BMI and Gestational Vitamin D Deficiency on the Risk of Gestational Diabetes Mellitus Subtypes with Elevated Fasting Blood Glucose. *Clin Nutr* **2020**, *39*, 2265–2273, doi:10.1016/J.CLNU.2019.10.015.
105. Liu, B.; Xu, G.; Sun, Y.; Du, Y.; Gao, R.; Snetselaar, L.G.; Santillan, M.K.; Bao, W. Association between Maternal Pre-Pregnancy Obesity and Preterm Birth According to Maternal Age and Race or Ethnicity: A Population-Based Study. *Lancet Diabetes Endocrinol* **2019**, *7*, 707–714, doi:10.1016/S2213-8587(19)30193-7.
106. Liu, P.; Xu, L.; Wang, Y.; Zhang, Y.; Du, Y.; Sun, Y.; Wang, Z. Association between Perinatal Outcomes and Maternal Pre-Pregnancy Body Mass Index. *Obesity Reviews* **2016**, *17*, 1091–1102.
107. Werneke, U.; Gaughran, F.; Taylor, D.M. Vitamin D in the Time of the Coronavirus (COVID-19) Pandemic – a Clinical Review from a Public Health and Public Mental Health Perspective. *Ther Adv Psychopharmacol* **2021**, *11*, doi:10.1177/20451253211027699.
108. Webb, A.R.; Kline, L.; Holick, M.F. Influence of Season and Latitude on the Cutaneous Synthesis of Vitamin D3: Exposure to Winter Sunlight in Boston and Edmonton Will Not Promote Vitamin D3 Synthesis in Human Skin. *J Clin Endocrinol Metab* **1988**, *67*, 373–378, doi:10.1210/JCEM-67-2-373.



109. Mason, R.S.; Rybchyn, M.S.; Abboud, M.; Brennan-Speranza, T.C.; Fraser, D.R. The Role of Skeletal Muscle in Maintaining Vitamin D Status in Winter. *Curr Dev Nutr* **2019**, *3*, nzz087, doi:10.1093/cdn/nzz087.
110. Rybchyn, M.S.; Abboud, M.; Puglisi, D.A.; Gordon-Thomson, C.; Brennan-Speranza, T.C.; Mason, R.S.; Fraser, D.R. Skeletal Muscle and the Maintenance of Vitamin D Status. *Nutrients* **2020**, *12*, 1–11, doi:10.3390/NU12113270.
111. Heymsfield, S.B.; Smith, B.; Chung, E.A.; Watts, K.L.; Gonzalez, M.C.; Yang, S.; Heo, M.; Thomas, D.M.; Turner, D.; Bosy-Westphal, A.; et al. Phenotypic Differences between People Varying in Muscularity. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* **2022**, *13*, 1100, doi:10.1002/JCSM.12959.
112. Lippi, G.; Ferrari, A.; Targher, G. Is COVID-19 Lockdown Associated with Vitamin D Deficiency? *The European Journal of Public Health* **2021**, *31*, 278–279, doi:10.1093/EURPUB/CKAB004.
113. Yu, L.; Ke, H.J.; Che, D.; Luo, S.L.; Guo, Y.; Wu, J.L. Effect of Pandemic-Related Confinement on Vitamin D Status among Children Aged 0–6 Years in Guangzhou, China: A Cross-Sectional Study. *Risk Manag Healthc Policy* **2020**, *13*, doi:10.2147/RMHP.S282495.
114. Mendes, M.M.; Hart, K.H.; Lanham-New, S.A.; Botelho, P.B. Exploring the Impact of Individual UVB Radiation Levels on Serum 25-Hydroxyvitamin D in Women Living in High Versus Low Latitudes: A Cross-Sectional Analysis from the D-SOL Study. *Nutrients* **2020**, *12*, 1–15, doi:10.3390/NU12123805.
115. Agudelo-Zapata, Y.; Maldonado-Acosta, L.M.; Sandoval-Alzate, H.F.; Poveda, N.E.; Garcés, M.F.; Cortés-Vásquez, J.A.; Linares-Vaca, A.F.; Mancera-Rodríguez, C.A.; Perea-Ariza, S.A.; Ramírez-Iriarte, K.Y.; et al. Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels throughout Pregnancy: A Longitudinal Study in Healthy and Preeclamptic Pregnant Women. *Endocr Connect* **2018**, *7*, 698–707, doi:10.1530/EC-18-0055.
116. Agüero-Domenech, N.; Jover, S.; Sarrión, A.; Baranda, J.; Quesada-Rico, J.A.; Pereira-Expósito, A.; Gil-Guillén, V.; Cortés-Castell, E.; García-Teruel, M.J. Vitamin D Deficiency and Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Body Mass Index. *Nutrients* **2022**, *14*, doi:10.3390/nu14010102.






## 11.- ANEXO.





## Article

# Vitamin D Deficiency and Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Body Mass Index

Nuria Agüero-Domenech <sup>1,2</sup>, Silvia Jover <sup>1</sup>, Ana Sarrión <sup>1</sup>, Javier Baranda <sup>1</sup>, José A. Quesada-Rico <sup>3,\*</sup> , Avelino Pereira-Expósito <sup>4</sup> , Vicente Gil-Guillén <sup>3,4</sup>, Ernesto Cortés-Castell <sup>5</sup>  and María J. García-Teruel <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Gynaecology and Obstetrics, Hospital General Universitario Elda, 03600 Elda, Spain; nuria.aguero@umh.es (N.A.-D.); jover\_sil@gva.es (S.J.); sarrion\_ana@gva.es (A.S.); baranda\_jav@gva.es (J.B.); garcia\_mjter@gva.es (M.J.G.-T.)

<sup>2</sup> Department of Public Health, History of Science and Gynaecology, Miguel Hernández University, 03550 San Juan, Spain

<sup>3</sup> Department of Clinical Medicine, Miguel Hernández University, 03550 San Juan, Spain; vgil@umh.es

<sup>4</sup> Research Unit, Hospital General Universitario Elda, 03600 Elda, Spain; pereira\_ave@gva.es

<sup>5</sup> Department of Pharmacology, Pediatrics and Organic Chemistry, Miguel Hernández University, 03550 San Juan, Spain; ernesto.cortes@umh.es

\* Correspondence: jquesada@umh.es

**Abstract:** A relationship between vitamin D deficiency (VDD) and gestational diabetes mellitus (GDM) has been described. Considering that GDM prevalence depends on body mass index (BMI), our main objective was to determine if VDD is associated with GDM, independent of BMI. A cross-sectional study with 886 pregnant women was conducted in Elda (Spain) from September 2019 to June 2020. To assess the association, Poisson regression models with robust variance were used to estimate the prevalence ratio (PR). The observed GDM prevalence was 10.5%, while the VDD prevalence was 55.5%. In the crude model, both VDD and obesity were associated with GDM, but in the adjusted model, only VDD was statistically significant (PR = 1.635,  $p = 0.038$ ). A secondary event analysis did not detect differences in VDD, but BMI yielded a higher frequency of births by cesarean section and newborns with a >90 percentile weight in the obesity group. In conclusion, VDD is associated with GDM, independent of BMI. Future longitudinal studies could provide information on causality.

**Keywords:** gestational diabetes mellitus; 25(OH)D concentration; vitamin D deficiency; body mass index; pregnant women



**Citation:** Agüero-Domenech, N.; Jover, S.; Sarrión, A.; Baranda, J.; Quesada-Rico, J.A.; Pereira-Expósito, A.; Gil-Guillén, V.; Cortés-Castell, E.; García-Teruel, M.J. Vitamin D Deficiency and Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Body Mass Index. *Nutrients* **2022**, *14*, 102. <https://doi.org/10.3390/nu14010102>

Academic Editor: Carsten Carlberg

Received: 7 December 2021

Accepted: 24 December 2021

Published: 27 December 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

In adults, vitamin D deficiency (VDD) is defined as a 25-hydroxivitamin D (25(OH)D) serum level below 20 ng/mL and vitamin D insufficiency between 20 and 30 ng/mL [1]. There is recent evidence that VDD is a reality both in Spain and globally [2–4]. VDD is found in 40.4% of the general population in Europe and 26.0% in the United States of America [5]. Vitamin D levels are similar in the Spanish and European populations [6]. VDD has been described in all ages and genders, in a similar fashion around the globe, including in very sunny regions in Mediterranean countries [7].

Globally, VDD is found in 54% of pregnancies and in 75% of newborns. This affects pregnant women of all latitudes, not only those with lower exposure to sunlight. In Europe, the VDD prevalence in pregnancy is 57%, while it is 73% in newborns [8]. Despite the mentioned high frequency of VDD, there is no consensus about the need for 25(OH)D level evaluation or the requirement of supplementation in pregnancy [9].

VDD has been linked to the occurrence of several adverse events during pregnancy, such as preeclampsia, gestational diabetes mellitus (GDM), preterm birth, and birth by cesarean section. Consequences in newborns include a low weight at birth, a small head

circumference, and neurodevelopmental problems [9–11]. A recent systematic review compared vitamin D supplementation with a placebo/control and found a reduction in the relative risk of preeclampsia, GDM, and low weight at birth (<2500 g). However, no difference in the risk of preterm birth (<37 weeks) was detected [9].

GDM characterizes a population of women at high risk of developing type 2 diabetes mellitus, representing an early stage in the natural history of the disease [12]. It has been postulated that vitamin D could be key to hepatic metabolism regulation, function, and the development of pancreatic islands, calcium levels in the blood, oxidative stress, and the immune and inflammatory systems that mediate the start of GDM [13]. VDD could be an independent cardiovascular risk factor and a marker of metabolic syndrome [14], as per other existing biomarkers of metabolic syndrome and insulin resistance, such as “homeostasis model of assessment—insulin resistance” (HOMA-IR), levels of fasting insulin, fasting glycemia, C-reactive protein, fibrinogen, and lipid profile, among others [15].

GDM is a highly prevalent disease, with a frequency of 7–12% in the Spanish pregnant women population [16]. This prevalence is associated with body mass index (BMI), with a frequency of 10.2% for a BMI > 25 and 16.7% for a BMI > 30 [17].

Our main objective was to determine if VDD is associated with GDM, independent of BMI. In addition, the secondary endpoint was whether VDD and BMI are associated with a higher occurrence of secondary obstetric or neonatal events.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Population

We performed a population-based, single-center, observational, cross-sectional, and analytic study. To achieve the secondary endpoint, a longitudinal follow-up was completed for all participating women, until the completion of pregnancy. All pregnant women in the Health Department were invited to participate. The study was approved by the Institutional Review Board of the Hospital General Universitario Elda (protocol code VITD), and all participants signed an informed consent form prior to inclusion.

Exhaustive consecutive sampling was carried out from September 2019 to July 2020, with the only inclusion criterion being the state of gestation in the second trimester of pregnancy. Multiple pregnancies and a personal history of pregestational diabetes mellitus (type 1 or 2) were considered as exclusion criteria.

### 2.2. Data Collection

Data were collected in a 10-month period via anonymized data sheets, in a retrospective and prospective way, depending on the variable.

#### 2.2.1. Assessment of Vitamin D Levels

Blood samples were taken during the routine visit in the second trimester, in conjunction with a GDM screening test. The 25(OH)D serum concentration was determined by an automated electro-chemiluminescent binding assay (Modular Analytics E170 and Elecsys Vitamin D Total II, Roche Diagnostics, GmbH (Manheim, Germany)), with a measurement range from 3 to 70 ng/dL. This test has previously been validated against liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC/MS/MS), and it has been certified by the CDC Vitamin D Standardization–Certification Program (VDSCP) [18–22].

VDD was defined as a serum concentration <20 ng/mL [1,23]. In the case of VDD, 480 UI of calcidiol per day was supplemented until the end of pregnancy.

#### 2.2.2. Assessment of GDM

GDM diagnosis was completed in two steps, following the Carpenter and Coustan criteria [24] as proposed in the 4th Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus [25] and by the American Diabetes Association [26]. A positive screening test (O’Sullivan test) was followed by an oral glucose tolerance test (OGTT) with 100 g of glucose, assessing 0 h, 1 h, 2 h, and 3 h glycemia. If  $\geq 2$  values were higher than the cut-off value at any time of

the OGTT (glycemia cut-off points: 0 h > 95 mg/dL, 1 h > 180 mg/dL, 2 h > 155 mg/dL, and 3 h > 140 mg/dL), the diagnosis of GDM was established. These criteria have been previously validated in the Spanish population [27].

#### 2.2.3. Assessment of BMI

BMI was calculated from the weight (in kg) and height (in m) measurements registered in the routine visit of the first trimester of pregnancy. According to BMI, the women were classified as normal (<25), overweight (25–30), and obese (>30), following the World Health Organization's classification [28].

