UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO

# TRAJETÓRIA DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VITAMINA D AO LONGO DA GESTAÇÃO E SUA ASSOCIAÇÃO COM SINTOMAS DEPRESSIVOS

AMANDA CAROLINE CUNHA FIGUEIREDO

Rio de Janeiro

2017

**AMANDA CAROLINE CUNHA FIGUEIREDO**

# TRAJETÓRIA DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VITAMINA D AO LONGO DA GESTAÇÃO E SUA ASSOCIAÇÃO COM SINTOMAS DEPRESSIVOS

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito necessário para obtenção do título de **mestre em Nutrição Humana.**

**Orientador**: Prof. Gilberto Kac

**Coorientadora**: Prof.ª Maria Beatriz Trindade de Castro

**Rio de Janeiro | Fevereiro 2017**

Figueiredo, ACC

Trajetória das concentrações plasmáticas da vitamina D ao longo da gestação e sua associação com sintomas depressivos.
Amanda Caroline Cunha Figueiredo - Rio de Janeiro, 2017.
177f.

Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) - Universidade Federal do Rio de Janeiro - Instituto de Nutrição Josué de Castro. Programa de Pós-graduação em Nutrição, Rio de Janeiro, 2017.

Orientador: Gilberto Kac

1. Vitamina D 2. Depressão 3. Pais tropical 4. Coorte 5. Gestação. Dissertação. 1. Kac, Gilberto. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro. III. Titulo.

**AMANDA CAROLINE CUNHA FIGUEIREDO**

TRAJETÓRIA DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA VITAMINA D AO LONGO DA GESTAÇÃO E SUA ASSOCIAÇÃO COM SINTOMAS DEPRESSIVOS

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito necessário para obtenção do título de **mestre em Nutrição Humana.**

Aprovada em 21/02/2017

**BANCA EXAMINADORA**

**Professora Dra. Flávia Fioruci Bezerra**
Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição
**Examinador**

**Professor Dr. Egberto Gaspar de Moura**
Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes
**Examinador**

**Professora Marcia Soares da Mota e Silva Lopes**
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro
**Revisor e Examinador**

**Professor Dr. Gilberto Kac**
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro
**Orientador**

# DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a minha família, em especial aos meus pais Neuza Cunha e Adilson Figueiredo, por todo amor, apoio, incentivo, por me ensinarem os valores da vida e pelo esforço que tiveram para eu chegar até aqui.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todo amor e cuidado em todos os momentos da minha vida, por ser fiel, iluminar os meus passos e me permitir chegar até aqui.

Ao meu orientador e professor Gilberto Kac, pela confiança em mim depositada e também por todos os ensinamentos, competência, paciência e disponibilidade mesmo com tantos compromissos. A sua dedicação e exemplo profissional me estimularam ao longo do mestrado e contribuíram também para o meu amadurecimento e crescimento pessoal e profissional.

À minha coorientadora Maria Beatriz, por todo aprendizado e incentivo desde a iniciação cientifica, pela confiança, apoio e também contribuição para o meu crescimento pessoal e profissional.

À minha mãe Neuza Cunha, por todo amor, dedicação, suporte, paciência, por ser a melhor mãe e amiga que eu poderia ter, e também por me preparar o melhor café durante as minhas jornadas de estudos.

Ao meu pai Adilson Figueiredo, por todo amor, apoio e incentivo para eu buscar o crescimento pessoal e profissional em todos os momentos da minha vida, e ser meu grande amigo que eu sempre posso contar..

Ao meu namorado Alessandro Silva, por todo amor, apoio, por sempre me ajudar, paciência com a minha rotina *full time* de trabalho e estar comigo em todos os momentos e fazer a minha vida mais feliz.

À minha irmã, tias, tios, primos-irmãos e avôs, por todo amor e suporte. Em especial ao meu pai-avô Enedino por todo amor, cuidado e dedicação, e ao meu avô de coração Paulo por ter me escolhido como neta, pelo amor e apoio.

A minha prima-irmã Mariane Leal que é uma grande amiga e exemplo de vida e superação.

As *friends* do observatório de Epidemiologia Nutricional por fazerem o meu dia a dia mais divertido e produtivo, e serem simplesmente o melhor grupo de pesquisa que eu poderia ter, unidas, comprometidas e competentes. Em especial a Paula Cocate e Ana Beatriz por serem pessoas iluminadas, exemplo de profissionais, e também pela contribuição para esse trabalho.

As minhas amigas “Nutelas” por serem um grande presente da graduação e me proporcionarem momentos maravilhosos e repletos de felicidade. Em especial as amigas Vanessa, Maylin e Valéria que sempre me apoiaram e foram as minhas fieis confidentes.

Aos amigos Thaiza Fragozo, Raisa Magno e Henrique Marcondes por toda amizade e companheirismo.

As amigas de longa data Beatriz Moraes, Amanda Pinheiro e que sempre pude contar em todos os momentos da minha vida.

A todas as gestantes atendidas no Centro Municipal de Saúde Heitor Beltrão, pela participação no estudo, sem a qual não seria possível a realização desta dissertação.

A todos os professores e funcionários do Instituto de Nutrição Josué de Castro, por todos os ensinamentos preciosos, atenção e disponibilidade ao longo desses 8 anos de convivência.

A professora Drª Márcia Soares por ter sido uma professora de didática admirável durante a graduação, e por ter aceitado ser a revisora dessa dissertação.

Aos professores Dr. Egberto Gaspar e Drª Flávia Fioruci por terem me dado a honra de fazer parte da banca examinadora do mestrado.

Rio de Janeiro | Fevereiro de 2017

Amanda Caroline Cunha Figueiredo

# EPÍGRAFE

“Em seu coração o homem planeja o seu caminho, mas o Senhor determina os seus passos” Provérbios 16:9.

# LISTA DE QUADROS

## INTRODUÇÃO

**Quadro 1**. Recomendações de concentrações plasmáticas de vitamina D..... 29

**Quadro 2**. Características gerais dos estudos que avaliaram a associação entre as concentrações plasmáticas de vitamina D e sintomas depressivos em gestantes e puérperas. ..... 36

**Quadro 3**. Principais resultados dos estudos que avaliaram a associação entre as concentrações plasmáticas de vitamina D e sintomas depressivos em gestantes e puérperas..... 38

# LISTA DE TABELAS

## ARTIGO 1

**Table 1**. Baseline characteristics according to vitamin D status in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 79

**Online Resource Table 1**. Confounders estimates in the longitudinal model of plasma 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations during pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 88

## ARTIGO 2

**Table 1**. Baseline characteristics of pregnant women with and without depressive symptoms followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009–2012..... 115

**Table 2**. Random intercept logistic model between first trimester vitamin D concentrations and depressive symptoms measured prospectively in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 119

**Table 3**. Random intercept logistic model between vitamin D concentrations and depressive symptoms measured prospectively in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 120

# LISTA DE FIGURAS

## INTRODUÇÃO

**Figura 1.** Síntese, ingestão e ativação da vitamina D..... 27

**Figura 2.** Comportamento de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D em gestantes e não gestantes..... 30

**Figura 3.** Comportamento longitudinal de concentrações sanguíneas de 25(OH)D em gestantes no inicio e final do verão..... 32

## MÉTODOS

**Figura 4**. Fluxograma do estudo..... 45

**Figura 5.** Modelo de Diagrama Causal (DAG)..... 51

## ANEXOS

**Figura 6.** Histograma e gráfico de dispersão da variável 25(OH)D..... 161

**Figura 7.** Histograma e gráfico de dispersão da variável 1,25$(OH)_2$D ..... 162

**Figura 8**. Histograma e gráfico de dispersão da variável sintomas depressivos..... 163

## ARTIGO 1.

**Figure 1.** Frequency of vitamin D status according to trimester of pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 81

**Figure 2.** Changes in plasma 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations during pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 82

**Figure 3.** Mean in plasma 25(OH)D concentration according to first, second and third trimester of pregnancy and season of recruitment into the study among women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 83

**Figure 4.** Changes in plasma 25(OH)D concentration during pregnancy according to seasons at recruitment in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009 2012..... 84

**Figure 5**. Changes in plasma 1,25$(OH)_2$D concentration during pregnancy by vitamin D status at baseline in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 85

**Online Resource Figure 1.** Flowchart of the selection process of study final sample of pregnant woman followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.... 86

**Online Resource Figure 2.** Correlation between 1,25$(OH)_2$D and 25(OH)D concentrations during first (a), second (b), and third (c) trimester in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 87

**ARTIGO 2.**

**Figure 1**. Predicted probabilities of depressive symptoms throughout pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 118

**Figure 2**. Predicted probabilities of depressive symptoms throughout pregnancy according to 25(OH)D concentrations in early pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 121

**Supplemental Figure 1**. Flow chart illustrating the recruitment and follow-up in women at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012..... 122

**Supplemental Figure 2**. Directed acyclic graph (DAG) for vitamin D and depressive symptoms..... 123

**Supplemental Figure 3**. Frequency and confidence intervals of depressive symptoms according to pregnancy trimester of pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012. ..... 124

# LISTA DE ANEXOS

**Anexo 1.** Publicação do atigo 1: *European Journal of Nutrition*..... 138

**Anexo 2.** Publicação do atigo 2: *Journal of Psychiatric Research*..... 140

**Anexo 3.** Questionários..... 143

**Anexo 4.** Análise exploratória dos dados..... 160

**Anexo 5.** Sintaxes..... 164

**Anexo 6**. Aprovação do comitê de ética..... 173

**Anexo 7.** Termo de consentimento livre e esclarecido..... 175

## LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| ABNT | Associação Brasileira de Normas Técnicas |
| BDI | *Beck Depression Inventory* / Inventário de Depressão de Beck |
| CES-D | *Center for Epidemiologic Studies-Depression/*Escala de Depressão do Centro de Estudos Epidemiológicos |
| CIDI | *Composite International Diagnostic Interview/*Classificação Estatística Internacional de Doenças e de Problemas Relacionados à Saúde |
| CMSHB | Centro Municipal de Saúde Heitor Beltrão |
| DAG | *Directed Acyclic Graph/*Gráfico Acíclico Direcionado |
| DASS-21 | *Anxiety Stress Scale-21* |
| DBP | *Vitamin D-binding protein* /Proteína Ligadora de Vitamina D |
| DP | Desvio Padrão |
| ECLIA | *Eelectrochemiluminescent Immunoassay/*Imunoensaio por Eletroquimioluminescência |
| ELISA | *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*/Teste Imunoenzimático |
| EP | Erro Padrão |
| EPDS | *Edinburgh Postnatal Depression Scale/* Escala de Depressão Pós-parto de Edinburgo |
| FAPERJ | Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro |
| HPLC | *High-performance liquid chromatography/*Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| INJC | Instituto de Nutrição Josué de Castro |
| IOM | *Institute of Medicine*/Instituto de Medicina Americano |
| MS | *Mass Spectrometry*/Espectrometria de Massa |
| MINI | *Mini International Neuropsychiatric* |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PHQ-9 | *Patient Health Questionnaire*/Questionário de Saúde do Paciente |
| PRIME-MD | *Primary Care Evaluation of Mental Disorders*/Questionário de Avaliação de Transtornos Mentais para Atenção Primária |
| QFA | Questionário de Frequência Alimentar |
| RIA | Radioimunuensaio |
| SCID-I | *Structured Clinical Interview/*Entrevista Clínica Estruturada |
| UVB | *Ultraviolet radiation*/Radiação ultravioleta |
| VDR | *Vitamin D Receptor*/Receptor de Vitamina D |
| WHO | *World Health Organization* |
| $1,25(OH)_2D$ | 1,25 dihidroxivitamina D |
| 25(OH)D | 25 hidroxivitamina D |

# SUMÁRIO

**Apresentação**..... 17

**Resumo**..... 18

**Abstract**..... 20

**1. Introdução**..... 22

**2. Revisão da literatura**..... 23

2.1 Depressão..... 23

2.1.1 Depressão durante a gestação..... 24

2.2 Vitamina D..... 26

2.2.1 Recomendações de vitamina D..... 28

2.2.2 Vitamina D durante a gestação..... 29

2.3 Vitamina D e sintomas depressivos..... 33

**3. Justificativa**..... 40

**4. Hipóteses**..... 41

4.1 Hipótese I..... 41

4.2 Hipótese II..... 41

**5. Objetivos**..... 42

5.1 Objetivo geral..... 42

5.2 Objetivos específicos..... 42

**6. Métodos**..... 43

6.1 Desenho do estudo ..... 43

6.2 Captação das participantes..... 43

6.2.1 Critérios de elegibilidade..... 43

6.2.2 Critérios de exclusão..... 43

6.3 Treinamento e estudo piloto..... 44

6.4 Variáveis do estudo..... 46

6.4.1 Concentrações plasmáticas de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D..... 46

6.4.2 Sintomas depressivos. ..... 47

6.4.3 Covariáveis do estudo..... 47

6.5 Análise estatística..... 48

6.5.1 Análise descritiva..... 48

6.5.1.1 Artigo 1..... 48

6.5.1.2 Artigo 2 ..... 49

6.5.2 Análise longitudinal..... 49

6.5.2.1 Artigo 1..... 49

6.5.2.2 Artigo 2..... 50

6.5.3 Banco de dados e software para análise estatística..... 52

**7. Questões éticas**..... 52

**8. Resultados**..... 53

Artigo 1. *Changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D during pregnancy: A Brazilian cohort*..... 54

Artigo 2. *Association between vitamin D concentrations and changes in depressive symptoms throughout pregnancy: A Brazilian cohort*..... 90

**9. Considerações finais** ..... 125

**10. Referências**..... 127

**11. Anexos**..... 137

## APRESENTAÇÃO

Essa dissertação faz parte de um estudo maior intitulado ‘Saúde mental e estado nutricional na gestação e no pós-parto: estudo prospectivo com ensaio clínico randomizado aninhado’, realizado no Centro Municipal de Saúde Heitor Beltrão. Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro pelos seguintes editais: Programa Jovem Cientista do Nosso Estado (2008), Programa de Apoio a Grupos de Pesquisa Emergentes (2008), Programa de Auxílio à Pesquisa (2009) e Apoio às Instituições de Ensino e Pesquisa Sediadas no Estado do Rio de Janeiro (2010).

O estudo foi desenvolvido pelos pesquisadores do Observatório de Epidemiologia Nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro em parceria com o Instituto de Psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro e o Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. O recrutamento das mulheres ocorreu entre novembro de 2009 a outubro de 2011, e a coleta de dados terminou em junho de 2012.

O presente documento está estruturado nas seguintes seções: Resumo, Abstract Introdução, Justificativa, Hipóteses, Objetivos, Métodos, Resultados, Considerações finais, Referências e Anexos. A seção de Resultados está apresentada no formato de dois artigos científicos.

O primeiro artigo foi publicado pela revista *European Journal of Nutrition* em março de 2017 e intitula-se "*Changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D during pregnancy: A Brazilian cohort*/Alterações das concentrações plasmáticas de 25-hidroxivitamina D e *1*,25-dihidroxivitamina D durante a gestação: Uma coorte brasileira. O segundo artigo intitula-se " *Association between plasma concentrations of vitamin D metabolites and depressive symptoms throughout pregnancy in a prospective cohort of Brazilian women"/*Associação entre as concentrações de metabolitos de vitamina D e sintomas depressivos durante a gestação: Uma coorte brasileira" e foi publicado pela revista *Journal of Psychiatric Research* em julho de 2017.

A formatação da dissertação segue as referências da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). As referências do primeiro e segundo artigo obedecem ao formato exigido pela revista *European Journal of Nutrition e Journal of Psychiatric Research,* respectivamente.

# RESUMO

FIGUEIREDO, Amanda Caroline Cunha. Trajetória das concentrações plasmáticas da vitamina D ao longo da gestação e sua associação com sintomas depressivos. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2017.

A gestação é caracterizada por alterações biológicas, físicas e sociais. Durante esse período ocorrem adaptações fisiológicas no metabolismo da vitamina D e pode ser um momento suscetível para o aumento de sintomas depressivos. Os objetivos desse estudo foram: 1. Investigar se a adequação de vitamina D no início da gestação influencia no comportamento longitudinal de concentrações plasmáticas de 1,25 dihidrovitamina D [1,25$(OH)_2$D]. 2. Estimar a associação entre concentrações plasmáticas de 25 hidrovitamina D [25OH)D] e 1,25$(OH)_2$D e a ocorrência de sintomas depressivos ao longo desse período. O presente estudo trata-se de uma coorte prospectiva realizada em um centro municipal de saúde no Rio de Janeiro, Brasil. A amostra foi composta por mulheres com baixo risco gestacional, idade entre 20 e 40 anos e acompanhadas durante 5ª-13ª, 20ª-26ª e 30ª-36ª semanas gestacionais. As concentrações plasmáticas de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D foram medidas nos três trimestres de gestação e analisadas pelo método de cromatografia liquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa. A adequação da vitamina D foi avaliada por meio das concentrações de 25(OH)D nmol/L utilizando os pontos de corte propostos pelo Instituto de Medicina Americano e pela Sociedade Americana de Endocrinologia. Os sintomas depressivos foram avaliados nos três trimestres de gestação pela Escala de Depressão Pós-Parto de Edimburgo (ponto de corte ≥13). A análise estatística incluiu o emprego de medidas de dispersão amostral e análise longitudinal [modelos de regressão linear com efeitos mistos (objetivo 1) e regressão logística com intercepto randomizados (objetivo 2)]. A seleção das variáveis de ajuste foi realizada de acordo com a plausibilidade biológica e análise bivariada significativa com o desfecho (P<0,2) (objetivo 1) e por meio do Gráfico Acíclico Direcionado (DAG) (objetivo 2). A prevalência de 25(OH)D <75, <50 e <30 nmol/L no primeiro trimestre foi 70,4%, 16,1% e 2,0%, respectivamente. As mulheres que começaram o estudo no inverno (p-valor<0,001), primavera (p-valor<0,001) ou outono (p-valor=0,028) apresentaram um aumento das concentrações de 25(OH)D ao longo da gestação,

enquanto não houve alteração entre as mulheres que iniciaram no verão. As concentrações de 1,25$(OH)_2$D aumentaram ao longo da gestação. Mulheres que começaram o estudo com concentrações insuficientes (50-75 nmol/L) apresentaram um maior aumento do que as com suficiência de vitamina D (≥75 nmol/L) (p-valor=0.006). A prevalência de sintomas depressivos durante a gestação foi de 20,1%, 14,7% e 7,8% no primeiro, segundo e terceiro trimestre, respectivamente e a probabilidade de ter sintomas depressivos diminuiu ao longo da gestação (p-valor=0.005). As concentrações plasmáticas de vitamina D no início do estudo foram inversamente associadas a ocorrência de sintomas depressivos ao longo da gestação (OR=0,98; IC95%: 0,96-0,99, p-valor=0,047). Conclui-se que ocorre uma variação sazonal nas concentrações de 25(OH)D ao longo da gestação. As concentrações de 1,25$(OH)_2$D aumentaram ao longo desse período principalmente entre as mulheres que apresentavam concentrações insuficientes no início do estudo. Alta prevalência de gestantes com sintomas depressivos foram observadas durante a gestação, principalmente no primeiro trimestre e a probabilidade de sintomas depressivos diminuiu ao longo da gestação. As concentrações plasmáticas de 25(OH)D no início da gestação foram inversamente associadas com a chance de ter sintomas depressivos ao longo desse período em mulheres aparentemente saudáveis.

**Palavras-chave:** Vitamina D; depressão; pais tropical, coorte, gestação.

## ABSTRACT

FIGUEIREDO, Amanda Caroline Cunha. Changes in plasma concentrations of vitamin D throughout pregnancy and it association with depressive symptoms. Dissertation (Master's Degree in Human Nutrition) – Josué de Castro Institute of Nutrition, Postgraduate Nutrition Program, Rio de Janeiro Federal University, 2017.

Pregnancy is characterized by biological, physical and social changes. During this period occurs physiological adaptations in the vitamin D metabolism and can also be a vulnerable period for the increase of depressive symptoms. The objectives of this study were: 1. To investigate if vitamin D status in early pregnancy influences the longitudinal changes of plasma concentrations of 1,25 dihydrovitamin D [1,25$(OH)_2$D] during pregnancy. **2.** To investigate the association between plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D) and 1,25$(OH)_2$D with the occurrence of depressive symptoms during pregnancy. This study consists of a prospective cohort conducted at a public health care center in Rio de Janeiro, Brazil. The sample consisted of women with low pregnancy risk, age between 20 and 40 years, followed at $5^{th}$-$13^{th}$, $20^{th}$-$26^{th}$, $30^{th}$-$36^{th}$ gestational weeks. Plasma concentrations of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D were collected during first, second and third trimester of pregnancy and analyzed by liquid chromatography tandem mass spectroscopy. The vitamin D status was categorized according to concentrations of 25(OH)D nmol/L by the Institute of Medicine and the Endocrine Society Practice Guidelines. Depressive symptoms were measured at each pregnancy trimester by Edinburg Postnatal Depressive Scale (cutoff ≥13). Statistical analyses included dispersion measures of sample and longitudinal analysis [longitudinal linear mixed-effects models (objective 1) and random intercept logistic regression model (objective 2)]. Covariates were selected as potential confounders based on biological plausibility and bivariate analysis with the outcome (objective 1) and directed acyclic graph (DAG) (objective 2). The prevalence of 25(OH)D <75, <50 and <30 nmol/L in the first trimester was 70.4%, 16.1% and 2.0%, respectively. Multiple adjusted analysis showed that women who started the study in winter (p-value<0.001), spring (p-value<0.001) or autumn (p-value=0.028) presented a longitudinal increase in 25(OH)D concentrations, while women that started during summer did not. Increase of 1,25$(OH)_2$D concentrations over time in women with insufficient vitamin D (50-75 nmol/L) at baseline was higher compared

to women with sufficient vitamin D (≥75 nmol/L) (p-value=0.006). The prevalence of depressive symptoms during pregnancy was 20.1%, 14.7% and 7.8% during first, second and third trimester, respectively and the probability of depressive symptoms decreased throughout pregnancy (p-value=0.005). Women with higher concentrations of 25(OH)D in the first trimester had a lower odds ratio of depressive symptoms during pregnancy (OR=0.98; 95%CI: 0.96-0.99, p-value=0.047). In conclusion, there was a seasonal variation of 25(OH)D during pregnancy. Women with insufficient vitamin D status presented greater longitudinal increases in the concentrations of 1,25$(OH)_2$D in comparison to women with sufficiency. Women presented high prevalence of depressive symptoms during pregnancy, especially in the first trimester and the probability of depressive symptoms decreased throughout pregnancy. Plasma concentrations of 25(OH)D in early pregnancy were inversely associated with occurrence of depressive symptoms during pregnancy.

**Keywords:** Vitamin D; depression; tropical country; cohort; pregnancy.

# 1. INTRODUÇÃO

A gestação é um período com intensas modificações biológicas, físicas e sociais (CAMACHO et al., 2006; MARCUS, 2009). Dessa forma, pode ser um momento suscetível para o aumento de sintomas depressivos que podem estar associados a desfechos negativos para a saúde materna e do recém-nascido (SOARES; ZITEK, 2008). Assim, é importante identificar os possíveis determinantes da depressão na gravidez e contribuir para o adequado acompanhamento pré-natal (GROTE et al., 2010). Determinantes sócio demográficos, de estilo de vida e obstétricos pregressos, bem como nutricionais como a deficiência de vitamina D podem ser fatores de risco para a depressão durante a gestação (LANCASTER et al., 2010; THIENGO et al., 2012; VILELA et al., 2014; HUANG et al., 2014).

A vitamina D está sendo investigada na fisiopatologia da depressão por ser considerada necessária para o adequado funcionamento do encéfalo (MCCANN et al., 2008; FERNANDES DE ABREU et al., 2009). A vitamina D também exerce importantes funções relacionadas a saúde óssea, bem como regulação do crescimento e proliferação celular e modulação imunológica (HOLICK et al., 2003; HOLICK 2007; IOM, 2011). Durante a gestação há alterações fisiológicas nas concentrações de vitamina D no organismo a fim de suprir as necessidades de cálcio e a mineralização óssea fetal (HOLICK et al., 2011; BRANNON; PICCIANO, 2011). Destaca-se, que as gestantes podem ser consideradas um grupo de risco para deficiência ou insuficiência de vitamina D (HOLICK et al., 2011; BRANDENBARG et al., 2012; ZHU et al., 2014; MAEDA et al., 2014). Dessa forma, pode ser importante avaliar o comportamento longitudinal da vitamina D durante a gestação (HOLICK et al., 2011; MAEDA et al., 2014).

Em estudos epidemiológicos foram observadas associações entre baixas concentrações de vitamina D e ocorrência de sintomas depressivos durante a gestação. Porém, os resultados permanecem controversos, justificando mais investigações dessa natureza (CASSIDY-BUSHROW et al., 2012; BRANDENBARG et al., 2012; HUANG et al., 2014). A baixa concentração de vitamina D no organismo é um fator que pode ser modificável de acordo com orientações nutricionais e gerais, como consumo e suplementação de vitamina D, além da exposição solar adequada (HOLICK et al., 2011; ACCORTT et al., 2016). Assim, as concentrações adequadas de vitamina D podem ser uma estratégia para prevenir ou auxiliar no

tratamento de sintomas depressivos durante a gestação (HOLICK et al., 2011; BRANDENBARG et al., 2012; ACCORTT et al., 2016).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Depressão

A depressão é o transtorno mental mais comum na população e é considerada um relevante problema de saúde pública (WHO, 2012). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 350 milhões de pessoas apresentam esse transtorno em todo o mundo, com maior prevalência entre as mulheres (WHO, 2012). No Brasil, de acordo com uma revisão sistemática 14% e 7% da população adulta de ambos os sexos apresenta sintomas depressivos e diagnóstico de depressão, respectivamente (SILVA et al., 2014).

A depressão é caracterizada por sintomas como humor deprimido, perda de prazer nas atividades que eram de interesse, mudanças de apetite, distúrbios de sono, perda de energia, agitação ou retardo psicomotor, sentimentos de inutilidade e menor capacidade de concentração por um período de no mínimo duas semanas (*DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL OF DISORDERS*, 1994).

De acordo com a classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde, os episódios depressivos podem ser classificados como leves, moderados ou graves. No primeiro, pode haver dois ou três sintomas característicos da depressão, mas o indivíduo provavelmente será capaz de desempenhar a maioria das atividades diárias. O episódio depressivo moderado é definido pela presença de quatro ou mais sintomas depressivos que dificultam as atividades de rotina. O episódio depressivo grave pode ser divido em sem e com sintomas psicóticos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

No episódio depressivo grave sem sintomas psicóticos, o indivíduo apresenta vários sintomas marcantes e angustiantes, como perda da autoestima e sentimento de culpa, e pensamentos e atos suicidas. O episódio com sintomas psicóticos são acompanhados por esses sintomas e também de alucinações, ideias delirantes e lentidão psicomotora. Neste último, além de existir o risco de suicídio, as atividades sociais normais se tornam impraticáveis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Transtornos mentais como a depressão resultam em gastos consideráveis em todo mundo, principalmente em países de baixa renda. Estima-se que em 2010 esses gastos foram de aproximadamente 2,5 à 8,5 trilhões de dólares e poderão dobrar em 2030 (BLOOM et al.,

2011). A maior parte desses gastos são custos indiretos como os associados a invalidez e suicídio (BLOOM et al., 2011; MARQUEZ et al., 2016; CHISHOLM et al., 2016).

### 2.1.1 Depressão durante a gestação

A gestação é um momento de transição, e assim, pode ser vulnerável para o aumento de sintomas depressivos (SOARES; ZITEK, 2008; MARTINI et al., 2015). Contudo, o diagnóstico desse transtorno pode ser negligenciado durante a gravidez, pois há dificuldade de distinção entre os sintomas depressivos e os característicos da gestação, como fadiga, distúrbios do sono e dificuldade de concentração (MARCUS, 2009; CHAUDRON et al., 2013).

Alguns fatores podem desencadear a depressão em gestantes. Entre estes destacam-se a história prévia de depressão, ansiedade materna, estresse, falta de apoio social, baixa escolaridade, gravidez não planejada ou indesejada, violência doméstica, baixa renda, tabagismo, estado marital solteiro e conflitos matrimoniais (LANCASTER et al., 2010; THIENGO et al., 2012). Parâmetros bioquímicos, como baixas concentrações sanguíneas de vitamina D, também estão sendo investigados em relação ao aumento de sintomas depressivos (MCCANN et al., 2008; MAEDA et al., 2014).