#### 2.2.4. Assessment of Covariates

In the first-trimester control visit, medical history and physical evaluation were completed, collecting sociodemographic and pregnancy-related data, including maternal age (in years), smoking habit, hypothyroidism, ethnicity, weight (in kg), height (in m), parity, and previous history of cesarean section.

In the second trimester, coinciding with the 20-week ultrasound examination, a survey was filled out (St. Carlos Study questionnaire) to assess physical activity, nutritional habits, and lifestyle, presented as scores. This questionnaire is based on the American Diabetes Association (ADA) evidence-based nutrition recommendations, adapted to the Spanish population following the Diabetes Nutrition and Complications Trial (DNCT), and it has been validated in our population [29,30]. The routine second trimester blood test included: C-reactive protein (CRP) (in mg/dL), ferritin (in mg/dL), total cholesterol (in mg/dL), HDL cholesterol (in mg/dL), LDL cholesterol (in mg/dL), triglycerides (in mg/dL), fibrinogen (in mg/dL), hemoglobin (in g/dL), and hematocrit (in %).

After the delivery, all of the other variables studied were collected: gestational hypothyroidism, preterm birth, preeclampsia, birth by cesarean section, newborn admission to the intensive care unit (ICU), and newborn weight, height, and head circumference percentiles (based on Spanish growth charts).

### 2.3. Statistical Analysis

A descriptive analysis explored the distribution of the study variables, with frequency calculations for categorical variables and mean and standard deviations for continuous variables. A pairwise methodology was employed for missing data management. For the sociodemographic variables, the 95% confidence intervals were calculated with the Wilson method for proportions and the asymptotic method for continuous variables. Factors associated with GDM and VDD were analyzed with contingency tables. The qualitative variables were compared using the chi-square test, and Student's *t*-test was used for quantitative variables.

To estimate the magnitude of associations with GDM, crude and adjusted Poisson regression models with robust variance were developed, and the prevalence ratio (PR) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated. The predicted variables were selected following a stepwise regression method, and the best-adjusted model was based on the Akaike Information Criterion. The level of statistical significance was considered at a *p*-value of <0.05 for the primary endpoint and <0.025 for the secondary endpoint, with Bonferroni adjustments for two variables.

All analyses were performed using IBM SPSS v.26 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) and the free software environment for statistical computing and graphics R v.4.0.2 [31].

## 3. Results

### 3.1. Characteristics of the Study Participants

In the study period, a total of 923 pregnant women were eligible for inclusion. Thirty-seven were excluded, for an entire sample of 886, although serum 25(OH)D levels were only obtained for 881. In Table 1, the participants' characteristics are described in relation to GDM.

**Table 1.** Participants' characteristics in relation to gestational diabetes mellitus (GDM).

Characteristics	Entire Sample	Non-GDM ( <i>n</i> = 793, 89.5%)	GDM ( <i>n</i> = 93, 10.5%)	<i>p</i> -Value
<b>Sociodemographic characteristics</b>				
Age (years), mean (SD)	32.0 (5.8)	31.7 (5.7)	34.2 (5.7)	<0.001 *
Questionnaire (St. Carlos Study), <i>n</i> (%)				
Physical activity	−0.7 (1.4)	−0.7 (1.4)	−0.8 (1.3)	0.942
Nutritional status	3.9 (3.7)	3.8 (3.7)	4.0 (3.6)	0.813
Lifestyle	3.1 (4.2)	3.2 (3.9)	3.2 (3.9)	0.758
Maternal smoking habit, <i>n</i> (%)	91 (10.3)	79 (10.0)	12 (12.9)	0.377
Maternal hypothyroidism, <i>n</i> (%)	48 (5.4)	40 (5.0)	8 (8.6)	0.152
Ethnicity, <i>n</i> (%)				0.045 *
Caucasian	766 (86.7)	692 (87.6)	74 (80.6)	
South American	62 (7.0)	54 (6.8)	8 (8.6)	
Other	55 (6.2)	44 (5.6)	11 (11.8)	
<b>Pregnancy-related characteristics</b>				
SAP, first trimester (mmHg), mean (SD)	110.8 (11.7)	110.2 (11.5)	116.4 (12.0)	<0.001 *
DAP, first trimester (mmHg), mean (SD)	68.8 (8.8)	68.3 (8.6)	73.0 (9.7)	<0.001 *
VDD, <i>n</i> (%)	489 (55.5)	429 (54.1)	60 (68.2)	0.012 *
BMI, <i>n</i> (%)	24.8 (4.8)	24.5 (4.5)	27.5 (5.9)	0.021 *
BMI group, <i>n</i> (%)				<0.001 *
Normal (<25)	532 (60.4)	491 (62.3)	41 (44.1)	
Overweight (25–30)	234 (26.6)	212 (26.9)	22 (23.7)	
Obesity (>30)	115 (13.0)	85 (10.8)	30 (32.2)	
Parity, <i>n</i> (%)				0.464
Primigravida	446 (50.3)	402 (50.7)	44 (47.3)	
2 pregnancies	332 (37.5)	298 (37.6)	34 (36.6)	
≥3 pregnancies	108 (12.2)	93 (11.7)	15 (16.1)	
History of cesarean section, <i>n</i> (%)	98 (11.1)	85 (10.5)	13 (14.0)	0.345
Gestational hypothyroidism, <i>n</i> (%)	195 (22.0)	175 (22.1)	20 (21.5)	0.901
<b>Blood test, mean (SD)</b>				
Vitamin D (ng/dL)	19.3 (8.9)	19.5 (8.9)	17.2 (8.6)	0.021 *
C-reactive protein (mg/dL)	5.7 (5.8)	5.7 (6.0)	6.2 (4.0)	0.005 *
Ferritin (mg/dL)	24.6 (25.5)	24.3 (25.8)	26.7 (21.7)	0.249
Cholesterol (mg/dL)	224.3 (38.7)	223.7 (38.8)	229.5 (37.4)	0.084
HDL cholesterol (mg/dL)	75.8 (15.3)	76.3 (15.2)	72.1 (15.7)	0.034 *
LDL cholesterol (mg/dL)	114.1 (32.5)	113.5 (32.0)	119.7 (36.1)	0.197
Triglycerides (mg/dL)	177.2 (68.1)	172.2 (62.4)	220.5 (95.3)	<0.001 *
Fibrinogen (mg/dL)	397.8 (56.3)	394.5 (54.6)	425.5 (62.3)	<0.001 *
Hemoglobin (g/dL)	11.6 (0.9)	11.6 (0.9)	11.6 (0.8)	0.747
Hematocrit (%)	34.2 (2.5)	34.2 (2.5)	34.2 (2.4)	0.597

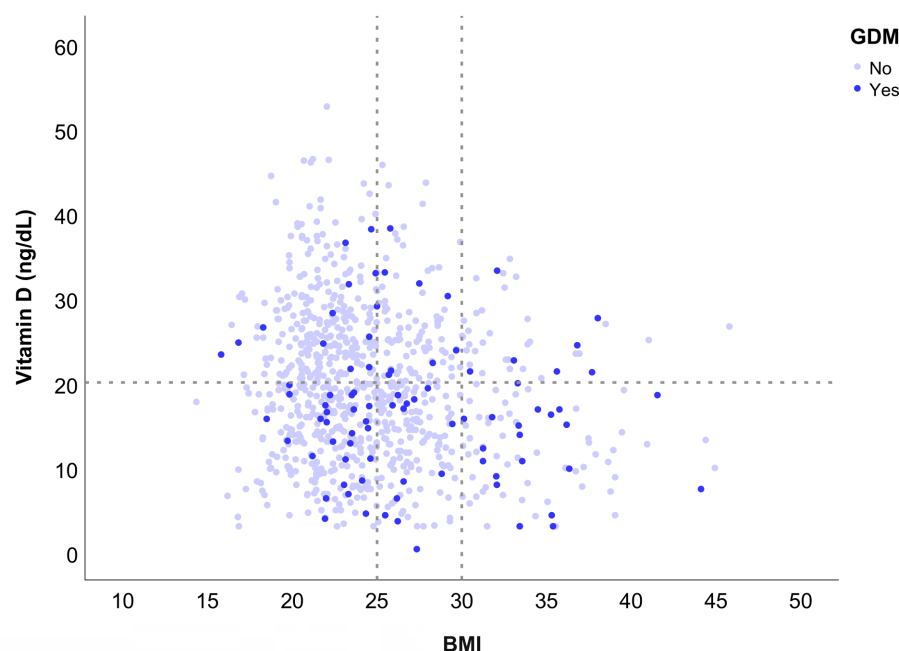
\* *p* < 0.05. Abbreviations: GDM, gestational diabetes mellitus; VDD, vitamin D deficiency; SAP, systolic arterial pressure; DAP, diastolic arterial pressure; BMI, body mass index.

Among the study participants, the number of women with GDM accounted for 10.5% (95%CI = 8.6–12.7). The mean serum 25(OH)D concentration of the entire sample was 19.3 (8.9) ng/mL (95%CI = 18.7–19.9). In total, 55.5% (95%CI = 51.9–58.4) of the pregnant women presented with VDD. The mean age was 32.0 (5.8) years (95%CI = 31.6–32.4), and the mean BMI value was 24.8 (4.8) (95%CI = 24.5–25.1). The distribution of BMI into groups resulted in 60.4% normal weight (95%CI = 56.8–63.2), followed by 26.6% overweight (95% CI = 23.6–29.4) and 13.0% (95%CI = 10.9–15.4) obese. A maternal smoking habit was present in 10.3% (95% CI = 8.4–12.4) of the entire sample. Caucasian ethnicity represented 86.7% (95%CI = 84.0–88.6). Primigravida accounted for 50.3% (95%CI = 47.1–53.6), two pregnancies for 37.5% (95%CI = 34.3–40.7), and three or more pregnancies for 12.2% (95%CI = 10.2–14.5) of the sample. A previous cesarean section was found in 11.1% (95%CI = 9.2–13.3) of the participants.

Figure 1 depicts the distribution of the individual values of 25(OH)D, in relation to BMI, highlighting women with GDM. Horizontal dotted lines represent the limit for considering VDD, and vertical lines represent limits for the BMI groups. There was a



high density of women with VDD and GDM, with a lower density of overweight or obese women with GDM.



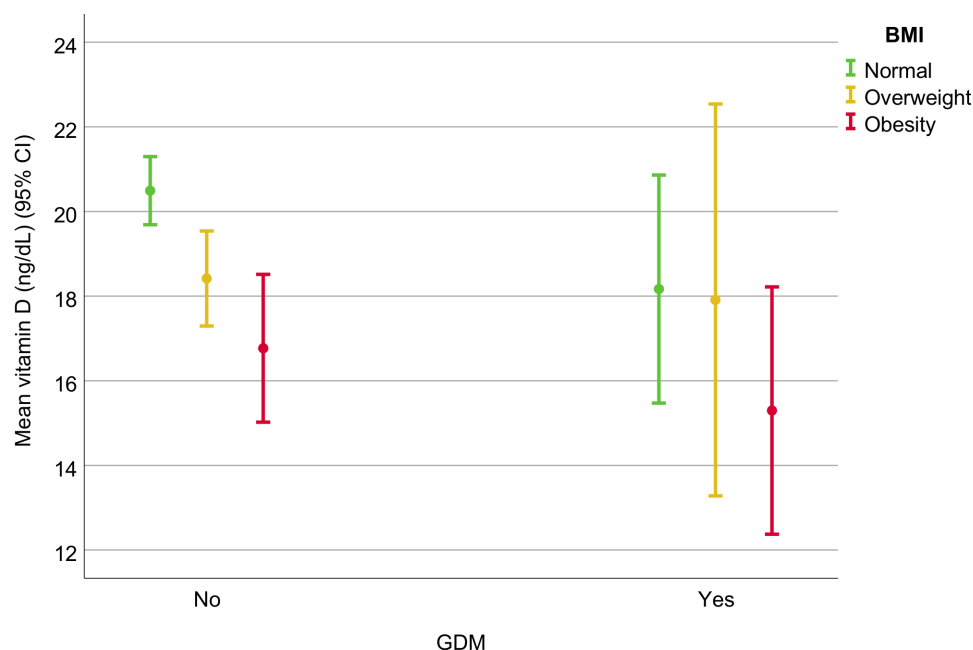
**Figure 1.** Individual vitamin D serum level distribution across the entire sample, in relation to BMI and GDM (the horizontal dotted line represents the threshold for VDD as <20 ng/dL, while the vertical dotted lines represent the limits of the BMI groups: Normal weight <25, overweight 25–30, and obesity >30).

In the univariate analysis (Table 1), the participants were compared according to the presence of GDM. The GDM group showed lower mean values for 25(OH)D ( $p = 0.021$ ) and a higher prevalence for VDD (68.2% vs. 54.1%,  $p = 0.012$ ). In addition, in the comparison of continuous variables, those pregnancies with GDM presented significantly older ages ( $p < 0.001$ ), higher BMIs ( $p < 0.001$ ), higher levels of SAP ( $p < 0.001$ ) and DAP ( $p < 0.001$ ) in the first trimester, lower levels of HDL cholesterol ( $p = 0.034$ ), and higher levels of triglycerides ( $p < 0.001$ ), C-reactive protein ( $p = 0.005$ ), and fibrinogen ( $p < 0.001$ ). In the qualitative analysis, the frequency of ethnicity was different, with Caucasians being more frequent in the non-GDM group ( $p = 0.045$ ). In accordance with BMI, significant differences were observed, and the proportion of obese women was much higher in the GDM group (32.2% vs. 10.8%,  $p < 0.001$ ). No significant differences were detected in the remaining variables.

Figure 2 represents the mean serum 25(OH)D levels in relation to the BMI group, grouped by the presence of GDM. In the absence of GDM, the 25(OH)D levels were significantly lower in the obesity group (CI95%, 15.2–18.5) than in the normal-weight group (CI95%, 19.6–21.3,  $p < 0.001$ ). The trend was similar in the presence of GDM, although not achieving statistical significance ( $p = 0.376$ ).

### 3.2. Assessment of the Association between VDD and GDM: Relationship with BMI

An association study between VDD and GDM was performed by multivariate analysis, using Poisson regression-adjusted models with robust variance. The prevalence ratio (PR) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated (Table 2).



**Figure 2.** Mean vitamin D serum levels in relation to BMI and grouped by the presence of GDM. Error bars represent the mean and 95% confidence intervals.

**Table 2.** Association study. Prevalence ratio for GDM, estimated by Poisson regression models.

		Crude Model			Model 1			Model 2			Adjusted Model (AIC)		
		PR	95%CI	p-Value	PR	95%CI	p-Value	PR	95%CI	p-Value	PR	95%CI	p-Value
VDD:	No	1			1			1			1		
	Yes	1.718	(1.119–2.637)	0.013 *	1.567	(1.016–2.417)	0.042 *	1.660	(1.042–2.645)	0.033 *	1.635	(1.027–2.604)	0.038 *
BMI:	Normal	1			1			1			1		
	Overweight	1.220	(0.744–2.001)	0.431	1.137	(0.680–1.899)	0.625	0.724	(0.404–1.299)	0.279	NS		
	Obesity	3.385	(2.212–5.181)	<0.001 *	2.992	(1.907–4.694)	<0.001 *	1.395	(0.788–2.469)	0.253	NS		
Ethnicity:	Caucasian	1			-			-			NS		
	South American	1.336	(0.675–2.642)	0.406	-			NS			NS		
	Other	2.070	(1.169–3.665)	0.013 *	-			NS			NS		
Parity:	Primigravida	1			-			-			-		
	2 pregnancies	1.038	(0.679–1.587)	0.863	-			NS			NS		
	≥3 pregnancies	1.408	(0.815–2.433)	0.220	-			NS			NS		
Previous cesarean section		1.305	(0.755–2.256)	0.340	-			NS			NS		
Gestational hypothyroidism		0.971	(0.608–1.551)	0.901	-			NS			NS		
Age		1.078	(1.035–1.122)	<0.001 *	-			1.062	(1.020–1.104)	0.003 *	1.064	(1.022–1.107)	0.003 *
Triglycerides		1.005	(1.004–1.007)	<0.001 *	-			1.003	(1.001–1.005)	0.002 *	1.003	(1.002–1.005)	<0.001 *
Fibrinogen		1.008	(1.005–1.011)	<0.001 *	-			1.006	(1.002–1.009)	0.001 *	1.005	(1.002–1.009)	<0.001 *
SAP		1.042	(1.025–1.060)	<0.001 *	-			1.027	(1.009–1.045)	0.003 *	1.031	(1.013–1.049)	<0.001 *
DAP		1.055	(1.032–1.079)	<0.001 *	-			NS			NS		
CRP		1.013	(0.994–1.032)	0.193	-			NS			NS		
Ferritin		1.003	(0.998–1.007)	0.285	-			NS			NS		
Cholesterol		1.003	(0.999–1.008)	0.160	-			NS			NS		
HDL		0.984	(0.970–0.997)	0.019 *	-			NS			NS		
LDL		1.005	(0.998–1.012)	0.133	-			NS			NS		
Questionnaire:	Physical activity	0.990	(0.858–1.142)	0.889	-			NS			NS		
	Nutritional habit	1.008	(0.951–1.069)	0.778	-			NS			NS		
	Lifestyle	1.005	(0.958–1.055)	0.827	-			NS			NS		
Hemoglobin		1.046	(0.837–1.308)	0.692	-			NS			NS		
Hematocrit		1.010	(0.939–1.087)	0.793	-			NS			NS		
Maternal smoking habit		1.294	(0.735–2.280)	0.372	-			NS			NS		
Maternal hypothyroidism		1.643	(0.846–3.192)	0.143	-			NS			NS		

\*  $p < 0.05$ . Abbreviations: PR, prevalence ratio; CI, confidence interval; NS, non-significant; BMI, body mass index; VDD, vitamin D deficiency; SAP, systolic arterial pressure; DAP, diastolic arterial pressure; CRP, C-reactive protein. Model 1: Fitted exclusively with VDD and BMI. Model 2: Further adjusted with age, triglycerides, fibrinogen, and SAP. Adjusted model: Constructed following a stepwise regression methodology based on the Akaike Information Criterion.

In the crude model, VDD was significantly associated with an increased prevalence of GDM (95%CI = 1.119–2.637;  $p = 0.013$ ). Obesity was also associated with GDM (95%CI = 2.212–5.181;  $p < 0.001$ ), but not solely overweight (95%CI = 0.744–2.001;  $p = 0.431$ ). The other variables associated with GDM were older age (95%CI = 1.035–1.122;  $p < 0.001$ ) and higher levels of triglycerides (95%CI = 1.004–1.007;  $p < 0.001$ ), fibrinogen (95%CI = 1.005–1.011;  $p < 0.001$ ), SAP (95%CI = 1.025–1.060;  $p < 0.001$ ), and DAP (95%CI = 1.032–1.079;  $p < 0.001$ ) in the first trimester and lower levels of HDL cholesterol (95%CI = 0.970–0.997;  $p = 0.019$ ). Other ethnicities compared to Caucasian were also associated with GDM (95%CI = 1.169–3.665;  $p = 0.013$ ).

There was no association with any of the other variables analyzed, noting the absence of an association with maternal variables such as smoking habit, history of hypothyroidism, or score in the physical activity, nutritional habits, or lifestyle items in the questionnaire.

In Model 1, which included exclusively VDD and BMI as an explanatory model of independent variables, both variables were significant. The prevalence ratio for VDD was 1.567 (95%CI = 1.016–2.417,  $p = 0.042$ ), while for obesity, it was 2.992 (95%CI = 1.907–4.694;  $p < 0.001$ ).

In Model 2, adjusted for all significant variables, the obese group lost its statistical significance. When fitted by age ( $p = 0.003$ ), triglycerides ( $p = 0.002$ ), fibrinogen ( $p = 0.001$ ), and SAP in the first trimester ( $p = 0.003$ ), the effect of obesity on GDM prevalence disappeared (PR = 1.395; 95%CI = 0.788–2.469,  $p = 0.253$ ), while VDD maintained its significant association with GDM (PR = 1.660; 95%CI = 1.042–2.645;  $p = 0.033$ ).

For construction of the adjusted model (AIC), a stepwise regression method was used, and variable selection was based on the Akaike Information Criterion. The presence of VDD was associated with a 1.6-fold increased risk of GDM (PR = 1.635; 95%CI = 1.027–2.604;  $p = 0.038$ ) when adjusted by age ( $p = 0.003$ ), triglycerides ( $p < 0.001$ ), fibrinogen ( $p < 0.001$ ), and SAP in the first trimester ( $p < 0.001$ ).

This finding means that both VDD and obesity are associated with an increased prevalence for GDM, but once adjusted by other variables, only VDD retained its significant association with GDM.

### 3.3. Assessment of Secondary Obstetric and Neonatal Events: Association with VDD and BMI

Secondary obstetric and neonatal events were analyzed in relation to VDD and BMI (Table 3). In the case of VDD, there were no differences in event occurrence, apart from the increased percentage of GDM (12.3% vs. 7.1%;  $p = 0.012$ ). With regard to BMI, GDM prevalence was much higher in the obese (26.1%) group, compared to the overweight (9.4%) and normal weight (7.7%) groups ( $p < 0.001$ ). Overweight pregnant women presented a higher proportion of preterm births compared to normal weight and obese women, although this did not reach statistical significance. An increment in the frequency of births by cesarean section and newborns with a weight percentile >90 was observed as BMI increased. The proportion of cases with a head circumference percentile >90 was also higher but did not achieve statistical significance.

**Table 3.** Secondary maternal and neonatal events: Associations with VDD and BMI.

	VDD		<i>p</i> -Value	BMI Group			<i>p</i> -Value
	No	Yes		Normal	Overweight	Obese	
GDM	28 (7.1)	60 (12.3)	0.012 *	41 (7.7)	22 (9.4)	30 (26.1)	<0.001 *
Preterm birth	23 (5.9)	20 (4.1)	0.224	23 (4.3)	18 (7.7)	2 (1.7)	0.034
Preeclampsia	10 (2.6)	13 (2.7)	0.921	11 (2.1)	6 (2.6)	6 (5.2)	0.158
Cesarean section	79 (20.3)	90 (18.6)	0.534	86 (16.3)	52 (22.5)	31 (27.4)	0.009 *
Neonatal ICU admission	79 (21.3)	99 (21.2)	0.961	106 (21.0)	42 (18.8)	32 (28.6)	0.115
Weight percentile			0.054				<0.001 *
<10	35 (8.9)	29 (5.9)		44 (8.3)	9 (3.8)	10 (8.7)	
10–90	312 (79.6)	377 (77.1)		424 (79.7)	188 (80.3)	75 (65.2)	
>90	30 (7.7)	59 (12.1)		39 (7.3)	27 (11.5)	25 (21.7)	
Missing	15 (3.8)	24 (4.9)		25 (4.7)	10 (4.3)	5 (4.3)	
Height percentile			0.068				0.078
<10	32 (8.2)	21 (4.3)		34 (6.4)	10 (4.3)	9 (7.8)	
10–90	272 (69.4)	349 (71.4)		386 (72.6)	164 (70.1)	69 (60.0)	
>90	71 (18.1)	88 (18.0)		85 (16.0)	44 (18.8)	31 (27.0)	
Missing	17 (4.3)	31 (6.3)		27 (5.1)	16 (6.8)	6 (5.2)	
Head circumference percentile			0.465				0.039
<10	31 (7.9)	43 (8.8)		50 (9.4)	12 (5.1)	12 (10.4)	
10–90	322 (82.1)	388 (79.3)		431 (81.0)	192 (82.1)	84 (73.0)	
>90	21 (5.4)	24 (4.9)		23 (4.3)	12 (5.1)	12 (10.4)	
Missing	18 (4.6)	34 (7.0)		28 (5.3)	18 (7.7)	7 (6.1)	

\*  $p < 0.025$ . Abbreviations: GDM, gestational diabetes mellitus; VDD, vitamin D deficiency; ICU, intensive care unit.

#### 4. Discussion

Our results revealed that there was a high frequency of VDD in the pregnant women of our region (55.5%). In our daily work, between five and six pregnant women will present this condition. This finding is consistent with previously reported data [5,6].

The prevalence of GDM in our department is similar to the Spanish pregnant women's population [16]. Roughly, 1 in 10 pregnancies receives this diagnosis, which becomes a relevant health problem.

In this study, we found that there were higher levels of VDD (68.2% vs. 54.1%) and obesity (32.2% vs 10.8%) in GDM pregnant women. In the multivariate analysis, we found a statistically significant PR of 1.635 for GDM when VDD was present. This association was not dependent on BMI. These outcomes are in line with recently reported results in the Taiwanese population, which revealed a nonlinear relationship between the 25(OH)D plasma levels and the risk of GDM [32]. The relationship between VDD and BMI and the potential effect of BMI has recently been explored in the Chinese population. A correlation has been described, being stronger in the overweight and obese groups [33].