A prevalência de depressão durante a gestação varia de acordo com o local de estudo, bem como o método de avaliação utilizado (THIENGO et al., 2011). Em um estudo de revisão sistemática foram observadas prevalências de depressão gestacional de 20% em gestantes residentes de países em desenvolvimento e de 10% a 15% nas gestantes de países desenvolvidos (PEREIRA et al., 2011). Em relação aos métodos, estudos que utilizaram instrumentos como entrevistas diagnósticas padronizadas, seguindo critérios mais rígidos apresentam menores prevalências de depressão em comparação com os que empregaram inventários ou escalas de rastreamento de sintomas (THIENGO et al., 2011).

Estudos transversais realizados no Brasil com gestantes atendidas em unidades básicas de saúde observaram altas prevalências de sintomas depressivos e de diagnóstico de depressão. Almeida et al. (2012) observaram que 21,6% de 712 mulheres avaliadas apresentaram sintomas de depressão entre 13 e 36 semanas de gestação em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, por meio do instrumento *Primary Care Evaluation of Mental Disorders* (PRIME-MD). Em Ribeirão Preto, São Paulo, Fonseca-Machado et al. (2015) encontraram 28% de prevalência desses sintomas no terceiro trimestre em 358 gestantes, identificados pela *Edinburgh Postnatal Depression Scale* (EPDS). No estudo de Pereira et al. (2009), no

município do Rio de Janeiro, a prevalência de diagnóstico de depressão foi de 14,2% em 331 mulheres no terceiro trimestre de gravidez, utilizando a *Composite International Diagnostic Interview* (CIDI).

Altas prevalências de depressão e sintomas depressivos também foram encontrados em outros países em desenvolvimento (FISCHER et al., 2012). Matos et al. (2009) observaram 40% de sintomas depressivos em 222 gestantes com média de 28,3 (DP=9,4) semanas gestacionais avaliadas pela EPDS em um estudo realizado no Peru. Lara et al. (2015), em um estudo realizado no México verificaram que entre 280 mulheres com mais de 26 semanas de gestação 9% apresentaram diagnóstico de depressão e 16,6% de sintomas depressivos, pela *Structured Clinical Interview* (SCID-I) e *Patient Health Questionnaire* (PHQ-9), respectivamente.

Estudos prospectivos na gestação permitem a avaliação longitudinal do comportamento da depressão. Em um artigo realizado com 248 mulheres brasileiras, Vilela et al. (2014) verificaram que o escore de sintomas de depressão diminuiu progressivamente ao longo da gestação (9, 7,2 e 7) durante o primeiro, segundo e terceiro trimestre gestacional, respectivamente. Figueiredo e Conde (2011) verificaram prevalências similares de sintomas depressivos de 20%, 19,6% e 17,4%, em 260 gestantes em Portugal durante o primeiro, segundo e terceiro trimestre gestacional, respectivamente. Ambos os estudos utilizaram a EPDS para avaliar os sintomas depressivos.

Dessa forma, esses estudos prospectivos estimam uma tendência de redução de sintomas depressivos ao longo da gestação. Contudo, estudo realizado em Taiwan avaliou 174 mulheres por meio da Escala de Depressão do Centro de Estudos Epidemiológicos (CED-D) entre 25–29, 30–34 e >34 semanas gestacionais, e as prevalências de sintomas depressivos foram de 25,9%, 25,5%, 24,2%, respectivamente, porém não houve diferença significativa entre a prevalência desses sintomas (LIOU et al., 2013).

A depressão pode resultar em desfechos negativos para a saúde materna e do recém-nascido, como a prematuridade, baixo peso ao nascer, menor desenvolvimento cognitivo e neurológico infantil, bem como maior ocorrência de depressão pós-parto (DEAVE et al., 2008; GROTE et al., 2010; SILVA et al., 2012; GLOVER et al., 2014). Adicionalmente, o uso de medicamento antidepressivo para o tratamento da depressão durante a gestação aumenta o risco de aborto, cardiopatia congênita, prematuridade, hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido e atraso no desenvolvimento motor infantil (PEARLSTEIN et al., 2015). Dessa forma, intervenções nutricionais e de estilo de vida são de grande interesse

para a saúde pública para o tratamento e/ou prevenção da depressão (WHO, 2012; ACCORTT et al., 2016; MARQUEZ et al., 2016; CHISHOLM et al., 2016).

## 2.2 Vitamina D

A vitamina D é considerada um pró-hormônio lipossolúvel por ser sintetizada endogenamente por meio da exposição solar, e assim, não ser essencial ao organismo, como as outras vitaminas obtidas apenas pela dieta (HOLICK, 2007; IOM, 2011). As principais formas de vitamina D são o ergocalciferol, vitamina $D_2$, e o colecalciferol, vitamina $D_3$ (HOLICK, 2007; ZHANG; NAUGHTON, 2010; IOM, 2011).

O ergocalciferol, de origem vegetal, é produzido por irradiação ultravioleta de ergosterol presente em leveduras, sendo encontrado naturalmente em fungos comestíveis. Enquanto o colecalciferol é sintetizado na pele por meio da exposição solar e também pode ser obtido por fontes alimentares de origem animal como óleo de fígado de bacalhau, salmão, atum, cavala e gema de ovo. Alguns alimentos podem ser fortificados com a vitamina $D_2$ e $D_3$, como o leite e a margarina, e a vitamina D também pode ser obtida por meio de suplementos (HOLICK, 2007; ZHANG; NAUGHTON, 2010). Os alimentos fontes de vitamina D são escassos e não existe programa obrigatório de fortificação alimentos no Brasil, e o uso de suplementos não é comum na população de baixa renda (MAEDA, 2014).

Em relação a produção endógena, a síntese cutânea de vitamina D ocorre após a exposição solar, por meio da absorção de radiação ultravioleta (UVB), com comprimento de onda de 290-320 nm. Estes raios convertem o precursor de vitamina $D_3$ presente na epiderme, 7-dehidrocolesterol, em pré-vitamina $D_3$. Em seguida, ocorre uma reação de isomerização, dependente de temperatura, que produz a vitamina $D_3$ (HOLICK, 2007; ZHANG; NAUGHTON, 2010; IOM, 2011). A vitamina $D_3$ é transportada pela proteína ligadora de vitamina D (DBP) para o fígado, local que ocorre a conversão para 25-hidroxivitamina D [25(OH)D]. Depois, segue para o rim, principal órgão em que é convertida pela enzima 1α-hidroxilase a 1,25 dihidroxivitamina D [$1,25(OH)_2D$], que é a forma ativa da vitamina D (HOLICK, 2007; ZHANG; NAUGHTON, 2010) (**Figura 1)**. A vitamina $D_2$ e $D_3$ obtidas pela dieta e suplementação, após serem absorvidas no intestino delgado e incorporadas aos quilomícrons, são transportadas até o fígado pela DBP. A partir dessa etapa, ocorre o mesmo processo da vitamina $D_3$ sintetizada pela pele, como observado na **Figura 1** (ZHANG; NAUGHTON, 2010; IOM, 2011; HOLICK et al., 2011).

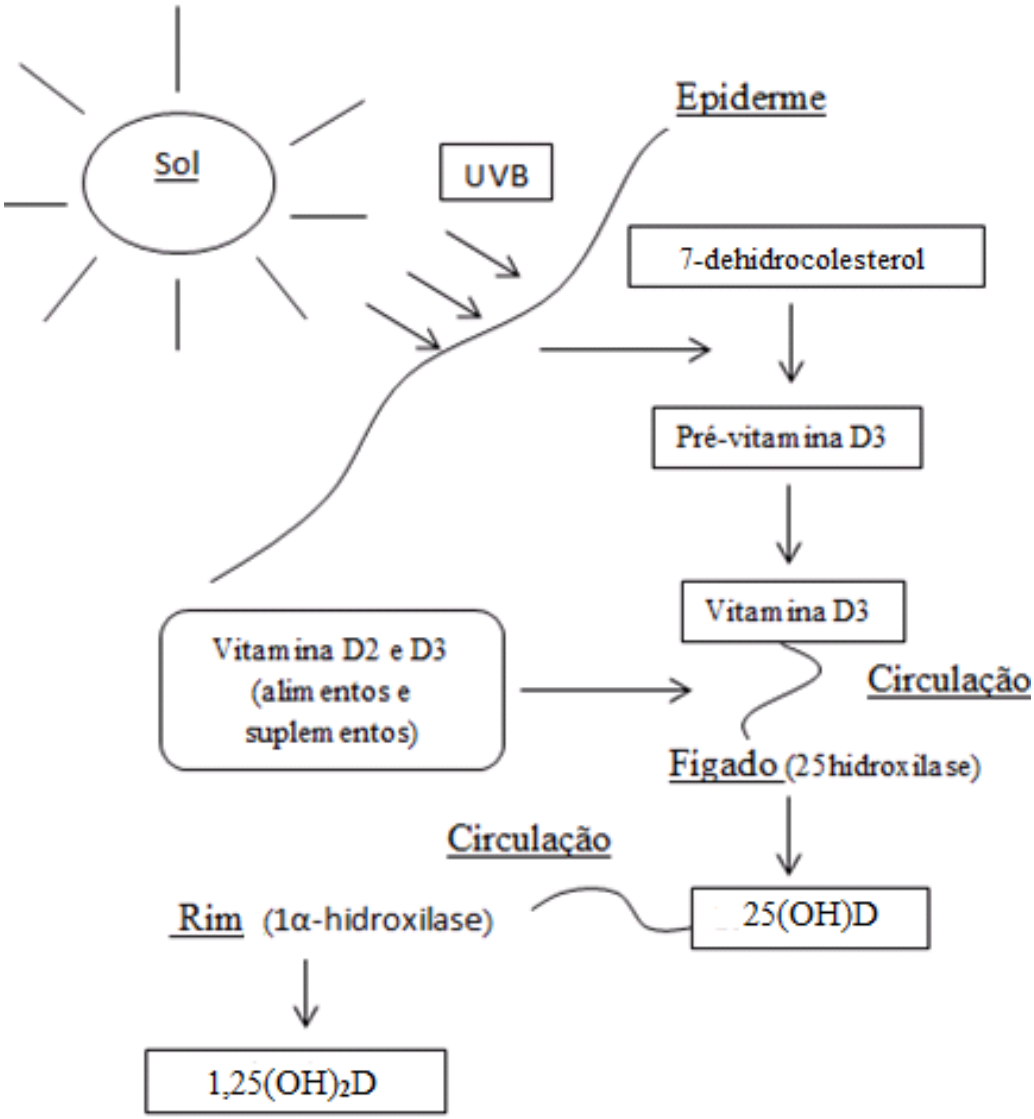



**Figura 1.** Síntese, ingestão e ativação de vitamina D (Adaptado de ZHANG; NAUGHTON, 2010; IOM, 2011).

A produção renal de $1,25(OH)_2D$ é regulada principalmente pelas concentrações de paratormônio, fator de crescimento fibroblástico, cálcio e fosfato (HOLICK et al., 2007; HOLICK et al., 2011; IOM, 2011). A enzima 1α-hidroxilase também foi identificada em outros tecidos e órgãos como no cérebro, placenta, mama, intestino e células imunológicas (HOLICK, 2007; BRANNON; PICCIANO, 2011; EYLES et al., 2013). A síntese de

$1,25(OH)_2D$ nos tecidos extra renais ainda não é totalmente esclarecida mas evidências sugerem que pode depender principalmente do substrato, 25(OH)D, de acordo com as necessidades locais, via mecanismos de regulação parácrina ou autócrina (HOLICK et al., 2011; ADAMS; HEWISON, 2012; HÖBAUS et al., 2013; MAEDA et al., 2014; SCHLÖGL; HOLICK, 2014).

A principal função da vitamina D é a regulação da homeostase de cálcio e metabolismo ósseo. O paratormônio estimula a produção de $1,25(OH)_2D$ quando as concentrações de cálcio estão baixas, o que resulta em maior absorção intestinal de cálcio. A vitamina D também estimula a retenção de cálcio e aumenta a reabsorção óssea (HOLICK, 2007; HOLICK et al., 2011; IOM 2011). Além disso, a vitamina D pode regular o crescimento e proliferação celular e atuar na modulação imunológica (HOLICK et al., 2003; HOLICK 2007; IOM, 2011).

Vários fatores podem determinar baixas concentrações sanguíneas de vitamina D, como a idade avançada, cor da pele negra, uso de protetor solar, estilo de roupa mais fechada como uso de calças e/ou blusas de manga comprida, obesidade, tabagismo, consumo de bebida alcoólica, poluição atmosférica e estação do ano, como o inverno (THUESEN et al., 2012; SHIRAZI et al., 2013; KELISHADI et al., 2013; LIPS et al., 2014).

Entre esses fatores, a estação do ano apresenta grande influência na adequação de vitamina D no organismo, considerando que está diretamente relacionada com a exposição solar, que por sua vez é a principal fonte deste pró-hormônio (IOM, 2011; WACKER; HOLICK, 2013). Vale destacar, que esta variação sazonal pode ocorrer inclusive em países tropicais, como o Brasil, com menores concentrações de vitamina D durante o inverno e primavera (MAEDA et al., 2013; GILL et al., 2014; LOPES et al., 2014). Durante o verão a população se expõe mais ao sol e pratica mais atividades de lazer ao ar livre, como ir a praia (MAEDA et al., 2013; LOPES et al., 2014).

### 2.2.1 Recomendações de vitamina D

A concentração sanguínea de 25(OH)D é considerada o melhor indicador do estado de vitamina D no organismo, por apresentar maior meia vida que a forma ativa, bem como refletir a síntese endógena e ingestão dessa vitamina por alimentos ou suplementos (HOLICK, 2007; HOLICK et al., 2011; MAEDA et al., 2014). Porém alguns autores relatam que são escassos estudos que avaliaram as concentrações de $1,25(OH)_2D$ e que pode ser importante

avaliá-la de forma complementar a 25(OH)D, por ser o hormônio ativo que exerce as funções biológicas da vitamina D (OUDE VOSHAAR et al., 2014; BEA, et al., 2015).