As opposed to other studies [9,25], we did not detect VDD being associated with an increased frequency of secondary events, apart from GDM (12.3% vs. 7.1%). There were no differences in the frequencies of preterm birth, preeclampsia, and neonatal admission to ICU, or in the distribution of neonatal measurement percentiles. We ignored whether calcidiol supplementation in our VDD pregnant women could have influenced the incidence of these secondary events. Moreover, the observed frequencies of secondary events in our study were lower than those reported, except for GDM. Thus, there is a possibility that the differences were not detected.

However, we found differences in secondary events with regard to the BMI group. A nonsignificant higher frequency of preterm births was observed in the overweight group, but not in the obese group. These results differ from those of previous studies [34,35]. We propose that we did not find any association in obese women due to the small size of this subgroup and the low expected incidence. Both births by cesarean section and a neonatal weight percentile >90 were more prevalent in the obese group, but we did not detect any difference in neonatal ICU admissions as compared to the others [35].

The link between VDD and GDM enables us to focus on a population for which to take action. We suggest further longitudinal studies to establish any relation of causality. This could lead to intervention with vitamin D supplementation and a potential influence on GDM incidence, thereby potentially preventing future disorders such as diabetes mellitus and metabolic syndrome.

Some limitations should be recognized. First, due to the regional nature of this study, our results might not be generalizable. Additional studies are necessary to corroborate our findings in other locations around the world. Second, an important limitation of our investigation was its cross-sectional nature, which precluded a causality analysis. With this experimental design, the fact that GDM modifies 25(OH)D serum levels and all other data cannot be excluded. Another limitation could be the lockdown in Spain that started in March 2020 due to the COVID-19 pandemic. This special situation may have impacted the prevalence of VDD, since the major source of vitamin D for children and adults is exposure to natural sunlight. Thus, a major cause of VDD is inadequate exposure to sunlight [36]. The lockdown might have reduced sun exposure in the pregnant women population of our region. However, since this was not a variable in our study, it has not been analyzed. Finally, calcidiol supplementation in VDD participants, from the 26th week of pregnancy, could have biased the incidence of secondary maternal and neonatal events. Following national recommendation guidelines, it was considered unethical not to supplement with calcidiol, once a VDD pregnant woman had been identified. Nevertheless, it is uncertain if the administered doses achieved the normalization of the 25(OH)D serum concentration, as no further analyses were performed.

## 5. Conclusions

Our results revealed an association between VDD and GDM, which was independent of BMI. This relationship may indicate a possible influence of 25(OH)D in GDM development. However, further longitudinal studies are needed to establish causality.

VDD was not related to secondary events, in opposition to the BMI group, which showed a higher proportion of births by cesarean section and a neonatal weight percentile >90 in obesity.

**Author Contributions:** Conceptualization, N.A.-D., M.J.G.-T. and E.C.-C.; methodology, N.A.-D., M.J.G.-T., V.G.-G. and J.A.Q.-R.; formal analysis, N.A.-D. and J.A.Q.-R.; investigation, N.A.-D., S.J., A.S. and J.B.; resources, V.G.-G. and A.P.-E.; data curation, N.A.-D. and J.A.Q.-R.; writing—original draft preparation, N.A.-D.; writing—review and editing, J.A.Q.-R., A.P.-E., V.G.-G. and E.C.-C.; supervision, M.J.G.-T. and V.G.-G.; funding acquisition, N.A.-D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was partially funded by Fundación Navarro Tripodi. The APC received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** This study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Review Board of Hospital General Universitario Elda (protocol code VITD and date of approval: 17 June 2019).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in this study.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Acknowledgments:** The authors thank all of the pregnant women included in this study. They acknowledge the doctors and midwives in the Department of Gynaecology and Obstetrics in the Hospital General Universitario Elda, with special mention to the High-Risk Pregnancies Clinic personnel (Guadalupe Díaz-García). The authors also recognize the Laboratory Department for their collaboration. Finally, they appreciate the help of Eduardo Bernabeu and Antonio García-Valentín in the writing, editing, and reviewing of this manuscript.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analysis, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

## References

1. Holick, M. Vitamin D Deficiency. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *357*, 266–281. [[CrossRef](#)]
2. Palacios, C.; Gonzalez, L. Is Vitamin D Deficiency a Major Global Public Health? *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2014**, *144 Pt A*, 138. [[CrossRef](#)]
3. Pilz, S.; März, W.; Cashman, K.D.; Kiely, M.E.; Whiting, S.J.; Holick, M.F.; Grant, W.B.; Pludowski, P.; Hilgsmann, M.; Trummer, C.; et al. Rationale and Plan for Vitamin D Food Fortification: A Review and Guidance Paper. *Front. Endocrinol.* **2018**, *9*, 373. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Hilger, J.; Friedel, A.; Herr, R.; Rausch, T.; Roos, F.; Wahl, D.A.; Pierroz, D.D.; Weber, P.; Hoffmann, K.; Hoffmann, D.K. Systematic Review a Systematic Review of Vitamin D Status in Populations Worldwide. *Br. J. Nutr.* **2021**, *111*, 23–45. [[CrossRef](#)]
5. Cashman, K.D.; Dowling, K.G.; Škrabáková, Z.; Gonzalez-Gross, M.; Valtueña, J.; de Henauw, S.; Moreno, L.; Damsgaard, C.T.; Michaelsen, K.F.; Mølgaard, C.; et al. Vitamin D Deficiency in Europe: Pandemic? *Am. J. Clin. Nutr.* **2016**, *103*, 1033. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Quesada-Gómez, J.; Diaz-Curiel, M.; Sosa-Henriquez, M.; Malouf-Sierra, J.; Nogues-Solan, X.; Gomez-Alonso, C.; Rodriguez-Mañas, L.; Neyro-Bilbao, J.; Cortes, X.; Delgadillo, J. Low Calcium Intake and Inadequate Vitamin D Status in Postmenopausal Osteoporotic Women. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2013**, *136*, 175–177. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Mata-Granados, J.; Luque de Castro, M.; Quesada Gomez, J. Inappropriate Serum Levels of Retinol, Alpha-Tocopherol, 25 Hydroxyvitamin D3 and 24,25 Dihydroxyvitamin D3 Levels in Healthy Spanish Adults: Simultaneous Assessment by HPLC. *Clin. Biochem.* **2008**, *41*, 676–680. [[CrossRef](#)]
8. Saraf, R.; Morton, S.; Camargo, C.; Grant, C. Global Summary of Maternal and Newborn Vitamin D Status—A Systematic Review. *Matern. Child Nutr.* **2016**, *12*, 647–668. [[CrossRef](#)]
9. Palacios, C.; Kostiuik, L.K.; Peña-Rosas, J.P. Vitamin D Supplementation for Women during Pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2019**, *7*, CD008873. [[CrossRef](#)]
10. Zhang, Y.; Gong, Y.; Xue, H.; Xiong, J.; Cheng, G. Vitamin D and Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review Based on Data Free of Hawthorne Effect. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **2018**, *125*, 784–793. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

11. Urrutia, R.; Thorp, J. Vitamin D in Pregnancy: Current Concepts. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* **2012**, *24*, 57–64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Bellamy, L.; Casas, J.; Hingorani, A.; Williams, D. Type 2 Diabetes Mellitus after Gestational Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Lancet Lond. Engl.* **2009**, *373*, 1773–1779. [[CrossRef](#)]
13. Nikooyeh, B.; Neyestani, T. Oxidative Stress, Type 2 Diabetes and Vitamin D: Past, Present and Future. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2016**, *32*, 260–267. [[CrossRef](#)]
14. Wimalawansa, S. Associations of Vitamin D with Insulin Resistance, Obesity, Type 2 Diabetes, and Metabolic Syndrome. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2018**, *175*, 177–189. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Srikanthan, K.; Feyh, A.; Visweshwar, H.; Shapiro, J.; Sodhi, K. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *Int. J. Med Sci.* **2016**, *13*, 25–38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Ben-Haroush, A.; Yogev, Y.; Hod, M. Epidemiology of Gestational Diabetes Mellitus and Its Association with Type 2 Diabetes. *Diabet. Med. A J. Br. Diabet. Assoc.* **2004**, *21*, 103–113. [[CrossRef](#)]
17. Yang, Z.; Phung, H.; Freebairn, L.; Sexton, R.; Raulli, A.; Kelly, P. Contribution of Maternal Overweight and Obesity to the Occurrence of Adverse Pregnancy Outcomes. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* **2019**, *59*, 367–374. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Emmen, J.M.A.; Wielders, J.P.M.; Boer, A.K.; van den Ouweland, J.M.W.; Vader, H.L. The New Roche Vitamin D Total Assay: Fit for Its Purpose? *Clin. Chem. Lab. Med.* **2012**, *50*, 1969–1972. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Leino, A.; Turpeinen, U.; Koskinen, P. Automated Measurement of 25-OH Vitamin D3 on the Roche Modular E170 Analyzer. *Clin. Chem.* **2008**, *54*, 2059–2062. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Knudsen, C.S.; Nexø, E.; Højskov, C.S.; Heickendorff, L. Analytical Validation of the Roche 25-OH Vitamin D Total Assay. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2012**, *50*, 1965–1968. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Iglesias Álvarez, E.M.; Granada Ybern, M.L.; Doladé Botías, M.; Barallat Martínez de Osaba, J.; Hidalgo Sáez, I.; Cruz Pastor Ferrer, M. Comparación de Las Concentraciones de Vitamina D Por 3 Métodos Comerciales. *Rev. Lab. Clínico* **2013**, *6*, 2–9. [[CrossRef](#)]
22. VDSCP List of Certified Participants | CDC. Available online: [https://www.cdc.gov/labstandards/vdscp\\_participants.html](https://www.cdc.gov/labstandards/vdscp_participants.html) (accessed on 22 November 2021).
23. Gómez de Tejada Romero, M.; Sosa Henríquez, M.; del Pino Montes, J.; Jodar Gimeno, E.; Quesada Gómez, J.; Canelo Hidalgo, M.; Diaz Curiel, M.; Mesa Ramos, M.; Muñoz Torres, M.; Carpintero Benítez, P.; et al. Documento de Posición Sobre Las Necesidades y Niveles Óptimos de Vitamina D Sociedad Española de Investigación Ósea y Del Metabolismo Mineral (SEIOMM) y Sociedades Afines. *Rev. Osteoporos. Y Metab. Miner.* **2011**, *3*, 53–64.
24. Carpenter, M.; Coustan, D. Criteria for Screening Tests for Gestational Diabetes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1982**, *144*, 768–773. [[CrossRef](#)]
25. Metzger, B.; Coustan, D. Summary and Recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. *Diabetes Care* **1998**, *21* (Suppl. 2), B161–B167. [[PubMed](#)]
26. Bloomgarden, Z. American Diabetes Association 60th Scientific Sessions, 2000: Diabetes and Pregnancy. *Diabetes Care* **2000**, *23*, 1699–1702. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Corcoy, R.; Lumberras, B.; Bartha, J.L.; Ricart, W. Embarazo Nuevos Criterios Diagnósticos de Diabetes Mellitus Gestacional a Partir Del Estudio HAPO. ¿Son Válidos En Nuestro Medio? *Av. Diabetol.* **2010**, *26*, 139–142. [[CrossRef](#)]
28. World Health Organization. WHO Consultation on Obesity (1999: Geneva, Switzerland). In *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic*; Report of a WHO Consultation; World Health Organization Technical Report Series; WHO: Geneva, Switzerland, 2000; Volume 894.
29. The Diabetes and Nutrition Study Group of the Spanish Diabetes Association. Diabetes Nutrition and Complications Trial. *Diabetes Care* **2004**, *27*, 984–987. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Durán, A.; Martín, P.; Runkle, I.; Pérez, N.; Abad, R.; Fernández, M.; del Valle, L.; Sanz, M.; Calle-Pascual, A. Benefits of Self-Monitoring Blood Glucose in the Management of New-Onset Type 2 Diabetes Mellitus: The St Carlos Study, a Prospective Randomized Clinic-Based Interventional Study with Parallel Groups. *J. Diabetes* **2010**, *2*, 203–211. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. R: The R Project for Statistical Computing. Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 1 November 2021).
32. Pham, T.T.M.; Huang, Y.-L.; Chao, J.C.-J.; Chang, J.-S.; Chen, Y.-C.; Wang, F.-F.; Bai, C.-H. Plasma 25(OH)D Concentrations and Gestational Diabetes Mellitus among Pregnant Women in Taiwan. *Nutrients* **2021**, *13*, 2538. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Shao, B.; Mo, M.; Xin, X.; Jiang, W.; Wu, J.; Huang, M.; Wang, S.; Muyiduli, X.; Si, S.; Shen, Y.; et al. The Interaction between Prepregnancy BMI and Gestational Vitamin D Deficiency on the Risk of Gestational Diabetes Mellitus Subtypes with Elevated Fasting Blood Glucose. *Clin. Nutr. Edinb. Scotl.* **2020**, *39*, 2265–2273. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Liu, B.; Xu, G.; Sun, Y.; Du, Y.; Gao, R.; Snetselaar, L.G.; Santillan, M.K.; Bao, W. Association between Maternal Pre-Pregnancy Obesity and Preterm Birth According to Maternal Age and Race or Ethnicity: A Population-Based Study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **2019**, *7*, 707–714. [[CrossRef](#)]
35. Liu, P.; Xu, L.; Wang, Y.; Zhang, Y.; Du, Y.; Sun, Y.; Wang, Z. Association between Perinatal Outcomes and Maternal Pre-Pregnancy Body Mass Index. *Obes Rev.* **2016**, *17*, 1091–1102. [[CrossRef](#)]
36. Nair, R.; Maseeh, A. Vitamin D: The “sunshine” vitamin. *J. Pharmacol. Pharmacother.* **2012**, *3*, 118–126. [[PubMed](#)]

## Article

# Influence of Strict Lockdown on Vitamin D Deficiency in Pregnant Women: A Word of Caution

Nuria Agüero-Domenech <sup>1,2</sup>, Eduardo Bernabeu <sup>3,4,\*</sup> , Antonio García-Valentín <sup>3</sup> , Ana Sarrión <sup>1</sup>, Silvia Jover <sup>1</sup>, Javier Baranda <sup>1</sup>, Ernesto Cortés-Castell <sup>5</sup> , Vicente Gil-Guillén <sup>6</sup> and María J. García-Teruel <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Gynaecology and Obstetrics, Hospital General Universitario Elda, 03600 Elda, Spain; nuria.aguero@umh.es (N.A.-D.); sarrion\_ana@gva.es (A.S.); jover\_sil@gva.es (S.J.); baranda\_jav@gva.es (J.B.); garcia\_mjter@gva.es (M.J.G.-T.)

<sup>2</sup> Department of Public Health, History of Science and Gynaecology, Miguel Hernández University, 03550 San Juan, Spain

<sup>3</sup> Department of Cardiac Surgery, Hospital General Universitario Dr. Balmis, 03010 Alicante, Spain; antonio@garciavalentin.es

<sup>4</sup> ISABIAL (“Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante”), 03010 Alicante, Spain

<sup>5</sup> Department of Pharmacology, Pediatrics and Organic Chemistry, Miguel Hernández University, 03550 San Juan, Spain; ernesto.cortes@umh.es

<sup>6</sup> Department of Clinical Medicine, Miguel Hernández University, 03550 San Juan, Spain; vgil@umh.es

\* Correspondence: eduardobernabeu@gva.es

**Abstract:** The main source of vitamin D results from skin sunlight exposure. Vitamin D deficiency (VDD) is linked to several adverse events during pregnancy. While performing a cross-sectional study with 886 pregnant women in Elda (Spain) from September 2019 to July 2020 to determine the association of VDD with gestational diabetes mellitus in relation to body mass index, a strict lockdown (SL) due to the COVID-19 pandemic was declared from 15 March 2020 to 15 May 2020. To determine if VDD prevalence in the local population of pregnant women was influenced by SL, a retrospective cross-sectional study was conducted to estimate the prevalence odds ratio (POR) for the association of VDD and SL. A crude logistic regression model was calculated, and then further adjusted by the biweekly measured vitamin D-specific UVB dose in our geographical area. The POR during SL was 4.0 (95%CI = 2.7–5.7), with a VDD prevalence of 77.8% in the quarantine period. Our results revealed that VDD prevalence in pregnant women was influenced by SL. This valuable information could guide us in future if public officials order the population to stay indoors for any given reason.

**Keywords:** quarantine; 25(OH)D concentration; vitamin D deficiency; irradiation; pregnant women



**Citation:** Agüero-Domenech, N.; Bernabeu, E.; García-Valentín, A.; Sarrión, A.; Jover, S.; Baranda, J.; Cortés-Castell, E.; Gil-Guillén, V.; García-Teruel, M.J. Influence of Strict Lockdown on Vitamin D Deficiency in Pregnant Women: A Word of Caution. *Nutrients* **2023**, *15*, 1972. <https://doi.org/10.3390/nu15081972>

Academic Editor: Jürgen Harreiter

Received: 25 March 2023

Revised: 14 April 2023

Accepted: 18 April 2023

Published: 19 April 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

The main source of vitamin D is a result of the skin receiving a UVB portion of sunlight exposure. The amount of UVB radiation depends on several variables, such as solar zenith angle, latitude, season, and time of day [1–3]. There have been several studies that have explored the relationship between UVB radiation exposure and serum 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) concentrations in humans [4–6]. Recently, it has been described that there are significant seasonal and regional differences in UVB radiation across Europe, which can have an impact on vitamin D production in the human body. Furthermore, monthly differences in cumulative and weighted UVB radiation, which take into account factors such as latitude, altitude, and cloud cover, are significantly correlated with changes in mean 25(OH)D levels in different populations [7].

In adults, vitamin D deficiency (VDD) is defined as a 25(OH)D serum level below 20 ng/mL, and vitamin D insufficiency as a level between 20 and 30 ng/mL [8]. One of the primary causes of VDD is inadequate exposure to sunlight [9]. VDD has been observed in all ages, genders, and regions, including in the sunny Mediterranean regions [10]. In

Europe, the reported prevalence of VDD in pregnancies is as high as 57% [11], but there is no agreement on the necessity of assessing 25(OH)D and the requirement for supplementation during pregnancy [12].

VDD has been associated with several adverse outcomes in pregnancy, such as pre-eclampsia, gestational diabetes mellitus (GDM), preterm birth, and caesarean delivery [12–14]. Rostami M. et al. reported the efficacy of a prenatal screening programme to improve 25(OH)D levels in pregnancy, and found a remarkable reduction in adverse pregnancy outcomes in women who were screened and supplemented with vitamin D [15,16].

The COVID-19 pandemic required governments around the world to adopt special measures to control social interaction. Recently, the effects of COVID-19 home confinement have been observed in relation to eating behaviour and physical activity [17]. In Spain, a strict lockdown (SL) was declared, with the population being confined at home, therefore influencing their exposition to sunlight. While investigating the relationship between VDD and GDM in a population of pregnant women, a proportion of them suffered as a result of the SL. This circumstance gave us the opportunity to describe how this enforced confinement influenced VDD prevalence. To adjust for 25(OH)D levels by sunlight irradiation in our study participants, we gathered the data of the vitamin D-specific UVB (D-UVB) dose received in the geographical area during the same period as the study [7].

The main objective of this research was to establish whether the prevalence of VDD in pregnant women was influenced by SL in Spain.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Population

A single-centre, population-based, observational, cross-sectional, and analytical study was carried out from September 2019 to August 2020 to investigate the relationship between VDD and GDM in relation to body mass index (BMI). Inclusion criteria and sampling were previously described. The project was approved by the Institutional Review Board of the Hospital General Universitario de Elda, and all subjects gave informed consent prior to inclusion [18].

Due to the COVID-19 pandemic and imposed measures by the Spanish Government, a significant cohort of participants experienced a strict lockdown in their geographical area (from 15 March 2020 to 15 May 2020). Therefore, we performed an additional analysis in a retrospective fashion to describe the impact of quarantine on the prevalence of VDD in the pregnant women population.

### 2.2. Data Collection

Data were collected over a period of 10 months using anonymised data forms, on a retrospective and prospective basis, depending on the variable. To complete the said retrospective study, two new variables were defined: Strict Lockdown (SL) group and vitamin D-specific UVB (D-UVB) dose.

#### 2.2.1. Evaluation of Vitamin D Levels

Blood was sampled during the second trimester routine visit, in conjunction with a screening test for GDM. The serum 25(OH)D concentration was measured by an electrochemiluminescent automated binding assay (Modular Analytics E170 and Elecsys Vitamin D Total II, Roche Diagnostics, GmbH (Manheim, Germany)), with a measuring range from 3 to 70 ng/mL. This assay has been previously validated by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC/MS/MS), and has been accredited by the Vitamin D Standardisation and Certification Program (VDSCP) of the CDC [19–23]. VDD was established as a serum concentration <20 ng/mL [8,24].

#### 2.2.2. Covariate Assessment

At the first trimester follow-up visit, a medical history and physical assessment were completed, and socio-demographic and pregnancy-related data were collected, such as



maternal age (in years), smoking, hypothyroidism, ethnicity, weight (in kg), height (in m), parity, and history of caesarean section.

In the second trimester, coinciding with the 20-week ultrasound, a survey (San Carlos Study questionnaire) was completed to assess physical activity, nutritional habits, and lifestyle, presented in the form of scores. This questionnaire is based on the evidence-based nutritional recommendations of the American Diabetes Association (ADA), adapted to the Spanish population following the Diabetes Nutrition and Complications Trial (DNCT), and has been validated in our population [25,26]. Routine second trimester blood tests included the following: C-reactive protein (CRP) (in mg/dL), ferritin (in mg/dL), total cholesterol (in mg/dL), HDL cholesterol (in mg/dL), LDL cholesterol (in mg/dL), triglycerides (in mg/dL), fibrinogen (in mg/dL), haemoglobin (in g/dL), and haematocrit (in %).

BMI was calculated from weight (in kg) and height (in m) registered at the first trimester visit of pregnancy. On the basis of BMI, women were grouped as normal (<25), overweight (25–30), and obese (>30), following the World Health Organization's classification.

### 2.2.3. Definition of Strict Lockdown (SL) Group

All participants whose blood samples for vitamin D levels were taken from 15 March 2020 to 15 May 2020 were categorised as the SL group. The rest of the participants were categorised as the non-Strict Lockdown group (NSL).

According to the Spanish Government decree, a lockdown was imposed on 14 March 2020. It was announced that, as of the following day, all non-essential workers were required to stay at home for the next 14 days. This situation was extended consecutively until 15 May 2020. Citizens were not allowed to leave their homes, except in the case of essential workers, and for the purchase of foodstuffs and basic goods.

### 2.2.4. Assessment of Vitamin D-Specific UVB Dose in Study Geographical Area

The Tropospheric Emission Monitoring Internet Service (TEMIS) is part of the European Space Agency (ESA) Data User Programme. The TEMIS project generates datasets of several key information items, and provides access to them free of charge via the internet ([www.temis.nl/uvradiation/UVdose.html](http://www.temis.nl/uvradiation/UVdose.html) (accessed on 10 February 2023); version 2.0) [27]. D-UVB is the effective UV irradiance (expressed in kJ/m<sup>2</sup>) reaching the Earth's surface integrated over the course of the day, and was calculated by considering the UVB radiation dose at the wavelengths that can induce cutaneous vitamin D production (290–315 nm) [7]. This database has been already used in the past and is described in detail elsewhere [28,29].

The daily D-UVB doses were obtained for all three geographical coordinates available in the TEMIS database, corresponding to our study area, from 16 September 2019 to 15 August 2020 ([1]: latitude 38.375 and longitude −0.875; [2]: latitude 38.375 and longitude −0.620; [3]: latitude 38.625 and longitude −0.875), and the daily average of all of them was used for calculations. A cloud-modified dataset was used to account for the effects of clouds in the D-UVB radiation measurements. For each fortnight in the study, the average D-UVB dose was calculated. All participants were assigned a dose based on the fortnightly period in which the 25(OH)D assessment was performed.

## 2.3. Statistical Analysis

A descriptive analysis examined the distribution of the studied variables, with frequency calculations for qualitative variables, and means and standard deviations for continuous variables. A pairwise methodology was used for the management of missing data. For socio-demographic variables, 95% confidence intervals were calculated using Wilson's method for proportions and the asymptotic method for continuous variables. Contingency tables were used to evaluate the factors associated with SL and VDD. Qualitative variables were compared using the chi-square test, and for quantitative variables the Student's *t*-test was used.

A cross-sectional study was conducted to estimate the prevalence odds ratio (POR) for the association of VDD and SL in our pregnant women population. To control the influence

of seasonal variations in sunlight irradiation, the logistic regression model was adjusted by the biweekly measured D-UVB dose in our geographical area. Covariates were explored as confounding factors and multivariate analyses were performed to determine the simplest explicative model.

The analyses were all carried out with STATA 14 (StatCorp LLC, College Station, TX, USA) and IBM SPSS v.26 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). The figures were plotted using Microsoft Excel for Mac (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA).