O ponto de corte de adequação de vitamina D ainda é discutível para a população em geral, apesar de existirem dois critérios mundialmente aceitos como os do Instituto de Medicina Americano (IOM) e da Sociedade Americana de Endocrinologia (IOM, 2011; HOLICK et al., 2011) de acordo com as concentrações de 25(OH)D (**Quadro 1**). As recomendações do IOM foram baseadas na função da vitamina D na saúde óssea, e não consideram outros desfechos clínicos, pois ressalta que as funções extra esqueléticas da vitamina D ainda são controversas (IOM, 2011). Contudo, a recomendação da Sociedade Americana de Endocrinologia (HOLICK et al., 2011) além de ser voltada para o público que tem maior risco de deficiência de vitamina D, também considera as funções extra esqueléticas dessa vitamina.

**Quadro 1**. Recomendações de concentrações séricas de 25 hidroxivitamina D.

| **Classificação do Estado de vitamina D** | **Instituto de Medicina Americano** | | **Sociedade Americana de Endrocrinologia** | |
|---|---|---|---|---|
| | **(nmol/L)** | **(ng/mL)** | **(nmol/L)** | **(ng/mL)** |
| Deficiência | <30 | <12 | <50 | <21 |
| Insuficiência | 30-<50 | 12-20 | 50-<75 | 21-<30 |
| Suficiência | ≥50 | ≥20 | ≥75 | ≥30 |

Fonte: IOM, 2011; HOLICK et al., 2011.

A mensuração da vitamina D é indicada apenas para indivíduos que apresentam risco de deficiência e não para a população em geral. No Brasil, a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia considera que a gestação pode ser um período de risco para a deficiência de vitamina D (MAEDA et al., 2014). Porém, os pontes de corte utilizados para gestantes são os mesmos de adultos, como demonstrado no **Quadro 1**.

### 2.2.2 Vitamina D durante a gestação

A gestação é um momento com adaptações fisiológicas no metabolismo de vitamina D. Há maior demanda desse pró-hormônio devido às necessidades fetais de cálcio e mineralização óssea. As concentrações sanguíneas de 1,25$(OH)_2$D aumentam ao longo da

gestação, com valores duas vezes mais elevados do que em mulheres não grávidas (CROSS et al., 1995; PAPAPETROU, 2010; HOLICK et al., 2011).

Durante a gestação ocorre elevação da DBP e maior atividade da enzima 1α-hidroxilase pelo rim materno, placenta e decídua (NOVAKOVIC et al., 2009; BARRETT et al., 2010; BRANNON; PICCIANO, 2011). Além disso, há maior expressão do receptor de vitamina D (VDR) na placenta, ovário e decídua (SHAHBAZI et al., 2011). Apesar dessas alterações proporcionarem o aumento da forma ativa da vitamina D, ainda não há um consenso sobre o comportamento de 25(OH)D durante a gestação (BARRETT et al., 2010; BRANNON; PICCIANO, 2011; HOLICK et al., 2011).

Em uma revisão sistemática com meta-análise foi observado que as concentrações séricas médias de 25(OH)D em 20 estudos com gestantes [48,2 (EP= 5,6) nmol/L] não foram diferentes dos valores apresentados pelos nove estudos com mulheres não gestantes (grupo controle) [51,8 (EP= 6,1), p-valor=0,71]. Entretanto, as concentrações de 1,25$(OH)_2$D séricas foram mais elevadas entre as gestantes quando comparadas com o grupo controle [186,7 (EP=13,5) *vs.* 91,4 (EP=4,2) pmol/L, p-valor<0,001]. Adicionalmente, a relação entre a 1,25$(OH)_2$D/25(OH)D foi significativamente mais elevada em gestantes [4,9 (EP= 0,64) *vs.* 1.96 (EP= 0,23), p-valor=0,006]. Entretanto, esse resultado considerou apenas estudos transversais (PAPAPETROU, 2010) (**Figura 2**).

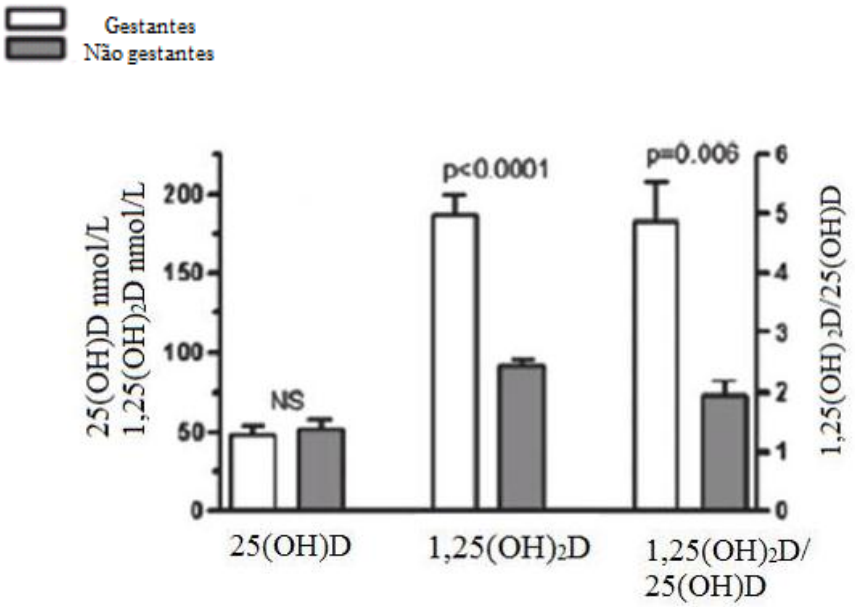



**Figura 2**. Comparação entre as concentrações séricas médias de 25(OH)D (nmol/L), 1,25$(OH)_2$D (pmol/L) e razão 1,25$(OH)_2$D/25(OH)D em gestantes e não gestantes (PAPAPETROU, 2010).
Nota: N = tamanho amostral; NS= não significativo; N gestantes=20 estudos e N não gestantes=9 estudos.

A prevalência de insuficiência de vitamina D é alta em todo o mundo, inclusive em gestantes residentes em países tropicais (MITHAL et al., 2009; ZHU et al., 2014; PRATUMVINIT et al., 2015). No Brasil, até o momento, só foi conduzido um estudo com gestantes adolescentes; um ensaio clínico randomizado com suplementação de cálcio e vitamina D a partir do 2° trimestre gestacional até o parto, com o objetivo de investigar o efeito dessa suplementação sobre a biometria fetal e massa óssea infantil. As concentrações séricas médias de 25(OH)D no início do estudo foram de 57,9 (DP=20,7) nmol/L em 26 gestantes do grupo placebo e de 59,5 (DP= 20,6) nmol/L em 30 mulheres do grupo suplementado (DIOGENES et al., 2015).

Na Austrália, 341 mulheres com 18 semanas gestacionais, apresentaram concentrações médias de vitamina D de 57,2 (DP=19,2) nmol/L. Dessas, 38,7% foram classificadas como deficientes em vitamina D, ou seja, com concentrações séricas de 25(OH)D <50 nmol/L (ZHU et al., 2014). Pratumvinit et al. (2015) detectaram que a prevalência de 25(OH)D <75 nmol/L foi de 75,5% em 147 gestantes tailandesas, com concentrações médias de vitamina D de 61,6 (DP=19,3) nmol/L. As gestantes que iniciaram o estudo durante o inverno apresentaram maior insuficiência de vitamina D.

Estudos longitudinais também avaliaram o comportamento de 25(OH)D ao longo da gestação. Zhao et al. (2014) em estudo com 50 gestantes chinesas observaram a prevalência de 25(OH)D <50 nmol/L de 96%, 78% e 76% durante o primeiro, segundo e terceiro trimestre de gestação, respectivamente. Em um estudo na Tailândia com 120 mulheres, os autores encontraram que a prevalência de 25(OH)D <75 nmol/L diminuiu ao longo da gestação, com valores de 83,3%, 30,9% e 27,4% no primeiro, segundo e terceiro trimestre de gestação, respectivamente (CHARATCHAROENWITTHAYA et al., 2013).

Fernández-Alonso et al. (2012) observaram diminuição significativa de 25(OH)D de 69,0 (DP=24,47) nmol/L no primeiro para 45,5 (DP=22) nmol/L no terceiro trimestre de gestação em 148 mulheres na Espanha considerando o efeito da estação do ano de início do estudo. Zhang et al. (2014) em um estudo realizado na Irlanda com 30 gestantes, encontraram prevalência de 25(OH)D <50 nmol/L de 63% e 80% entre 15ª e 36ª semanas de gestação, respectivamente. Esse autores também observaram que as mulheres que iniciaram o estudo no final do verão apresentaram um declínio mais acentuado de concentrações séricas de 25(OH)D ao longo da gestação (ZHANG et al., 2014) **(Figura 3)**.

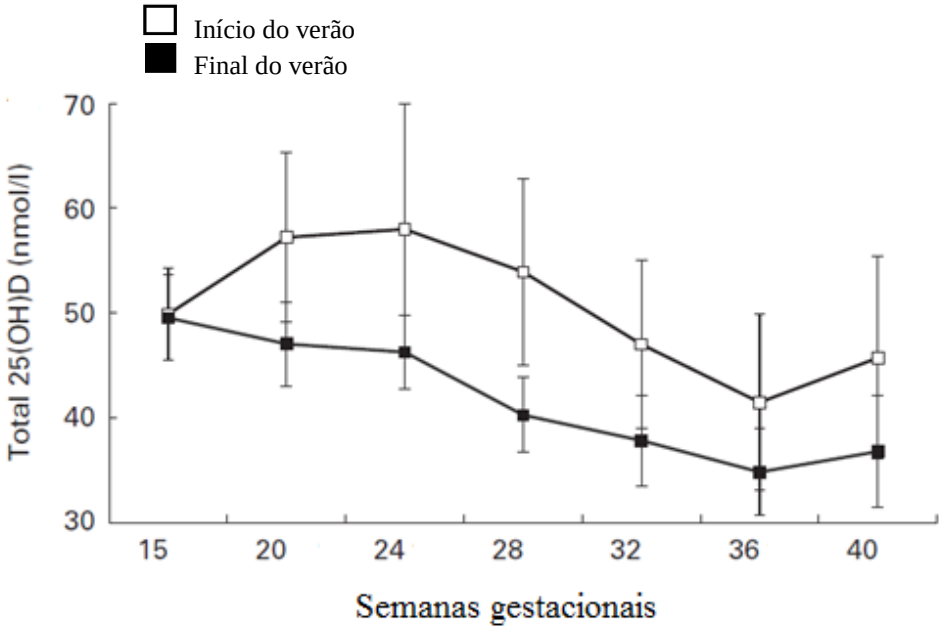



**Figura 3.** Comportamento longitudinal de concentrações sanguíneas de 25(OH)D em gestantes no início e final do verão (ZHANG et al., 2014).

Nota: N= tamanho amostral; N □ = 11; N ■ = 19.

Lee et al. (2015) avaliaram 275 gestantes coreanas e encontraram que a média de 25(OH)D no primeiro trimestre [32,5 (DP=14,7)] foi significativamente menor do que no segundo [47,7 (DP=24,5) e no terceiro trimestre [49 (DP=25)], mesmo ajustando por estação do ano. Lundqvist et al. (2016) observaram um aumento das concentrações de 25(OH)D ao longo da gestação, com maior aumento das gestantes que começaram o estudo no inverno e uma trajetória mais estacionária entre as que começaram no verão. A média de 25(OH)D nesse estudo no primeiro, segundo e terceiro trimestre foi 55,2 (DP=17,5), 60,2 (DP=22,5) e 64,6 (DP= 27,3) nmol/L, respectivamente.

Dessa forma, os estudos que observaram o comportamento longitudinal de 25(OH)D durante a gestação apresentam resultados controversos, e a estação do ano pode ser um fator de grande influência nas concentrações sanguíneas desse pro-hormônio ao longo desse período (FERNÁNDEZ-ALONSO et al., 2012; ZHANG et al., 2014; PRATUMVINIT et al., 2015). Além disso, a deficiências ou insuficiências dessa vitamina D durante a gestação podem estar associadas a desfechos gestacionais indesejáveis como à pré-eclâmpsia, diabetes mellitus gestacional, depressão, prematuridade, pequeno para a idade gestacional, baixo peso

ao nascer e autismo (CASSIDY-BUSHROWET et al., 2012; AGHAJAFARI et al., 2013; KELISHADI et al., 2013; MAZAHERY et al., 2016). No entanto, até o momento não foi possível comprovar uma relação de causa-efeito entre a vitamina D e esses desfechos. Assim, estudos que avaliam as concentrações de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D durante a gestação são de grande interesse para área da saúde materna e infantil (BRANNON; PICCIANO, 2011; HOLICK et al., 2011; MAEDA et al., 2014).

### 2.3 Vitamina D e sintomas depressivos

A vitamina D é considerada necessária para o adequado funcionamento do cérebro, pois apresenta diversas funções como neuroproteção, regulação dos fatores neurotróficos e síntese de serotonina e dopamina (MCCANN et al., 2008; FERNANDES DE ABREU et al., 2009; EYLES et al., 2013; PATRICK et al., 2014; ANNWEILER et al., 2014). Dessa forma, a vitamin D também está sendo investigada na fisiopatologia da depressão (ANGLIN et al., 2013).

Eyles et al. (2005) identificaram VDR em diversas áreas do encéfalo humano, principalmente no hipotálamo, substância negra, giro do cíngulo, hipocampo e no córtex pré frontal. Alterações de atividades neurofisiológicas nas áreas citadas já foram observadas em indivíduos com depressão (REYNOLDS et al., 2000; DREVETS et al., 2008; VILELA et al., 2014). Estas regiões também apresentam alta atividade da enzima 1α-hidroxilase nos neurônios e células glias, sugerindo atividades autócrinas e parácrinas da vitamina D (EYLES et al., 2005; EYLES et al., 2013).

Em uma revisão sistemática e meta-análise, os autores observaram que a depleção de vitamina D está associada com menor volume do cérebro humano (ANNWEILER et al., 2014). De fato, a vitamina D está envolvida em diversos processos cerebrais, como em relação a fatores neurotróficos e neuroproteção (FERNANDES DE ABREU et al., 2009; EYLES et al., 2013). A vitamina D regula fatores neurotróficos, como o fator de crescimento do nervo, por meio da diferenciação e maturação de neurônios (BROWN et al., 2003; EYLES et al., 2013). A função neuroprotetora de vitamina D está relacionada à síntese de proteínas de ligação de cálcio, como a parvoalbumina. Estas proteínas permitem a homeostase de cálcio no cérebro, estado importante para a atividade dos neurônios (FERNANDES DE ABREU et al., 2009).

Existem evidências que a vitamina D regula a síntese de serotonina pela transcrição do gene triptofano hidroxilase e de dopamina por meio da tirosina hidroxilase (EYLES et al., 2013; PATRICK et al., 2014). Cass et al. (2006) observaram também a proteção da vitamina

D contra a depleção de serotonina e dopamina. Estudos sugerem que alterações de aminas cerebrais, principalmente de serotonina e dopamina, estão relacionadas com a ocorrência de sintomas depressivos, que é reconhecido como a hipótese monoaminérgica da depressão (REMICK et al., 1990; SOARES; ZITEK, 2008; HASLER, 2010). Ademais, a ação de medicamentos antidepressivos, como os inibidores da monoaminooxidase, aumenta a concentração de serotonina e dopamina e têm sido eficazes no combate à depressão (REMICK et al., 1990).

Nesse sentido, os citados processos cerebrais justificam uma possível plausibilidade biológica entre vitamina D e sintomas depressivos. Estudos epidemiológicos reforçam essa relação, uma vez que verificaram associação inversa entre concentrações sanguíneas de vitamina D e sintomas depressivos em adultos saudáveis (HOANG et al., 2011; CHUNG et al. 2014; BLACK et al., 2014; KERR et al., 2015). Em contraste, outros estudos não apontaram a referida relação em adultos e idosos, o que demonstra a necessidade de mais investigações dessa natureza (PAN et al., 2009, ZHAO et al., 2010). Contudo, de acordo com uma revisão sistemática e meta-análise a associação entre baixas concentrações de vitamina D e aumento de sintomas depressivos em adultos e idosos apresentaram resultados consistentes (ANGLIN et al., 2013).

São escassos os estudos na literatura com essa temática envolvendo gestantes e puérperas saudáveis **(Quadros 2-3**). Murphy et al. (2010) em um estudo de coorte com 97 mulheres observaram que as puérperas com insuficiência de vitamina D apresentam um aumento no escore de sintomas depressivos em comparação com as que são suficientes ao longo do 1° ao 7° mês de pós parto. Em um estudo transversal realizado na Austrália com 796 mulheres, os autores observaram associação inversa entre concentrações séricas de vitamina D no 2° trimestre gestacional e sintomas depressivos no pós-parto imediato (ROBINSON et al., 2014). Gur et al. (2014) encontraram resultados similares em 179 gestantes na Turquia em uma coorte, na qual a vitamina D sérica foi coletada entre 24-28 semanas gestacionais e os sintomas depressivos durante a 1°, 6° semana e 6° mês de pós-parto.

Entretanto, em um estudo de caso-controle realizado na Dinamarca, não houve associação entre vitamina D sérica e depressão. A vitamina D foi coletada no 2° trimestre de gestação e a depressão em até 1 ano após o parto (NIELSEN et al., 2013). Porém, esse resultado pode ter sido enviesado, pois o critério utilizado para classificação dessas mulheres como depressivas foi o uso de medicamento antidepressivo (NIELSEN et al., 2013).

Accort et al. (2015) em um estudo com 91 gestantes afro-americanas observaram associação inversa entre concentrações de vitamina D avaliadas no 2° trimestre de gestação e

sintomas depressivos entre 4 e 6 semanas de pós-parto. Esse estudo também considerou as gestantes com altas concentrações de marcadores inflamatórios, sugerindo que a associação entre as concentrações de vitamina D e sintomas depressivos podem ser potencializadas na presença de inflamação.

Até o momento foram identificados apenas três estudos transversais e uma coorte que investigaram a associação entre vitamina D e sintomas depressivos durante a gravidez (CASSIDY-BUSHROW et al., 2012; BRANDENBARG et al., 2012; HUANG et al., 2014; WILLIANS et al., 2016). Brandenbarg et al. (2012) em uma pesquisa com 4.101 holandesas observaram que a deficiência ou insuficiência de vitamina D no primeiro trimestre foi associada com a ocorrência de sintomas depressivos no 2° trimestre de gestação. Huang et al. (2014) em um estudo com 498 mulheres americanas verificaram associação inversa significativa entre baixas concentrações de vitamina D e sintomas depressivos no início da gestação em mulheres que não praticavam atividade física de lazer. Willians et al. (2016) em uma coorte avaliaram 126 gestantes americanas com história de depressão ou com escore de EPDS mais elevado e encontraram que a vitamina D no início da gestação foi inversamente associada com sintomas depressivos no início e no final da gestação. Cassidy-Bushrow et al. (2012) em um estudo com 178 gestantes afro-americanas encontraram que a cada aumento de uma unidade de vitamina D no início da gestação reduz a chance de sintomas depressivos em 46%, entre 13–28 semanas gestacionais.

Contudo, os diferentes métodos de análise e pontos de corte de vitamina D utilizados dificultam a comparação dos resultados dos estudos, assim como os distintos instrumentos de avaliação de depressão. Ressalta-se que este transtorno mental é complexo e sua fisiopatologia não é totalmente esclarecida, e provavelmente tem múltiplas causas, incluindo um possível papel da vitamina D.

**Quadro 2.** Características gerais dos estudos que avaliaram a associação de vitamina D e sintomas depressivos em gestantes e puérperas.

| Autor, ano | Origem Cidade (país) | Desenho de estudo | Período de avaliação (média/mediana de semanas gestacionais) | | Vitamina D | | Depressão | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 25(OH)D | Depressão | Método de análise | Ponto de corte (nmol/L) | Instrumento | Pontos de corte |
| Cassidy-Bushrowet et al., 2012 | Detroit (EUA) | Transversal | 9,5 | 13–28 | ECLIA | Deficiente < 30<br>Inadequado 30-50<br>Suficiente ≥50 | Escala CES-D | ≥16 |
| Brandenbarg et al., 2012 | Amsterdam (Holanda) | Transversal | 13 | 16 | ELISA | Deficiente ≤ 29,9<br>Insuficiente 30-49,9<br>Suficiente 50-79,9<br>Normal ≥ 80 | Escala CES-D | ≥16 |
| Robinson et al., 2014 | Perth (Austrália) | Transversal | 18[a] | 3[a] | ELISA | Q1 <47<br>Q2 47–58<br>Q3 59–70<br>Q4 >70 | EPDS* | ≥6 |
| Huang et al., 2014 | Washington (EUA) | Transversal | 15,4 | 15,4 | HPLC/MS | Q1 98,6<br>Q2 85,2- 95,5<br>Q3 72.25 – 85,1<br>Q4 < 72,2 | PHQ-9<br>DASS-21 | ≥10 |
| Accort et al., 2015 | Detroit (EUA) | Transversal | 13-28 | 4[b]-6[b] | ELISA | _____ | EPDS | ≥12 |
| Nielsen et al., 2013 | Copenhagen (Dinamarca) | Caso-controle | 24 (casos)<br>25 (controles) | 1[c] | HPLC/MS | C1 < 15<br>C2 15-24<br>C3 25-49<br>C 4 50-79<br>C5 80-99<br>C6 ≥100 | Casos: Mulheres com tratamento farmacológico para depressão.<br>Controle: Mulheres sem tratamento. | |

**Quadro 2.** Características gerais dos estudos que avaliaram a associação de vitamina D e sintomas depressivos em gestantes e puérperas (continuação).

| Autor, ano | Origem Cidade (país) | Desenho de estudo | Período de avaliação (média de semana gestacional) | | Vitamina D | | Depressão | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 25(OH)D | Depressão | Método de análise | Ponto de corte (nmol/L) | Instrumento | Pontos de corte |
| Murphy et al., 2010 | Charleston (EUA) | Coorte | 1 [d] -7 [d] | 1 [d] -7 [d] | RIA | Insuficiência ≤80<br>Suficiência >80 | EPDS | ≥9 |
| Gur et al., 2014 | İzmir (Turquia) | Coorte | 24-28 | 1[b], 6[b], 6[d] | ELISA | Deficiência grave ≤25<br>Deficiência leve ≤50<br>Normal >50 | EPDS | ≥12 |
| Willians et al., 2016 | Ann Arbor (EUA) | Coorte | 12-20 / 26-28 / 34-36 / 6[b]-8[b] | 12-20 / 26-28 / 34-36 / 6[b]-8[b] | RIA | Insuficiência< 100<br>Suficiência ≥ 100 | BDI<br>MINI | Continua<br>Sim/não (diagnóstico) |

Nota: 25(OH)D=25-hidroxivitamina D; [a]=dia de pós parto; [b:]=semana de pós parto; [c]=até 1 ano de pós-parto; [d]=meses de pós parto; Q=quartil; C=categorias. BDI=*Beck Depression Inventory*; CES-D=*Center for Epidemiologic Studies-Depressio*; DASS-21=*Anxiety Stress Scale-21*; ECLIA=*Electrochemiluminescent Immunoassa*; ELISA=*Enzyme-linked immunosorbent assay;* EPDS=*Edinburgh Postnatal Depression Scale*; EPDS*=escala reduzida para 6 questões; HPLC/MS=*High-performance liquid chromatography/Mass Spectrometry*; MINI=*Mini International Neuropsychiatric Interview*; PHQ-9=*Patient Health Questionnaire*; RIA=Radioimunuensaio.

**Quadro 3.** Principais resultados dos estudos que avaliaram a associação de vitamina D e depressão em gestantes e puérperas.

| Autor, ano | Tamanho amostral | Teste estatístico e ajuste das variáveis | Principais resultados |
|---|---|---|---|
| Cassidy-Bushrowet et al., 2012 | 178 | Regressão logística multivariada ajustada por idade gestacional, educação, estado marital e estação do ano. | Observou-se associação inversa significativa entre vitamina D e sintomas depressivos (OR ajustado 0,54; IC95% 0,29-0,99, p-valor=0,046). Mulheres com concentrações séricas de vitamina D adequadas apresentaram 80% menos chances de ter sintomas depressivos (OR ajustado 0,20, IC95% 0,07-0,59, p-valor=0,004) em comparação com as deficientes. |
| Brandenbarg et al., 2012 | 4.101 | Regressão logística multivariada ajustada por idade, paridade, cor da pele, IMC pré-gestacional, fumo, consumo de bebida alcóolica, desejo de engravidar, escolaridade, estado marital e emprego. | Gestantes que apresentaram deficiência (OR 1,48 IC95% 1,13-1,95) e insuficiência (OR 1,44 IC95% 1,12-1,85) de vitamina D apresentaram maior chance de sintomas depressivos. |
| Robinson et al., 2014 | 796 | Regressão logística multivariada ajustada para IMC pré-gestacional, fumo, álcool, idade gestacional, educação, renda familiar, desordens gestacionais hipertensivas, sexo do recém-nascido, e recém-nascido na unidade de terapia intensiva neonatal e estação do ano do nascimento da criança. | Mulheres classificadas no Q1 de 25(OH)D tiveram mais chances de ter sintomas depressivos em comparação com as mulheres do Q4 (OR 2,72 IC95% 1,42-5,22, p-valor< 0,01). |
| Huang et al., 2014 | 498 | Regressão linear multivariada ajustada por estação do ano, idade gestacional, idade, IMC pré-gestacional, fumo, cor da pele, educação, e estado marital. | Verificou-se associação inversa entre concentrações séricas de 25(OH)D e sintomas depressivos em gestantes que não relataram atividade física de lazer (PHQ-9, p-valor=0,05 e DASS-21 p-valor=0,018). |
| Accort et al., 2015 | 91 | Regressão linear multivariada ajustada por idade, escolaridade, estado marital, histórico de depressão, estação do ano e IMC pré-gestacional. | Houve uma associação *bordeline* inversa entre as concentrações de vitamina D na gestação e sintomas depressivos no pós-parto (β=−0,209, p-valor=0,058). Observou-se também associação entre baixas concentrações de vitamina D e aumento de sintomas depressivos em mulheres com maior perfil inflamatório (p-valor<0,05). |
| Nielsen et al., 2013. | Casos: 605 Controles: 875 | Regressão logística ajustada por idade gestacional, ano do parto, estação do ano na coleta de sangue, paridade, tabagismo durante a gravidez, situação socioeconômica, IMC pré-gestacional, atividade física durante a gestação, apoio social e uso suplemento multivitamínico durante gravidez. | Não houve associação significativa entre concentrações séricas de vitamina D e depressão C1= (OR 1,3 IC95% 0,62-2.71), C2 =(OR 0,83 IC95% 0,50-1,37), C3 (OR 1.14 IC95% 0,85-1,52), C5= (OR 1,53 IC95% 1,05-2,24), C6= (OR 1,84 IC95% 1.04- 3,26) em comparação com C4 (referência), (p-valor=0,08). |

**Quadro 3.** Principais resultados dos estudos que avaliaram a associação de vitamina D e depressão em gestantes e puérperas (continuação).

| Autor, ano | Tamanho amostral | Teste estatístico e ajuste das variáveis | Principais resultados |
|---|---|---|---|
| Murphy et al., 2010 | 97 | Modelo longitudinal de regressão linear com efeitos mistos ajustado por idade, escolaridade, cor da pele, insegurança, estação do ano, estado marital, média de escore de depressão no início do estudo, suplementação de vitamina D e gravidez planejada. | As puérperas que apresentam insuficiência de vitamina D apresentam um aumento de 0,761 no escore de sintomas depressivos em comparação com as que são suficientes, p-valor=0,02. |
| Gur et al., 2014 | 179 | Chi-quadrado<br>Correlação de Pearson | Houve diferença entre as médias de concentrações séricas de 25(OH)D, que foram mais baixas entre mulheres com sintomas depressivos em relação as mulheres sem esses sintomas durante 1°, 6° semana e 6° mês de pós parto (p-valor=0,003, p-valor=0,004 e p-valor<0,001, respectivamente). As médias de pontos de EPDS também foram menores entre as mulheres adequadas quando comparada com as deficientes em vitamina D nos três períodos analisados (p-valor=0,002, <0,001, 0,001, respectivamente). Além disso, observou-se uma correlação negativa significante de concentração sérica de vitamina D e EPDS em todos os três seguimentos (r= -0,2, -0,2, -0,3, respectivamente). |
| Willians et al., 2016 | 126 | ANCOVA ajustado por estação do ano<br>ANOVA para medidas repetidas<br>Teste exato de Fischer | A cada uma unidade de aumento de vitamina D no inicio da gestação diminui o escore de sintomas depressivos em 0,14 unidades durante 12-20 (IC95% -0,26 -0,017) e 34-36 (IC95% -0,27-0,011)semanas gestacionais (p-valor<0,05). A insuficiência de vitamina D no inicio do estudo foi associada com maior escore de sintomas depressivos durante 34–36 de gestação. |

Nota: P=p-valor; β=coeficiente de regressão linear; IC 95%=Intervalo de confiança 95%; OR=Razão de chances; r=coeficiente de correlação de Pearson; Q=quartil; C=categorias; 25(OH)D=25-hidroxivitamina D; DASS-21=*Anxiety Stress Scale-21*; EPDS=*Edinburgh Postnatal Depression Scale*; PHQ-9=*Patient Health Questionnaire*.