### 3. Results

#### 3.1. Characteristics of the Study Participants

A full sample of 886 participants were included in the study period, but serum 25(OH)D levels were only obtained from 881 of them. Table 1 describes the characteristics of the participants in relation to their strict lockdown status. Roughly, 1 in 5 pregnant women experienced the strict lockdown (19%).

**Table 1.** Participants' characteristics in relation to "Strict Lockdown" status (SL).

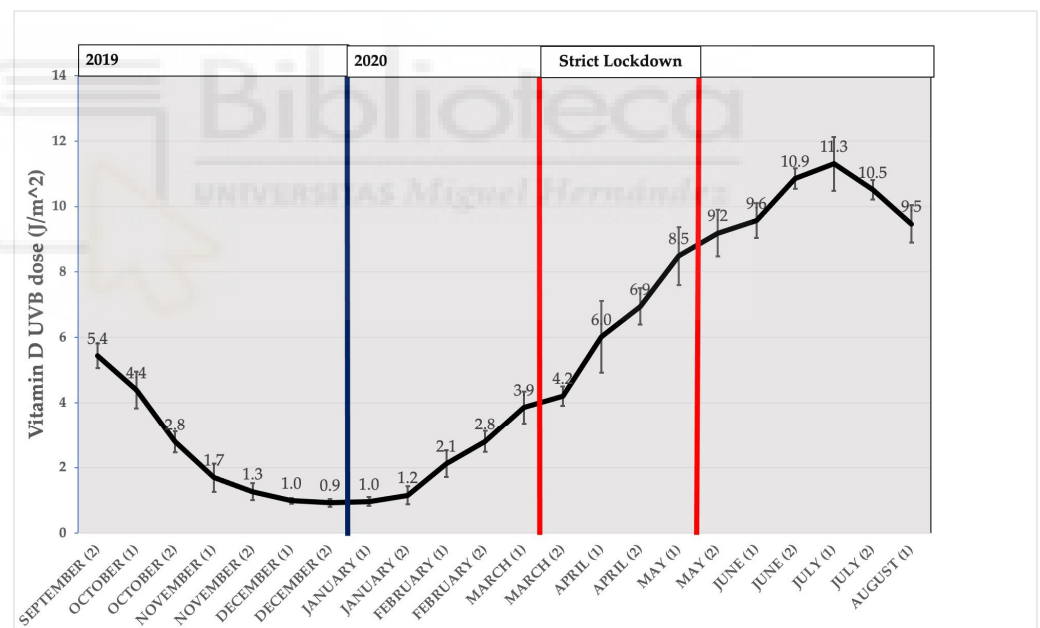
Characteristics	Non-Strict Lockdown (n = 715, 80.7%)	Strict Lockdown (n = 171, 19.3%)	p-Value
<b>Sociodemographic characteristics</b>			
Age (years), mean (SD)	32.0 (5.8)	31.7 (5.6)	0.48
Questionnaire (St. Carlos Study), mean (SD)			
Physical activity	−0.7 (1.4)	−0.8 (1.4)	0.26
Nutritional status	4.1 (3.6)	3.2 (3.9)	0.02 *
Lifestyle	3.3 (4.1)	2.3 (4.4)	<0.01 *
Maternal smoking habit, n (%)	79 (11.0)	12 (7.0)	0.12
Maternal hypothyroidism, n (%)	158 (22.1)	37 (21.6)	0.90
Ethnicity, n (%)			0.12
Caucasian	626 (87.7)	140 (82.8)	
South American	44 (6.2)	18 (10.7)	
Other	44 (6.2)	11 (6.5)	
<b>Pregnancy-related characteristics</b>			
SAP, first trimester (mmHg), mean (SD)	110.6 (11.7)	111.7 (11.6)	0.28
DAP, first trimester (mmHg), mean (SD)	68.8 (9.1)	68.7 (7.8)	0.78
VDD, n (%)	356 (50.1)	133 (77.8)	<0.01 *
GDM, n (%)	73 (10.2)	20 (11.7)	0.57
BMI, mean (SD)	24.7 (4.7)	25.2 (4.8)	0.25
BMI group, n (%)			0.12
Normal (<25)	441 (62.0)	91 (53.5)	
Overweight (25–30)	180 (25.3)	54 (31.8)	
Obesity (>30)	90 (12.7)	25 (14.7)	
Parity, n (%)			0.84
Primigravida	360 (50.3)	86 (50.3)	
2 pregnancies	270 (37.8)	62 (36.3)	
≥3 pregnancies	85 (11.9)	23 (13.5)	
History of caesarean section, n (%)	77 (10.8)	21 (12.4)	0.55
Gestational hypothyroidism, n (%)	158 (22.0)	37 (21.6)	0.90
<b>Blood test, mean (SD)</b>			
Vitamin D (ng/mL)	20.5 (8.9)	14.2 (6.7)	<0.01 *
C-reactive protein (mg/dL)	5.8 (6.1)	5.3 (4.9)	0.22
Ferritin (mg/dL)	24.6 (25.3)	24.5 (26.4)	0.96
Cholesterol (mg/dL)	223.4 (37.4)	228.4 (43.4)	0.18
HDL cholesterol (mg/dL)	76.0 (15.1)	75.0 (15.9)	0.44
LDL cholesterol (mg/dL)	113.8 (32.0)	115.5 (34.6)	0.58
Triglycerides (mg/dL)	173.4 (63.7)	193.5 (82.5)	<0.01 *
Fibrinogen (mg/dL)	399.5 (56.2)	391.1 (56.1)	0.09
Haemoglobin (g/dL)	11.6 (0.9)	11.6 (0.8)	0.64
Haematocrit (%)	34.1 (2.5)	34.4 (2.7)	0.23

\*  $p < 0.05$ . Abbreviations: VDD, vitamin D deficiency; GDM, gestational diabetes mellitus; SAP, systolic arterial pressure; DAP, diastolic arterial pressure; BMI, body mass index.

In the univariate analysis (Table 1), the participants were compared according to SL status. The SL group showed lower mean values for 25(OH)D (14.2 ng/mL vs. 20.5 ng/mL,  $p < 0.01$ ) and a higher prevalence of VDD (77.8% vs. 50.1%,  $p < 0.01$ ) compared to the NSL group. In addition, in the comparison of continuous variables, pregnant women in the SL group presented higher levels of triglycerides (193.5 mg/dL vs. 173.4 mg/dL,  $p < 0.01$ ), and lower scores in the nutritional (4.1 vs. 3.2,  $p < 0.05$ ) and lifestyle (3.3 vs. 2.3,  $p < 0.01$ ) aspects of the St. Carlos Study questionnaire. In the qualitative analysis, there were no significant differences in other variables, including prevalence of GDM or distribution by BMI groups.

### 3.2. Distribution of Measured VD-UV Dose in Our Geographical Area

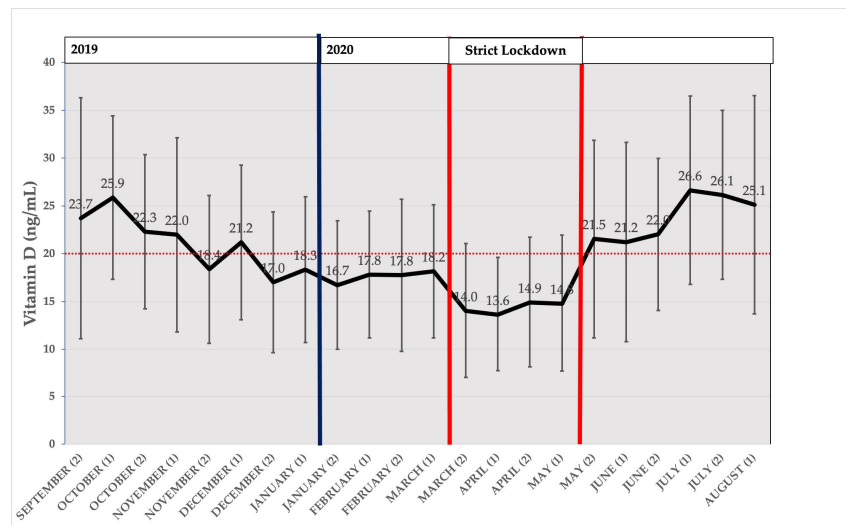
Figure 1 represents the distribution of mean biweekly D-UVB dose in our geographical area, as an average of three observation locations measured and reported in the cloud-modified TEMIS database, from mid-September 2019 to mid-August 2020. There was a decrease in the D-UVB dose by the end of the year, with the lowest point being reached in the second fortnight of December 2019, followed by a progressive increase in the D-UVB dose, reaching a peak by July 2020. “Vitamin D winter” has been defined as the threshold of D-UVB dose below which ( $<1 \text{ kJ/m}^2$ ) vitamin D synthesis is negligible [7,30]. In the area of our study, this would correspond to the period from December to mid-January (lasting  $<2$  months).



**Figure 1.** Distribution of vitamin D UVB dose ( $\text{J/m}^2$ ) by fortnight from September 2019 to August 2020, summarised as the mean of the days in each fortnight. Bars represent 95%CI. Dark blue bold vertical line represents the beginning of year 2020. Red bold vertical lines represent the beginning and the end of strict lockdown.

### 3.3. Seasonal Distribution of Average Measured Vitamin D

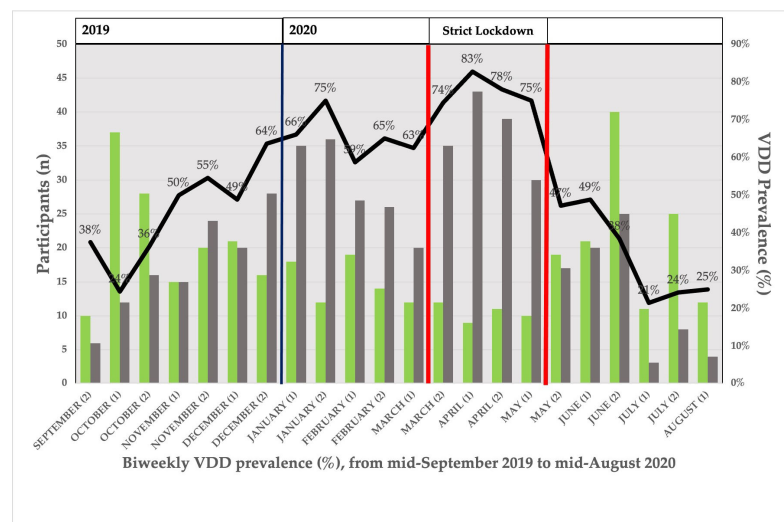
Figure 2 represents the distribution of the biweekly means of the 25(OH)D of all participants. While the distribution of means followed a seasonal pattern from September 2019 to mid-March 2020, there was a drop during the SL period (between red lines). After the quarantine ended, 25(OH)D levels returned to those expected. Mean 25(OH)D levels were lower in the strict lockdown period, even compared to those in “vitamin D winter”.



**Figure 2.** Distribution of vitamin D Levels (ng/mL) by fortnight from mid-September 2019 to mid-August 2020, expressed as mean 25(OH)D (in ng/mL) of all participants by biweekly intervals. Bars represent 95%CI. Dark blue vertical line represents the beginning of year 2020. Red bold vertical lines represent the beginning and the end of strict lockdown. The horizontal red dotted line represents the threshold for VDD diagnosis (20 ng/mL).

### 3.4. Seasonal Distribution of VDD Prevalence

Figure 3 represents the distribution of VDD prevalence across the study period. The prevalence followed a seasonal pattern. Predictably, VDD prevalence increased with decreasing UVB irradiance. This prevalence was at its highest in relation to the “vitamin D winter”. With an increase in UVB irradiation, the prevalence gradually decreased. Nevertheless, the occurrence of a strict lockdown period between 15 March 2020 and 15 May 2020 was followed by a second increase in the prevalence of VDD. VDD peaked at 83% in the first half of April 2020. The prevalence of VDD in April 2020 exceeded that achieved in the expected “vitamin D winter” period, with a second “vitamin D winter”-like period appearing.



**Figure 3.** Distribution of VDD prevalence by fortnight from mid-September 2019 to mid-August 2020, expressed as percentage of participants with VDD by biweekly intervals (solid black line). Bars represent participants with 25(OH)D >20 ng/mL (green bar) or <20 ng/mL (grey bar) in each biweekly period. Dark blue vertical line represents the beginning of year 2020. Red bold vertical lines represent the beginning and the end of strict lockdown.

### 3.5. Regression Analysis of 25(OH)D Levels and D-UVB Dose in Relation to SL Status

To understand the relation of 25(OH)D levels with D-UVB dose, we performed a regression analysis and explored the impact of SL status. This analysis yielded the following coefficients: constant = 11.6 ( $p < 0.01$ ), [D-UVB] dose = 0.4 ( $p < 0.01$ ), and [SL] = −6.9 ( $p < 0.01$ ).