## 3. JUSTIFICATIVA

A gestação é um período suscetível ao aumento de sintomas depressivos e, também, de maior requerimento de vitamina D em relação a outras fases da vida adulta. A alta prevalência de depressão e insuficiência de vitamina D durante a gestação são importantes problemas de saúde pública no mundo, devido às intercorrências maternas e fetais que estão relacionados.

Dessa forma, existe um grande interesse em estudos sobre a vitamina D e/ou depressão durante a gestação. Além disso, estudos recentes observaram a associação inversa entre as concentrações de vitamina D e sintomas depressivos, porém os resultados são controversos. Ademais, existe grande variação nos métodos empregados nos diferentes estudos, como gestantes de alto ou baixo risco, método de análise da vitamina D, instrumento para avaliar sintomas depressivos e ajustes por fatores de confusão. Assim, os resultados dessa dissertação podem contribuir com novas evidências em relação a associação entre as concentrações de vitamina D e sintomas depressivos, importantes para preencher lacunas na literatura e estimular outros autores a realizarem mais investigações com essa temática. Além disso, são escassos estudos longitudinais que avaliaram a associação entre as concentrações de vitamina D e sintomas depressivos, principalmente durante a gestação.

Ressalta-se, que as gestantes residentes em países em desenvolvimento podem ser mais vulneráveis a depressão, pois apresentam prevalências mais elevadas de sintomas depressivos do que as gestantes de países desenvolvidos. Ademais, existe grande interesse em fatores modificáveis, como as concentrações de vitamina D para a prevenção ou tratamento da depressão. Por sua vez, a importância da avaliação das concentrações sanguiénas desse pró-hormônio pode ser negligenciada em regiões tropicais, como o Brasil.

A confirmação da associação entre as concentrações plasmáticas de vitamina D e sintomas depressivos poderá auxiliar também na prevenção de outros desfechos gestacionais indesejáveis, como depressão pós-parto, prematuridade e baixo peso ao nascer. Adicionalmente, os resultados desse estudo poderão reforçar a necessidade de orientações nutricionais e de estilo de vida na atenção ao pré-natal.

# 4. HIPÓTESES

## 4.1 Hipótese I

As mulheres com concentrações insuficientes de vitamina D no início da gestação apresentam maior aumento das concentrações plasmáticas de $1,25(OH)_2D$ ao longo desse período em relação as mulheres com concentrações suficientes.

## 4.2 Hipótese II

As baixas concentrações plasmáticas de 25(OH)D e $1,25(OH)_2D$ aumentam a chance de ter sintomas de depressão ao longo desse período em mulheres aparentemente saudáveis.

# 5. OBJETIVOS

## 5.1 Objetivo geral

Investigar se a adequação de vitamina D no início da gestação influencia a trajetória de concentrações plasmáticas de 1,25$(OH)_2$D, e estimar a associação entre concentrações plasmáticas de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D e a ocorrência de sintomas depressivos durante a gravidez.

## 5.2 Objetivos específicos

### 5.2.1 Artigo 1

(i) Descrever as características sociodemográficas, reprodutivas e de estilo de vida das gestantes no primeiro trimestre de gestação de acordo com a adequação de vitamina D;

(ii) Estimar a prevalência de gestantes com deficiência, insuficiência e suficiência de vitamina D no primeiro, segundo e terceiro trimestre de gestação;

**(**iii**)** Avaliar a trajetória das concentrações plasmáticas de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D ao longo da gestação de acordo com a estação do ano do recrutamento;

(iv) Avaliar a trajetória das concentrações plasmáticas de 1,25$(OH)_2$D ao longo da gestação de acordo com a adequação de vitamina D no início do estudo.

### 5.2.2 Artigo 2

(i) Descrever as características sociodemográficas, reprodutivas e de estilo de vida das gestantes no primeiro trimestre de acordo com a presença ou não de sintomas depressivos;

(ii) Estimar a prevalência de sintomas depressivos durante o primeiro, segundo e terceiro trimestre gestacional;

(iii) Estimar a associação entre as concentrações plasmáticas de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D e a ocorrência de sintomas depressivos em cada trimestre gestacional.

# 6. MÉTODOS

## 6.1 Desenho do estudo

Esse projeto faz parte de um estudo maior, que consiste em uma coorte prospectiva realizada na 5ª-13ª (início do estudo), 20ª-26ª, 30ª-36ª semanas gestacionais e 30-40 dias após o parto. O estudo foi desenvolvido no Centro Municipal Heitor Beltrão (CMSHB) na cidade do Rio de Janeiro. A presente dissertação utilizou apenas os seguimentos realizados durante a gestação **(Figura 4)**.

## 6.2 Captação dos participantes

As mulheres que compareceram a primeira consulta de pré-natal ou que obtiveram resultado positivo no teste imunológico de gravidez foram abordadas e informadas sobre o estudo. A captação teve entrada livre de gestantes que foram acompanhadas uma vez por trimestre, e ocorreu no período de novembro de 2009 a outubro de 2011.

### 6.2.1 Critérios de elegibilidade

Foram recrutadas 299 mulheres com baixo risco gestacional e que atenderam aos seguintes critérios de elegibilidade: ter entre 5 e 13 semanas de gestação; idade entre 20 e 40 anos; estar livre de doenças infecciosas e crônicas não transmissíveis (exceto obesidade, IMC $\geq$ 30 kg/m$^2$), residir na área programática e realizar o acompanhamento pré-natal no local do estudo.

### 6.2.2 Critérios de exclusão

Depois de entrar no estudo foram excluídas as mulheres que confirmaram o diagnóstico de doenças crônicas não transmissíveis (n=12), diagnóstico de doenças infecciosas (n=9), apresentaram gestação gemelar (n=4), dados faltantes na primeira onda de seguimento (n=20) e realizaram aborto (n=25).

Adicionalmente para o artigo 1 foram excluídas as mulheres sem informação para a variável concentrações plasmáticas de 25(OH)D (n=30) ou 1,25(OH)2D (n=23) no primeiro trimestre. Assim, para a análise de 25(OH)D, a amostra foi composta por 199 gestantes no primeiro, 188 no segundo e 178 no terceiro trimestre. Em relação a 1,25(OH)2D foram 178, 177 e 167 gestantes no primeiro, segundo e terceiro trimestre, respectivamente.

Para o artigo 2 foram excluídas as mulheres que não apresentaram dados para a EPDS (n=5), 25(OH)D (n=30), 1,25(OH)2D (n=20), uso de antidepressivo no início do estudo (n=3),

natimorto (n=5), dados faltantes para a variável história prévia de depressão (n=2) e variáveis de ajuste (n=5). Além disso, no segundo trimestre um grupo de 41 gestantes foram convidadas a participar de um ensaio clínico para avaliar o efeito da suplementação de omega-3 na prevenção de depressão pós parto. Todas as mulheres que participaram do ensaio clínico (grupo experimental e controle) foram excluídas da análise no terceiro trimestre. Dessa forma, a amostra do segundo artigo foi composta por 179, 156 e 128 mulheres para análise de 25(OH)D no primeiro, segundo e terceiro trimestre de gestação, respectivamente e 159, 143 e 118 mulheres para análise de 1,25$(OH)_2$D no primeiro, segundo e terceiro trimestre, respectivamente.

### 6.3 Treinamento e estudo piloto

Foram elaborados protocolos para a aplicação dos questionários utilizados e os entrevistadores foram devidamente treinados. O estudo piloto foi realizado no CMSHB, com o objetivo de testar os instrumentos de coleta de dados, no período de setembro a outubro de 2009. Assim, foram propostas e executadas modificações nos questionários e aperfeiçoamento da avaliação antropométrica e logística do estudo.

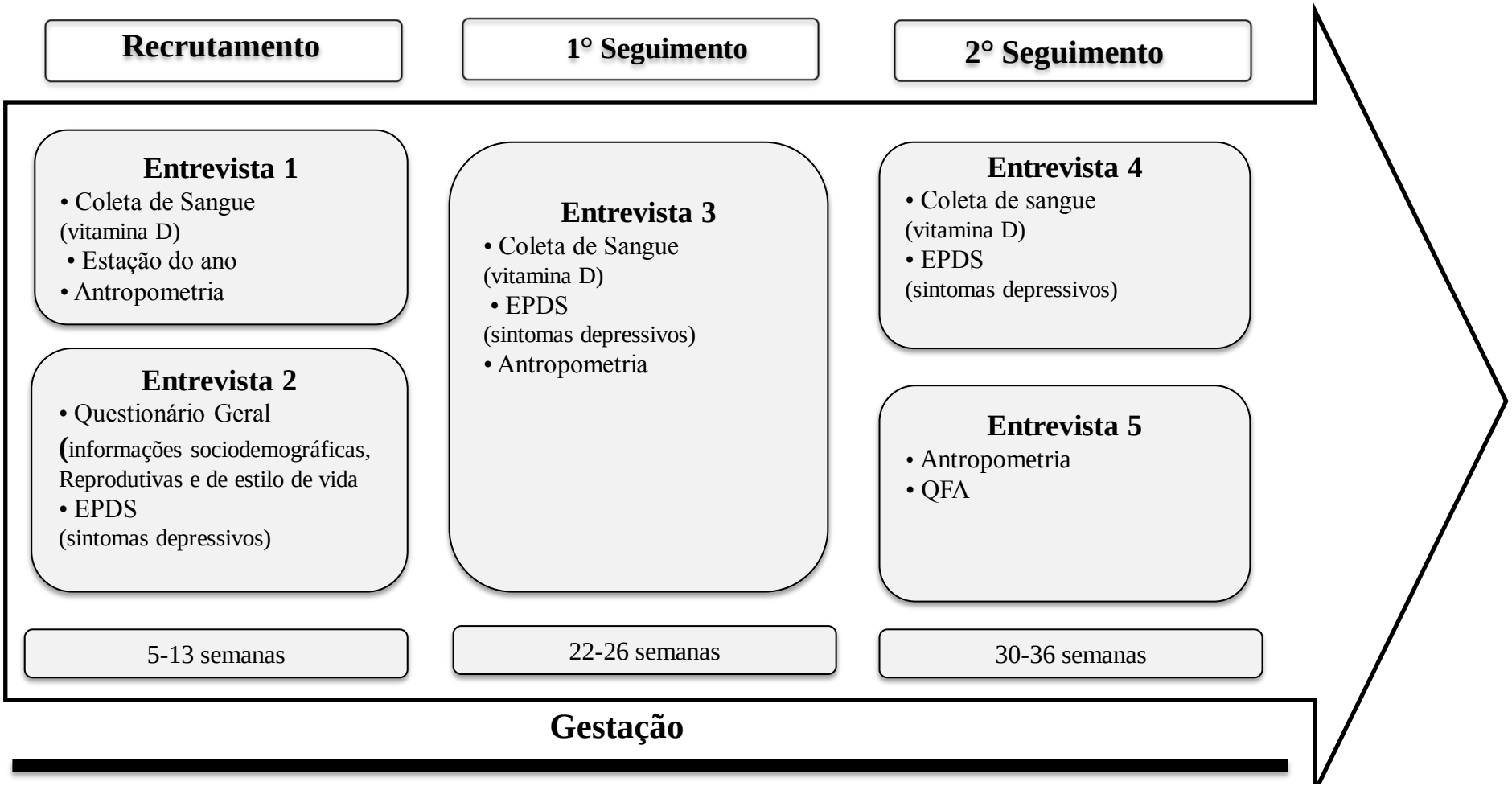



**Figura 4**. Fluxograma do estudo.

**Nota:** EPDS= Escala de Depressão Pós-Parto de Edimburgo; QFA = Questionário de Frequência Alimentar.

## 6.4 Variáveis do estudo

### 6.4.1 Concentrações plasmáticas de 25(OH)D e 1,25(OH)$_2$D ao longo da gestação

As participantes fora orientadas a realizar jejum de pelo menos 12 horas para realizar a coleta de sangue que ocorria entre 6h50 e 7h50 horas, por profissional capacitado no CMSHB. As amostras de sangue foram coletadas nos três trimestres da gestação. Após a coleta, as amostras foram imediatamente centrifugadas a 5.000 rpm por 5 minutos, e o soro e o plasma separados. As amostras foram transportadas em botijão criogênico para o Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e em seguida armazenadas a -80° C.

As concentração plasmáticas de 25(OH)D e 1,25(OH)$_2$D foram avaliadas por meio de cromatografia liquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa (HPLC/MS). As análises foram realizadas pelo laboratório Quest Diagnostics Nichols Institute (San Juan Capistrano, CA, EUA) que é certificado pelo programa de padronização de hormônios conduzido pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças para realização da HPLC/MS considerado o método padrão ouro para a análise de vitamina D.

Em síntese, esse método é realizado por extração via precipitação de proteínas seguida por separação pela cromatografia líquida e posteriormente pela detecção e quantificação por meio de espectrometria de massa. A faixa de medição analítica é de 19-960 pmol/L e 10-640 nmol/L para for 1,25(OH)$_2$D e 25(OH)D, respectivamente. O coeficiente de variação é <10%.