The regression equation was

$$25(\text{OH})\text{D (ng/mL)} = 18.5 - 6.9 \times [\text{SL}] + 0.4 \times [\text{D-UVB}] \text{ (in J/m}^2\text{)} \quad (1)$$

SL group: [SL] = 1, and NSL group: [SL] = 0

This result means that 25(OH)D levels were, on average, 6.9 ng/mL higher in the NSL group compared to the SL group ( $p < 0.01$ ).

### 3.6. Cross-Sectional Study: Assessment of the Association of VDD and SL

For an overall of 881 valid observations (99.4%), the prevalence of VDD was 55.5% (95%CI = 52.2–58.4%). In the SL cohort, the VDD prevalence was 77.8% (95%CI = 71.0–83.3%), while it was only 50.1% in the NSL cohort (95%CI = 46.5%–53.8%) (Table 1), with a prevalence odds ratio (POR) of 3.5 (95%CI = 2.4–5.1,  $p < 0.01$ ) (Table 2).

**Table 2.** Association study. Prevalence odds ratio for VDD, estimated by crude and adjusted logistic regression models.

		Crude Model			Adjusted Model		
		POR	95%CI	p-Value	POR	95%CI	p-Value
Strict Lockdown:	No	1			1		
	Yes	3.5	(2.4–5.1)	<0.01 *	4.0	(2.7–5.7)	<0.01 *
D-UVB dose:					0.9	(0.9–0.9)	<0.01 *

\*  $p < 0.05$ . Abbreviations: POR, prevalence odds ratio; CI, confidence interval; VDD, vitamin D deficiency; D-UVB, vitamin D ultraviolet B dose.

### 3.7. Binary Logistic Model of VDD in Relation to SL Adjusted by Measured D-UVB Dose

The crude binary logistic model was further adjusted by D-UVB exposition to exclude seasonal bias (Table 2). All participants were assigned the D-UVB dose of the fortnight when the 25(OH)D levels were sampled. Once adjusted by biweekly means of the real measurements of D-UVB dose in our geographical area, the POR for SL rose to 4.0 (95%CI = 2.7–5.7) and the POR for the D-UVB dose was 0.9 (95%CI = 0.9–0.9). The rest of the covariates were explored as confounding factors in multivariate models, but no significant modification of the VDD POR or improvement in the precision of the confidence interval were obtained, with the bivariate model being most parsimonious.

The equation for the adjusted regression model, representing the probability of VDD, was as follows:

$$P(\text{VDD}) = \frac{1}{1 + e^{-(1.53 + 4.01 \times [\text{SL}] + 0.91 \times [\text{D-UVB}] \text{ (in J/m}^2\text{)})}} \quad (2)$$

SL group: [SL] = 1, and NSL group: [SL] = 0

This finding means that the VDD prevalence in participating pregnant women was significantly influenced by SL. This observation was independent of the D-UVB dose measured in our geographical area. Due to the cross-sectional nature of the study, causality analysis is not permitted.

## 4. Discussion

As far as we know, this research is the first to explore the changes in 25(OH)D levels in pregnant women due to confinement related to the COVID-19 pandemic.

The results showed that there was a high frequency of VDD among pregnant women in our region (55.5%), which is consistent with previous reports [31,32]. This VDD prevalence was greatly influenced by the quarantine, with a significant increase in the SL group (77.8%), as a consequence of the decreased exposure to sunlight due to the in-house confinement in this cohort of participants. Half of the pregnant women in our study area have a vitamin D deficiency. Although these data are comparable to other studies, they are nevertheless important from a public health point of view. Our data describe a concerning reality that should be addressed.

25(OH)D is the preferred serum marker to assess vitamin D status, and it has a half-life of 15 days [33]. To adjust for seasonal irradiation, we included in our model an “environmental” variable, the D-UVB dose in biweekly intervals. It is accepted that vitamin D cutaneous synthesis is influenced by geographical latitude [6]. In fact, the term “vitamin D winter” was employed to describe the fact that exposure to winter sunlight in Boston (42.2° N) and Edmonton (52° N) will not promote vitamin D<sub>3</sub> synthesis in human skin from November through to February (Boston) and from October through to March (Edmonton) [34]. A comprehensive analysis of seasonal and geographical variation in D-UVB in Europe has been recently published [7]. This D-UVB variation has been previously connected with 25(OH)D levels in Europe [30]. “Vitamin D winter” has been defined as the threshold of D-UVB dose below which (<1 kJ/m<sup>2</sup>) vitamin D synthesis is negligible [7,30]. In the southeast of Spain, the “vitamin D winter” ranged from December 2019 to mid-January 2020. According to the study by Khanna et al., despite the relatively moderate latitudinal range in Europe (35–64° N), large seasonal and regional variations in UVB radiation that can influence vitamin D production (D-UVB) were reported throughout the European continent. Winter vitamin D was <2 months in low European latitudes (and >7 months in high European latitudes). In our study, “vitamin D winter” ranged from December 2019 to mid-January 2020, which is consistent with the observations in low European latitudes (“vitamin D winter” lasting <2 months).

Our results revealed a decoupling of D-UVB dose and 25(OH)D levels during SL. While D-UVB doses ranged from 4.2 kJ/m<sup>2</sup> to 8.5 kJ/m<sup>2</sup> during in-house confinement period, 25(OH)D mean levels were lower than in real “vitamin D winter” (D-UVB <1 kJ/m<sup>2</sup>). The prevalence of VDD increased during strict confinement with respect to the “vitamin D winter”, even though ultraviolet B irradiation was at least four times higher. We could say that strict confinement produced a second “vitamin D winter” in the pregnant women in our study in an artificial way.

The skeletal muscle has been recently involved in vitamin D maintenance during “vitamin D winter”. Since no clear storage organ or tissue has been identified for vitamin D, it has been suggested that appropriate vitamin D status in winter can only be obtained by oral supplements. It has recently been shown that the main circulating metabolite of vitamin D, 25(OH)D, accumulates in skeletal muscle cells, which could constitute a functional reserve during the winter months [35]. We found no difference in BMI in relation to SL status. However, muscularity ranges widely, even at any specific level of BMI [36]. Skeletal muscle composition was not measured in the study participants; therefore, we cannot assess the role of this in the results that were obtained.

In addition to skin production, vitamin D-enriched diets and supplementation are also relevant sources of vitamin D. Access to food and medication was not significantly restricted during home confinement, and no special measures were taken to supplement the participants.

No other variables were significantly different in relation to SL, including GDM prevalence, BMI, and BMI group. Only triglycerides were significantly higher in the SL group, and nutritional and lifestyle items scored worst in the survey. In the adjusted logistic regression models, they did not significantly influence the POR for VDD. These results might be consistent with the confinement status. It is probable that some effects of lockdown, either behavioural or biological, may take longer to be apparent than others.

In the resulting adjusted binary regression model, SL was the most important factor explaining the abrupt increase in VDD prevalence. There were no other factors influencing these results (GDM, BMI group, or ethnicity). Therefore, in the case of a similar situation, an increase in the prevalence of VDD must be anticipated irrespective of these conditions.

In contrast to our finding, a study that included all outpatients older than 18 years old in a regional hospital in Verona (Italy) reported a similar prevalence of VDD during and after the lockdown period compared to the previous two years [37]. The pregnant women population of Elda (Spain) had a higher prevalence of VDD in the pre-lockdown period than those described in the study from Verona, but the result was similar to other maternal series [11,31,32]. The drop in 25(OH)D levels we found in SL has been described in Chinese children during home confinement due to the COVID-19 pandemic [38].

Some limitations should be recognised. Firstly, the results may not be generalisable due to the regionally based design of the study. Secondly, environmental data of the D-UVB dose in our area may not exactly reflect the individual solar exposure of participants. We employed TEMIS-ESA measured data as a surrogate of individual exposition [7,30]. Some studies stress the importance of individual UVB radiation measurement rather than assuming individual exposure [39]. This cross-sectional study did not take into account the amount or duration of sunlight exposure for each individual participant. The variations in sunlight exposure between the participants may have biased the results. In addition, finally, the current research was only based on a single determination of 25(OH)D levels, and did not consider any longitudinal changes in 25(OH)D levels. In a longitudinal study, the differences in vitamin D levels during pregnancy were reported, with a progressive increase in 25(OH)D levels during the pregnancy [40]. The cross-sectional design of the study prevents us from conducting a causality analysis.

A strength in our study is serendipity. We had the “unique opportunity” to evaluate the effect of a rare event, such as in-house confinement, in a group of participants [18]. For ethical reasons, this condition could not be experimentally reproduced in any way.

## 5. Conclusions

Our results revealed that VDD prevalence in pregnant women was influenced by SL. This valuable information could guide us in the future to take action, such as with vitamin D supplementation, in the case that public officials order the population to stay indoors for any given reason.

**Author Contributions:** Conceptualisation, N.A.-D., E.B., A.G.-V., M.J.G.-T. and E.C.-C.; methodology, N.A.-D., E.B. and A.G.-V.; formal analysis, N.A.-D., E.B. and A.G.-V.; investigation, N.A.-D., S.J., A.S. and J.B.; resources, V.G.-G. and M.J.G.-T.; data curation, N.A.-D. and E.B.; writing—original draft preparation, N.A.-D. and E.B.; writing—review and editing, A.G.-V., V.G.-G. and E.C.-C.; supervision, M.J.G.-T. and V.G.-G.; funding acquisition, N.A.-D., M.J.G.-T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was partially funded by Fundación Navarro Tripodi (2020). The APC was funded by FAES FARMA, S.A.

**Institutional Review Board Statement:** This study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Review Board of Hospital General Universitario Elda (protocol code VITD and date of approval: 17 June 2019).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in this study.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Acknowledgments:** The authors thank all the pregnant women included in this study. They acknowledge the doctors and midwives in the Department of Gynaecology and Obstetrics in the Hospital General Universitario Elda, extending a special mention to the High-Risk Pregnancies Clinic personnel (Guadalupe Díaz-García). The authors also recognise the Laboratory Department for their collaboration.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analysis, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

## References

1. DeLuca, H.F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *80*, 1689S–1696S. [CrossRef] [PubMed]
2. Adams, J.S.; Hewison, M. Update in Vitamin D. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2010**, *95*, 471–478. [CrossRef] [PubMed]
3. DeLuca, H.F. Vitamin D: Historical Overview. *Vitam. Horm.* **2016**, *100*, 1–20. [CrossRef] [PubMed]
4. Mendes, M.M.; Hart, K.H.; Williams, E.L.; Mendis, J.; Lanham-New, S.A.; Botelho, P.B. Vitamin D Supplementation and Sunlight Exposure on Serum Vitamin D Concentrations in 2 Parallel, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trials. *J. Nutr.* **2021**, *151*, 3137–3150. [CrossRef] [PubMed]
5. Shahriari, M.; Kerr, P.E.; Slade, K.; Grant-Kels, J.E. Vitamin D and the skin. *Clin. Dermatol.* **2010**, *28*, 663–668. [CrossRef]
6. Engelsens, O. The Relationship between Ultraviolet Radiation Exposure and Vitamin D Status. *Nutrients* **2010**, *2*, 482–495. [CrossRef]
7. Khanna, T.; Shraim, R.; Zarkovic, M.; van Weele, M.; van Geffen, J.; Zgaga, L. Comprehensive Analysis of Seasonal and Geographical Variation in UVB Radiation Relevant for Vitamin D Production in Europe. *Nutrients* **2022**, *14*, 5189. [CrossRef]
8. Holick, M.F. Vitamin D Deficiency. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *357*, 266–281. [CrossRef]
9. Nair, R.; Maseeh, A. Vitamin D: The “sunshine” vitamin. *J. Pharmacol. Pharmacother.* **2012**, *3*, 118–126. [CrossRef]
10. Mata-Granados, J.; de Castro, M.D.L.; Gomez, J.Q. Inappropriate serum levels of retinol,  $\alpha$ -tocopherol, 25 hydroxyvitamin D3 and 24,25 dihydroxyvitamin D3 levels in healthy Spanish adults: Simultaneous assessment by HPLC. *Clin. Biochem.* **2008**, *41*, 676–680. [CrossRef]
11. Saraf, R.; Morton, S.M.B.; Camargo, C.A., Jr.; Grant, C.C. Global summary of maternal and newborn vitamin D status—A systematic review. *Matern. Child Nutr.* **2016**, *12*, 647–668. [CrossRef]
12. Palacios, C.; Kostiuik, L.K.; Peña-Rosas, J.P. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2019**, *7*, CD008873. [CrossRef]
13. Zhang, Y.; Gong, Y.; Xue, H.; Xiong, J.; Cheng, G. Vitamin D and gestational diabetes mellitus: A systematic review based on data free of Hawthorne effect. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **2018**, *125*, 784–793. [CrossRef]
14. Urrutia, R.P.; Thorp, J.M. Vitamin D in pregnancy. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* **2012**, *24*, 57–64. [CrossRef]
15. Rostami, M.; Tehrani, F.R.; Simbar, M.; Bidhendi Yarandi, R.; Minooe, S.; Hollis, B.W.; Hosseinpanah, F. Effectiveness of Prenatal Vitamin D Deficiency Screening and Treatment Program: A Stratified Randomized Field Trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2018**, *103*, 2936–2948. [CrossRef]
16. Holick, M.F. A Call to Action: Pregnant Women In-Deed Require Vitamin D Supplementation for Better Health Outcomes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2019**, *104*, 13–15. [CrossRef] [PubMed]
17. Ammar, A.; Brach, M.; Trabelsi, K.; Chtourou, H.; Boukhris, O.; Masmoudi, L.; Bouaziz, B.; Bentlage, E.; How, D.; Ahmed, M.; et al. Effects of COVID-19 Home Confinement on Eating Behaviour and Physical Activity: Results of the ECLB-COVID19 International Online Survey. *Nutrients* **2020**, *12*, 1583. [CrossRef] [PubMed]
18. Agüero-Domenech, N.; Jover, S.; Sarrion, A.; Baranda, J.; Quesada-Rico, J.A.; Pereira-Expósito, A.; Gil-Guillén, V.; Cortés-Castell, E.; García-Teruel, M.J. Vitamin D Deficiency and Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Body Mass Index. *Nutrients* **2021**, *14*, 102. [CrossRef] [PubMed]
19. Emmen, J.M.; Wielders, J.P.; Boer, A.-K.; Ouweland, J.M.V.D.; Vader, H.L. The new Roche Vitamin D Total assay: Fit for its purpose? *Clin. Chem. Lab. Med.* **2012**, *50*, 1969–1972. [CrossRef] [PubMed]
20. Leino, A.; Turpeinen, U.; Koskinen, P. Automated Measurement of 25-OH Vitamin D3 on the Roche Modular E170 Analyzer. *Clin. Chem.* **2008**, *54*, 2059–2062. [CrossRef]
21. Knudsen, C.S.; Nexø, E.; Højskov, C.S.; Heickendorff, L. Analytical validation of the Roche 25-OH Vitamin D Total assay. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2012**, *50*, 1965–1968. [CrossRef] [PubMed]
22. Álvarez, E.M.I.; Ybern, M.L.G.; Botias, M.D.; De Osaba, J.B.M.; Sáez, I.H.; Ferrer, M.C.P. Comparación de las concentraciones de vitamina D por 3 métodos comerciales. *Rev. Lab. Clín.* **2013**, *6*, 2–9. [CrossRef]
23. VDSCP List of Certified Participants | CDC. Available online: [https://www.cdc.gov/labstandards/vdscp\\_participants.html](https://www.cdc.gov/labstandards/vdscp_participants.html) (accessed on 22 November 2021).
24. Gómez de Tejada Romero, M.; Sosa Henríquez, M.; del Pino Montes, J.; Jodar Gimeno, E.; Quesada Gómez, J.; Canelo Hidalgo, M.; Díaz Curiel, M.; Mesa Ramos, M.; Muñoz Torres, M.; Carpintero Benítez, P.; et al. Documento de Posición Sobre Las Necesidades y Niveles Óptimos de Vitamina D Sociedad Española de Investigación Ósea y Del Metabolismo Mineral (SEIOMM) y Sociedades Afines. *Rev. Osteoporos. Metab. Miner.* **2011**, *3*, 53–64.
25. Duran, A.; Martín, P.; Runkle, I.; Pérez, N.; Abad, R.; Fernández, M.; Del Valle, L.; Sanz, M.F.; Calle-Pascual, A.L. Benefits of self-monitoring blood glucose in the management of new-onset Type 2 diabetes mellitus: The St Carlos Study, a prospective randomized clinic-based interventional study with parallel groups. *J. Diabetes* **2010**, *2*, 203–211. [CrossRef] [PubMed]
26. The Diabetes and Nutrition Study Group of the Spanish Diabetes Association Diabetes Nutrition and Complications Trial. *Diabetes Care* **2004**, *27*, 984–987. [CrossRef]



27. Zempila, M.-M.; van Geffen, J.H.G.M.; Taylor, M.; Fountoulakis, I.; Koukouli, M.-E.; van Weele, M.; van der A, R.J.; Bais, A.; Meleti, C.; Balis, D. TEMIS UV product validation using NILU-UV ground-based measurements in Thessaloniki, Greece. *Atmos. Meas. Tech.* **2017**, *17*, 7157–7174. [[CrossRef](#)]
28. Kelly, D.; Theodoratou, E.; Farrington, S.; Fraser, R.; Campbell, H.; Dunlop, M.; Zgaga, L. The contributions of adjusted ambient ultraviolet B radiation at place of residence and other determinants to serum 25-hydroxyvitamin D concentrations. *Br. J. Dermatol.* **2015**, *174*, 1068–1078. [[CrossRef](#)]
29. O’sullivan, F.; Laird, E.; Kelly, D.; van Geffen, J.; van Weele, M.; McNulty, H.; Hoey, L.; Healy, M.; McCarroll, K.; Cunningham, C.; et al. Ambient UVB Dose and Sun Enjoyment Are Important Predictors of Vitamin D Status in an Older Population. *J. Nutr.* **2017**, *147*, 858–868. [[CrossRef](#)]
30. O’neill, C.M.; Kazantzidis, A.; Ryan, M.J.; Barber, N.; Sempos, C.T.; Durazo-Arvizu, R.A.; Jorde, R.; Grimnes, G.; Eiriksdottir, G.; Gudnason, V.; et al. Seasonal Changes in Vitamin D-Effective UVB Availability in Europe and Associations with Population Serum 25-Hydroxyvitamin D. *Nutrients* **2016**, *8*, 533. [[CrossRef](#)]
31. Cashman, K.D.; Dowling, K.G.; Škrabáková, Z.; Gonzalez-Gross, M.; Valtueña, J.; De Henauw, S.; Moreno, L.; Damsgaard, C.T.; Michaelsen, K.F.; Mølgaard, C.; et al. Vitamin D deficiency in Europe: Pandemic? *Am. J. Clin. Nutr.* **2016**, *103*, 1033–1044. [[CrossRef](#)]
32. Quesada-Gómez, J.M.; Diaz-Curiel, M.; Sosa-Henriquez, M.; Malouf-Sierra, J.; Nogues-Solan, X.; Gomez-Alonso, C.; Rodriguez-Mañas, L.; Neyro-Bilbao, J.L.; Cortes, X.; Delgadillo, J. Low calcium intake and inadequate vitamin D status in postmenopausal osteoporotic women. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2013**, *136*, 175–177. [[CrossRef](#)]
33. Werneke, U.; Gaughran, F.; Taylor, D.M. Vitamin D in the time of the coronavirus (COVID-19) pandemic—A clinical review from a public health and public mental health perspective. *Ther. Adv. Psychopharmacol.* **2021**, *11*, 1–27. [[CrossRef](#)]
34. Webb, A.R.; Kline, L.; Holick, M.F. Influence of Season and Latitude on the Cutaneous Synthesis of Vitamin D<sub>3</sub>: Exposure to Winter Sunlight in Boston and Edmonton Will Not Promote Vitamin D<sub>3</sub> Synthesis in Human Skin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1988**, *67*, 373–378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Mason, R.S.; Rybchyn, M.S.; Abboud, M.; Brennan-Speranza, T.C.; Fraser, D.R. The Role of Skeletal Muscle in Maintaining Vitamin D Status in Winter. *Curr. Dev. Nutr.* **2019**, *3*, nzz087. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Heymsfield, S.B.; Smith, B.; Chung, E.A.; Watts, K.L.; Gonzalez, M.C.; Yang, S.; Heo, M.; Thomas, D.M.; Turner, D.; Bosy-Westphal, A.; et al. Phenotypic differences between people varying in muscularity. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* **2022**, *13*, 1100–1112. [[CrossRef](#)]
37. Lippi, G.; Ferrari, A.; Targher, G. Is COVID-19 lockdown associated with vitamin D deficiency? *Eur. J. Public Health* **2021**, *31*, 278–279. [[CrossRef](#)]
38. Yu, L.; Ke, H.-J.; Che, D.; Luo, S.-L.; Guo, Y.; Wu, J.-L. Effect of Pandemic-Related Confinement on Vitamin D Status Among Children Aged 0–6 Years in Guangzhou, China: A Cross-Sectional Study. *Risk Manag. Healthc. Policy* **2020**, *13*, 2669–2675. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Mendes, M.M.; Hart, K.H.; Lanham-New, S.A.; Botelho, P.B. Exploring the Impact of Individual UVB Radiation Levels on Serum 25-Hydroxyvitamin D in Women Living in High Versus Low Latitudes: A Cross-Sectional Analysis from the D-SOL Study. *Nutrients* **2020**, *12*, 3805. [[CrossRef](#)]
40. Agudelo-Zapata, Y.; Maldonado-Acosta, L.M.; Sandoval-Alzate, H.F.; Poveda, N.E.; Garcés, M.F.; Cortés-Vásquez, J.A.; Linares-Vaca, A.F.; Mancera-Rodríguez, C.A.; Perea-Ariza, S.A.; Ramírez-Iriarte, K.Y.; et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels throughout pregnancy: A longitudinal study in healthy and preeclamptic pregnant women. *Endocr. Connect.* **2018**, *7*, 698–707. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



## **12.- AGRADECIMIENTOS.**

Esta Tesis Doctoral es fruto del más generoso regalo que se puede hacer...regalar tiempo.

Gracias a mi director de Tesis, Ernesto Cortés, por tu tiempo. Has estado desde el principio marcando el camino. Me aseguraste que encontraría muchas piedras y que no sería fácil, pero que con mucho esfuerzo llegaría al final.

Gracias a mi codirectora de Tesis, M<sup>a</sup> José García Teruel, por tu tiempo. Has conseguido abrir todas las puertas cerradas que tiene la investigación hospitalaria, resolviendo sin rendirte todas las dificultades que aparecieron. Sin ti, esta Tesis no hubiera podido realizarse.

Gracias a mi tutor de Tesis, Vicente Gil, por su tiempo. Vicente, siempre crees en las personas y eso infunde valor y confianza para intentarlo.

Gracias a mis compañeros del Hospital por su tiempo. Silvia Jover, Ana Sarrión y Javier Baranda siempre estáis para lo que os necesite y siempre aprendo de y con vosotros. Y a José Luis Coloma cuya optimista actitud vital es envidiable y contagiosa.

Gracias al Servicio de Análisis clínicos del Hospital de Elda por su tiempo. En especial al Dr. Maruan Shalabi y la Dra. Joaquina Díaz por su ayuda.

Gracias a Guadalupe Díaz García, TCAE de la consulta de Alto Riesgo Obstétrico por su tiempo. No existe una persona más eficiente en su trabajo, su contribución en este estudio asegura la robustez en la recogida de datos. Gracias, amiga.

Gracias a todas las embarazadas que participaron en el estudio por su tiempo. Todas se ofrecieron a participar sin objeciones y solo puedo agradeceréselo de corazón.

Gracias a Leire Carbonell Agüero por su tiempo. Qué emoción y qué lujo que una traductora con tu experiencia supervisara la traducción de los artículos desde California y qué fortuna que además seas mi prima.

Gracias a Eduardo Bernabeu y Emilia Sánchez por su tiempo. Pasar de hijo único a tres nietos y una nuera haciendo la tesis siempre es un desafío y lo habéis superado.

Gracias al Dr. Eduardo Bernabeu por su tiempo. Una de las decisiones más importantes de la vida es con quién la compartes y la otra es quién te ayuda a hacer “una tesis” y la respuesta ganadora siempre es tu nombre Edu.

Gracias a Marisa y Chus por su tiempo. “Cop de viure “en mi vida sólo tiene significado a vuestro lado. Marisa eres la raya de mi suma.

Gracias a Tomás Agüero y M<sup>a</sup> Luisa Doménech por su tiempo. Llegar hasta estas líneas es fruto de vuestra labor como padres. Te hubiera encantado celebrarlo papá. Mamá cuanta “amor propio” hay en tus genes.

Gracias a Eduardo Bernabeu, Tomás Bernabeu, Noa Bernabeu y Mauro Ramón por vuestro tiempo. Sois la vitamina más importante de mi vida, mi vitamina “+ TEN “.