As concentrações plasmáticas de 25(OH)D durante a gestação foram categorizadas em deficiente (<30 nmol/L), insuficiente (30-<50 nmol/L) e suficiente (≥50 nmol/L) segundo os pontos de corte propostos pela IOM (IOM, 2011), e também de acordo com a Sociedade Americana de Endocrinologia: deficiente (<50 nmol/L), insuficiente (50-<75 nmol/L) e suficiente (≥75 nmol/L) (HOLICK et al., 2011). Além disso, o estado da vitamina D também foi analisado como inadequado (<75 nmol/L) e adequado (≥75 nmol/L nmol/L) de acordo com a Sociedade Americana de Endocrinologia e como inadequado (<50 nmol/L) e adequado (50nmol/L) segundo a IOM .

Vale ressaltar que a 1,25(OH)$_2$D e 25(OH)D armazenada sob condições adequadas apresenta estabilidade de mais de 10 anos após a coleta de sangue (JOERGENSES et al., 2010; EL-KHOURY; WANG, 2012).

### 6.4.2 Sintomas depressivos durante a gestação

Os sintomas depressivos foram avaliados por meio da EPDS, aplicada nos três trimestres gestacionais por entrevistadores treinados. Essa escala é composta por dez itens, cada um com quatro opções de resposta, com pontuações que variam entre zero e três, de acordo com a presença e a intensidade do sintoma depressivo. Assim, o escore total pode variar de zero (nada deprimido) a trinta (muito deprimido) e representa os sintomas de humor da mãe nos últimos sete dias. A EPDS foi desenvolvida para uso em puérperas por Cox et al. (1987) e posteriormente foi validada para ser utilizada em gestantes por Murray e Cox (1990). No Brasil, Santos et al. (2007) validaram a EPDS em um estudo com puérperas em Pelotas no Rio Grande do Sul. No presente estudo, os sintomas depressivos foram categorizados em ≥13 e <13 para a presença ou ausência de sintomas depressivos, respectivamente. Esse ponto de corte apresenta sensibilidade de 59,5% e especificidade de 88,4% e é indicado para gestantes de risco para a depressão (SANTOS et al., 2007).

### 6.4.3 Covariáveis do estudo

Um questionário estruturado foi aplicado na linha de base da coorte para coletar informações socioeconômicas, demográficas, reprodutivas e de estilo de vida (**Anexo 2**). As seguintes variáveis foram coletadas: idade (anos), escolaridade (<8/≥8 anos), tabagismo atual (sim/não), consumo atual de bebida alcoólica (sim/não), estado marital (casado/união estável e solteiro), renda familiar per-capita (reais), paridade (número de parto), cor da pele auto declarada (branco/negro e outros), e prática de atividade física de lazer antes da gestação (sim/não). Adicionalmente para a análise da segunda hipótese também foram considerados as variáveis desejo de engravidar (sim/não) e o histórico de depressão (sim/não), avaliado pelo *Mini International Neuropsychiatric Interview*.

A estação do ano na linha de base (primavera, verão, outono e inverno) foi avaliada por meio da data da coleta de sangue realizada no início do estudo.

A ingestão dietética de vitamina D e cálcio foi obtida por meio do Questionário de Frequência Alimentar (QFA) semiquantitativo, com 82 itens validado por Sichieri et al. (1998), composto por oito opções de resposta relativas à frequência de consumo (3x/dia; 2 a 3x/dia; 1x/dia; 5 a 6x/semana; 2 a 4x/semana; 1x/semana; 1 a 3x/mês e nunca ou quase nunca). Esse instrumento foi aplicado durante o primeiro e terceiro trimestre gestacional pelos pesquisadores treinados, porém foi utilizado apenas o último, pois corresponde ao consumo habitual dos últimos seis meses. A tabela de composição nutricional dos alimentos do

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística foi utilizada para analisar a quantidade de vitamina D e cálcio dietético (IBGE, 2011).

As mensurações antropométricas foram realizadas com procedimentos padronizados segundo Lohman *et al*. (1988). O peso corporal das mulheres foi aferido por meio de balança digital (Filizola Ltd., São Paulo, Brasil) antes da 13ª semana gestacional. A estatura foi medida utilizando estadiômetro (Seca Ltd., Hamburgo, Alemanha). Adicionalmente, o peso pré-gestacional referido foi coletado para ser utilizado para o calculo do Índice de Massa Corporal (IMC) utilizando a fórmula: peso (kg)/estatura$^2$ (m).

A idade gestacional das mulheres foi calculada com base na informação do primeiro exame de ultrassonografia (USG) quando esse exame foi realizado até 24ª semanas de gestação. A data da última menstruação (DUM) foi utilizada para estimar a semana gestacional caso a gestante tenha realizado a USG depois de 24ª semanas de gestação.

## 6.5 Análises estatísticas

### 6.5.1 Análise descritiva

A normalidade foi testada por meio da construção de histogramas, gráficos de dispersão e, adicionalmente, pelo teste de Shapiro-Wilk. Os gráficos construídos durante análise exploratória dos dados são apresentados no **Anexo 3**. Foi realizada a análise exploratória de todos os dados para descrever as medidas de dispersão amostral, média e desvio-padrão e mediana e intervalo interquartilar, para as variáveis com e sem distribuição normal, respectivamente. Os dados categóricos foram apresentados como frequências e proporção (%).

#### 6.5.1.1 Artigo I

As características sociodemográficas, reprodutivas e de estilo de vida das gestantes na linha de base foram comparadas de acordo com a deficiência, insuficiência e suficiência de vitamina D no primeiro trimestre de acordo com o IOM e a Sociedade Americana de Endocrinologia. Utilizou-se ANOVA para comparar as médias e o teste de Bonferroni como teste *post hoc*. O teste chi-quadrado foi realizado para comparar proporções. O coeficiente de correlação de Pearson foi calculado entre a 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D no primeiro, segundo e terceiro trimestre de gestação.

#### 6.5.1.2 Artigo II

As características das gestantes no início do estudo foram analisadas de acordo com a presença ou não de sintomas. O teste t student's foi utilizado para comparar médias, teste de U Mann-Whitney para as medianas e o teste chi-quadrado para proporções. O teste Exato de Fisher's foi aplicado para comparar proporções que apresentam n menor que 5. A prevalência de sintomas depressivos durante o primeiro, segundo e terceiro trimestre foram comparadas pelo teste de McNemar.

### 6.5.2 Análises longitudinais

#### 6.5.2.1 Artigo I

Modelos de regressão linear de efeitos mistos (LME) foram realizados considerando todos os indivíduos. Este modelo permite a utilização de variáveis tempo-dependente e tempo-independente, medidas de tempo não equidistantes, considera a associação de medidas repetidas e também é adequado em modelos que apresentam dados faltantes (PINHEIRO; BATES, 2003; SINGER; WILLET, 2003).

O LME foi empregado para avaliar as análises longitudinais bivariada e multivariada do estudo. A variável tempo, representada pela semana gestacional, foi incluída em todos os modelos como efeito fixo e aleatório.

Análises de interação foram verificadas entre a estação do ano no recrutamento e a semana gestacional para avaliar o comportamento das concentrações de 25(OH)D ao longo da gestação. A interação entre a adequação de vitamina D no primeiro trimestre e a semana gestacional também foi avaliada para explorar a variação nas concentrações de $1,25(OH)_2D$ ao longo desse período.

As variáveis de ajuste foram selecionadas de acordo com a plausibilidade biológica e análise bivariada com p-valor<0,2 com o desfecho. As seguintes variáveis foram utilizadas como ajuste para análise da associação entre as concentrações de 25(OH)D ao longo da gestação de acordo com a estação do ano no recrutamento: paridade, escolaridade, cor da pele auto declarada e IMC pré-gestacional. As variáveis citadas no modelo anterior e a estação do ano foram utilizadas como ajuste para análise das concentrações de $1,25(OH)_2D$ durante a gestação de acordo com a adequação de vitamina D no primeiro trimestre.

#### 6.5.2.2 Artigo II

A regressão logística com intercepto randomizados para medidas repetidas foi utilizada para avaliar associação entre as concentrações de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D no primeiro trimestre e a ocorrência de sintomas depressivos ao longo da gestação. A análise de probabilidade de ter sintomas depressivos ao longo da gestação de acordo com as concentrações de 25(OH)D e 1,25$(OH)_2$D no primeiro trimestre também foi utilizada.

As variáveis de ajuste foram selecionadas baseadas no modelo de diagrama de ciclo causal (DAG, sigla derivada do inglês *Directed Acyclic Graph*). Trata-se de um modelo gráfico que tem como função identificar a presença de confundimento e maneiras de resolvê-lo com mínimos ajustes para estimar efeitos causais entre a exposição e o desfecho, além de permitir uma representação visual da relação entre as mesmas. A construção e análise do DAG é realizada por meio do *sofware* DAGitty, e encontra-se disponível online em www.dagitty.net (TEXTOR et al., 2011). O presente modelo sugeriu que as análises fossem ajustadas por idade, IMC pré-gestacional, cor da pele, escolaridade, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e histórico de depressão (**Figura 5)**.

A escolha do melhor modelo longitudinal para o artigo 1 e artigo 2 foi realizada com base em dois critérios globais: Razão de Máxima Verossimilhança Restrita e o Critério de Informação de Akaike. A dependência entre os dados foi analisada por meio da matriz de covariância não estruturada. Foram considerados estatisticamente significativos valores de p-valor<0,05.

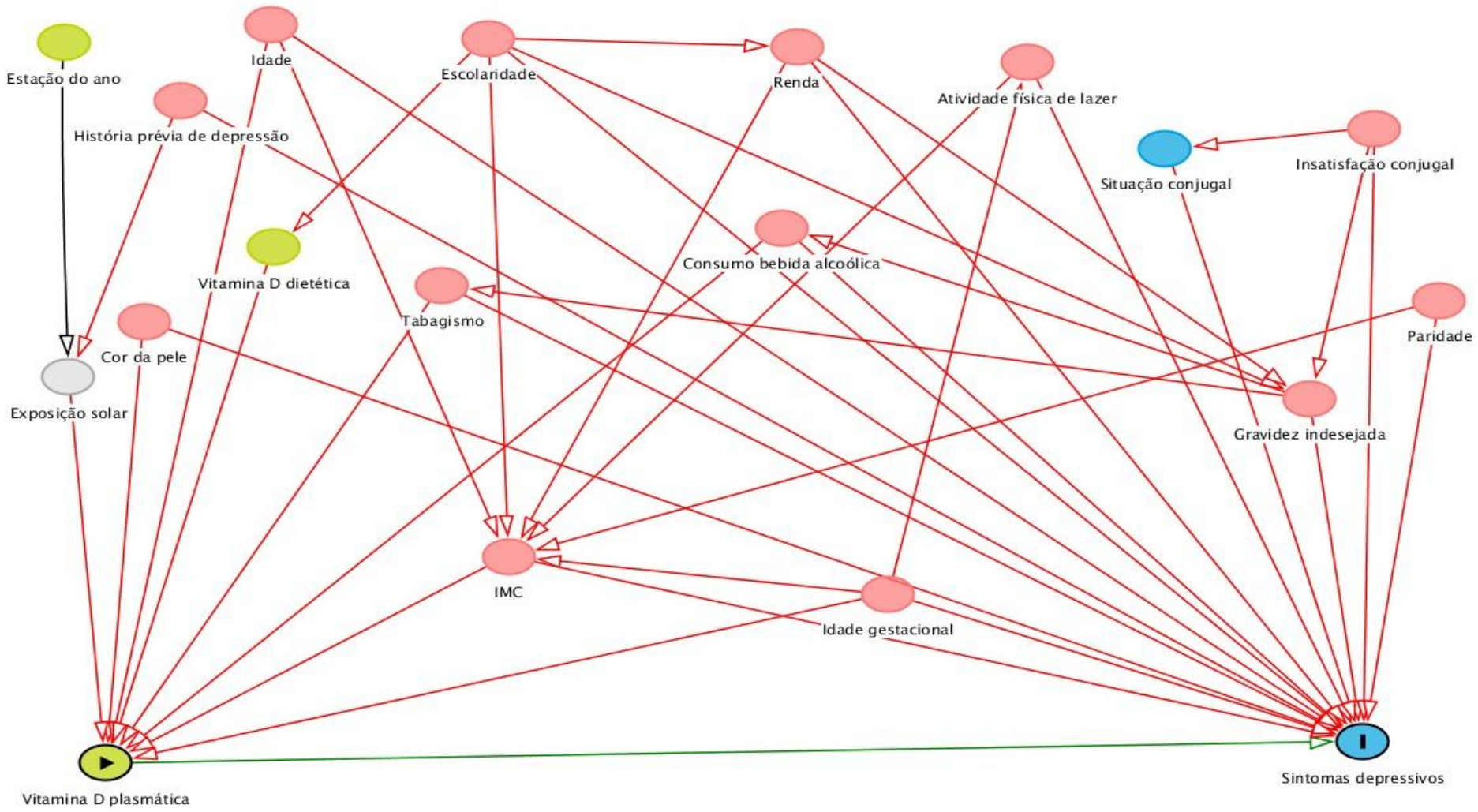



**Figura 5.** Modelo de diagrama causal referente às concentrações plasmáticas de vitamina D e os sintomas depressivos.
Legenda: exposição; desfecho; antecede a exposição; antecede o desfecho; antecede a exposição e desfecho; Variável não observada (não coletada).
Nota: Ajuste mínimo suficiente= idade, IMC, cor da pele, escolaridade, consumo de bebida alcoólica, tabagismo e prévia história de depressão. IMC = Índice de Massa Corporal.

### 6.5.3 Banco de dados e software para análise estatística

O banco de dados foi construído a partir de dupla digitação, seguida de análise de consistência dos dados. Ambos os procedimentos foram realizados no Census and Survey Processing System (CSPro) versão 4.1. As análises foram realizadas no software estatístico Stata, versão 12.0 e no R, versão 3.3.1 (**Anexo 4**).

## 7. Questões éticas

O estudo maior foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Maternidade Escola da UFRJ, do Instituto de Psiquiatria da UFRJ (CAAE: 0012.0.249.000-09) e da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (CAAE: 0139.0.314.000-09) (**Anexo 5**). A proposta do estudo está em acordo no que diz respeito aos princípios éticos de não maleficência, beneficência, justiça e autonomia, contidos na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 1996 - Resolução n° 196/96) e suas leis complementares (CSN, 1999 - Resolução n° 292/99).

A participação na pesquisa foi condicionada à assinatura de duas vias do termo de consentimento, que foi obtido, de forma livre e espontânea, após terem sido feitos todos os esclarecimentos pertinentes sobre o presente estudo **(Anexo 6)**.

# 8. RESULTADOS

A seção de resultados foi dividida em dois artigos elaborados para a dissertação de mestrado.

8.1 Artigo 1. *Changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D during pregnancy: A Brazilian cohort*/Alterações das concentrações plasmáticas de 25-hidroxivitamina D e *1*,25-dihidroxivitamina D durante a gestação: Uma coorte brasileira.

8.2 Artigo 2. *Association between plasma concentrations of vitamin D metabolites and depressive symptoms throughout pregnancy in a prospective cohort of Brazilian women./* Associação entre as concentrações plasmáticas de métabolitos da vitamina D e sintomas depressivos durante a gestação: Uma coorte brasileira.

## 8.1 *Changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D during pregnancy: A Brazilian cohort*

*Abstract*

*Purpose*. To characterize the physiological changes in 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] and 1,25-dihydroxivitamin D [1,25$(OH)_2$D] throughout pregnancy. *Methods.* Prospective cohort of 229 apparently healthy pregnant women followed at $5^{th}$-$13^{th}$, $20^{th}$-$26^{th}$ and $30^{th}$-$36^{th}$ gestational weeks. 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations were measured by LC-MS/MS. Statistical analyses included longitudinal linear mixed-effects models adjusted for parity, season, education, self-reported skin color and pre-pregnancy BMI. Vitamin D status was defined based on 25(OH)D concentrations according to the Endocrine Society Practice Guideline and Institute of Medicine (IOM) for adults. *Results.* The prevalence of 25(OH)D <75 nmol/L was 70.4%, 41.0% and 33.9%; the prevalence of 25(OH)D <50 nmol/L was 16.1%, 11.2% and 10.2%; and the prevalence of 25(OH)D <30 nmol/L was 2%, 0% and 0.6%, at the first, second and third trimester, respectively. Unadjusted analysis showed an increase in 25(OH)D (β=0.869; 95%CI, 0.723-1.014; P<0.001) and 1,25$(OH)_2$D (β=3.878; 95%CI, 3.136-4.620; P<0.001) throughout pregnancy. Multiple adjusted analyses showed that women who started the study in winter (P<0.001), spring (P<0.001) or autumn (P=0.028) presented a longitudinal increase in 25(OH)D concentrations, while women that started during summer did not. Increase of 1,25$(OH)_2$D concentrations over time in women with insufficient vitamin D (50-75 nmol/L) at baseline was higher compared to women with sufficient vitamin D (≥75 nmol/L) (P=0.006). *Conclusions.* The prevalence of vitamin D inadequacy varied significantly according to the adopted criteria. There was a seasonal variation of 25(OH)D during pregnancy. The women with insufficient vitamin D status present greater longitudinal increases in the concentrations of 1,25$(OH)_2$D in comparison to women with sufficiency.

*Keyword*: Vitamin D; pregnancy; micronutrients; cohort; tropical country; seasons.

*Introduction*

Vitamin D deficiency or insufficiency is considered to be a global public health problem [1-2] with an estimated 1 billion people affected worldwide [3]. Pregnant women have been identified as a high-risk group for vitamin D deficiency [4], even in sunny regions [5-7]. Vitamin D is a pro-hormone with an important role in maintaining bone health [3]. Low vitamin D status during pregnancy has been associated with non-skeletal maternal and child outcomes such as preeclampsia, gestational diabetes mellitus, preterm birth, small for gestational age, and low birth weight [5,8]. These pregnancy complications continue to be important public health problems in Brazil [9-12].

Vitamin D can be obtained from foods and supplements, but the main source is sun exposure enabling synthesis in the skin induced by ultraviolet B radiation (wavelengths 290–315 nm) [3,13-14]. It is known that maternal vitamin D concentrations can be influenced by skin pigmentation, age, season, sunscreen use, latitude, physical activity, obesity status, atmospheric pollution, blood concentrations of parathyroid hormone, calcium and phosphorus [3,5,15-18].

Vitamin D from the skin and the diet is converted in the liver into 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] which is then metabolized in the kidneys to its active form, 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25$(OH)_2$D] by the 1α-hydroxylase enzyme. Due to the short biological half-life of 1,25$(OH)_2$D, vitamin D status is usually determined by measuring the 25(OH)D concentrations, which is the major circulating form of vitamin D in the blood [3,13-14].

During pregnancy there are physiological changes in 1,25$(OH)_2$D concentrations to ensure sufficient calcium required for fetal bone mineralization [19]. A gradual increase on plasma 1,25$(OH)_2$D concentrations during pregnancy and a modest contribution from synthesis in both the kidney and placenta have been reported [19-20]. However, the profile of the longitudinal changes in 25(OH)D concentrations as well the relationship between 1,25$(OH)_2$D and 25(OH)D throughout pregnancy remains unclear [20-22].

Despite these physiological changes in pregnant women the criteria for defining vitamin D deficiency and insufficiency are the same as for the general adult population and cutoff values remain controversial [4,14]. The Institute of Medicine (IOM) [14] recommends that at least 30 nmol/L of 25(OH)D is necessary to protect against rickets in children and osteoporosis in adults and that concentrations of $\geq$ 50 nmol/L corresponds to the level which meets the requirements of 97.5% of the population to obtain the recommended daily allowance of 600 IU/day [14]. The Endocrine Society Clinical Practice Guidelines [4] states that 50 nmol/L is required for optimal bone health but recommends concentrations $\geq$75 nmol/L for non-skeletal health benefits associated with vitamin D [4].

Few prospective studies have investigated changes in 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations over time during pregnancy [21-22]. Further, there are no studies in healthy pregnant Brazilian women. To the best of our knowledge, the association between 25(OH)D status in the first trimester of pregnancy and the change in 1,25$(OH)_2$D concentrations throughout gestation has not been assessed by previous studies. Therefore, considering the importance of adequate vitamin D status during pregnancy for positive gestational outcomes, the aim of this study was to estimate the prevalence of vitamin D inadequacy and to characterize the physiological changes in 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations among healthy pregnancies.

*Methods*

*Design and study participants*

This is a prospective cohort study conducted at a public health care center in Rio de Janeiro, Brazil. The recruitment was done between November 2009 and October 2011, and 299 women who met the following eligibility criteria agreed to participate in the study: being between 5th-13th weeks of gestation, free from chronic (except obesity) and infectious diseases, aged between 20 and 40 years, presenting a singleton pregnancy, residing in the study catchment

area, and intending to continue prenatal care in the public health centre. The cohort comprised 229 apparently healthy pregnant women after exclusions, including: confirmed pre-gestational diagnosis of chronic non-communicable diseases (except obesity) (n=12), diagnosis of infectious or parasitic diseases (n=9), twin pregnancies (n=4), missed baseline evaluation data (n=20) or miscarriage (n=25). We further excluded women with insufficient volume to measure plasma 25(OH)D (n=30) or 1,25$(OH)_2$D (n=23) at the first trimester. Our sample comprised 199 and 178 women at the first trimester with available data on 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations, respectively. The women were followed at the first [(5-13 weeks (baseline)], second (20-26 weeks), and third trimesters (30-36 weeks) of pregnancy (**Online Resource Fig. 1**).

*Biochemical analyses*

A trained professional collected blood samples between 6:50 and 7:50 am into vacutainer tubes at each follow-up visit after a 12-hour fasting period. The samples were centrifuged (5,000 rpm for 5 minutes). The plasma was separated and prepared from blood collected into tubes containing EDTA, and stored at -80°C for subsequent analysis.

Plasma concentrations of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D were measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) using the LC Thermo Cohesive System coupled to Thermo Quantum Ultra Mass Spectrometer (Thermo Fisher; San Jose, CA, USA). The analyses were performed by Quest Diagnostics Nichols Institute (San Juan Capistrano, CA, USA), which is part of the Hormone Standardization Program conducted by the Centers for Disease Control and Prevention. The LC-MS/MS is considered to be the gold standard for measuring vitamin D status due to its high sensitivity and specificity [4,23]. The analytical measurement range was 19-960 pmol/L and 10-640 nmol/L for 1,25$(OH)_2$D and 25(OH)D, respectively. The coefficient of variation for all analyses was <10%. The 25(OH)D

and 1,25(OH)2D are stable in plasma for more than 10 years when stored under appropriate conditions as in the present study [24-25].

*Definition of vitamin D status*

Vitamin D status was defined based on plasma 25(OH)D concentrations. Participants were categorized as vitamin D deficient (<50 nmol/L), insufficient (50-<75 nmol/L), and sufficient (≥75 nmol/L) according the Endocrine Society Clinical Practice Guidelines [4]. We also used the cutoffs of vitamin D status based on IOM: deficient (<30 nmol/L), insufficient (30-<50 nmol/L) and sufficient (≥50 nmol/L) [14]. Vitamin D status was also analyzed as a binary variable according to the Endocrine Society Clinical Practice Guidelines as inadequate/adequate (<75/≥75 nmol/L) [4] and IOM [14] as inadequate/adequate (<50/≥50 nmol/L).

*Covariate assessment*

Socioeconomic, demographic, reproductive and lifestyle variables were obtained through interviews with structured questionnaires administered at the baseline (5–13 weeks of gestation). The following variables were collected: age (years), self-reported skin color (white/mixed/black), education (years), monthly per capita family income (R$), parity (nulliparous/parous), first trimester smoking habit (yes/no), first trimester alcohol intake (yes/no) and leisure physical activity before pregnancy (yes/no). The season was classified according to the date of recruitment as follows: winter (June 21$^{st}$ to September 21$^{st}$; spring (September 22$^{nd}$ to December 20$^{th}$); summer (December 21$^{st}$ to March 19$^{th}$); or autumn (March 20$^{th}$ to June 20$^{th}$).

Gestational age was measured from the first ultrasonography (USG) (n=174) or using the reported date of the last menstrual period if the first USG was not performed prior to the 24$^{th}$ week of gestation (n=25). Height (cm) was measured at the beginning of pregnancy using a portable stadiometer (Seca Ltd., Hamburg, Germany). Pre-gestational body mass index (BMI,

weight [kg]/height [m²]) was calculated and categorized (<25/≥25 kg/m²) based on self-reported pre-gestational weight obtained at the first follow-up visit at the 1st trimester of gestation.

Total vitamin D (IU/day) and calcium (mg/day) intakes were estimated using a semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) validated for the adult population of Rio de Janeiro [26]. The questionnaire was administered in the third trimester and referred to intakes during the prior 6 months. The FFQ included 82 food items and had eight frequency options: more than three times a day, two to three times a day, once a day, five to six times a week, two to four times a week, once a week, one to three times a month, and never or hardly ever. Tables of Nutritional Composition of Food Consumed of Brazilian Institute of Geography and Statistics were used for the analysis [27]. The FFQ did not take into consideration the use of supplements. Rather, information on vitamin D supplementation was self-reported in all trimesters.

*Statistical analyses*

The characteristics of the sample were described using mean and standard deviations (SD) for continuous variables and absolute (n) and relative frequencies (%) for categorical data.

Baseline characteristics of women with complete 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D information during pregnancy were compared to those women who presented losses to follow-up with missing information for at least one of these variables. In addition, baseline characteristics were presented for each variable and stratified according to 25(OH)D status for both the Endocrine Society Clinical Practice Guidelines and the IOM criteria. ANOVA was used to compare means according to 25(OH)D status and the Bonferroni test was employed as the post hoc test. The Chi-squared test was used to compare proportions.

Pearson coefficient correlations were calculated between 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D in the first, second and third trimesters. Linear mixed-effects (LME) regression models were performed to evaluate the longitudinal variation of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations

during pregnancy. The models included information from all individuals who had data from at least one time point on 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations. The LME models enable the inclusion of time-dependent and time-independent variables and unbalanced time intervals and the correlation between repeated measures was taken into account [28-29]. Gestational age (weeks) was included in the LME models as the time variable for both random and fixed effects.

Interactions between season at recruitment and gestational week were tested when assessing the longitudinal behavior of 25(OH)D concentrations. We also tested interactions between gestational age and first trimester vitamin D status to explore the effect on 1,25$(OH)_2$D longitudinal variation. The LME models were adjusted for parity, season, education, self-reported skin color and pre-pregnancy BMI based on biological plausibility and statistical significance ($P<0.2$) of the associations on the bivariate analysis with the study outcome.

A $P<0.05$ was regarded as significant. All analyses were performed in STATA 12.0 (Stata Corporation, College Station, TX) [30].

*Results*

Losses to follow-up analysis comparing socio-demographic, lifestyle and reproductive characteristics between women with plasma 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D data in all trimesters and those who had plasma 25(OH)D data in at least one trimester showed no significant differences ($P>0.05$) between groups (**Data not shown**).

The overall mean 25(OH)D concentrations at the first trimester was 65.0 (17.7 SD) nmol/L which increased to 78.7 (22.0 SD) nmol/L and 84.1 (24.5 SD) nmol/L during the second and third trimesters, respectively. The mean of 1,25$(OH)_2$D pmol/L during the first, second and third trimesters were 173.4 (77.9 SD), 227.6 (91.9 SD) and 257.5 (92.3 SD), respectively. The 1,25$(OH)_2$D mean concentrations were significantly different only in the first-trimester among women within the sufficient category according to Endocrine Society Practice Guidelines. A

higher prevalence of vitamin D deficiency was observed among pregnant women who started the study in winter and spring compared to those who started in summer and autumn according to both criteria (**Table 1**).

The prevalence of pregnant women with plasma 25(OH)D concentrations <75 nmol/L was 70.4%, 41.0% and 33.9%; the prevalence of women with 25(OH)D concentrations <50 nmol/L was 16.1%, 11.2% and 10.2%; while 2%, 0% and 0.6%, of women had 25(OH)D concentrations <30 nmol/L at the first, second and third trimester, respectively (**Figure 1**).

Plasma 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations were weakly but significantly correlated only in the first trimester of pregnancy (**Online Resource Fig. 2a, b, c)**. The concentrations of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D significantly increased throughout gestation in the unadjusted model (β=0.869; 95% CI=0.723-1.014; P<0.001 and β=3.878; 95% CI=3.136-4.620; P<0.001, respectively) (**Fig. 2a, b**). Women who started the study during the summer or autumn seasons had higher mean 25(OH)D concentrations during the first trimester compared to women whose pregnancy began during winter or spring (**Fig. 3**). The longitudinal change in concentrations of 25(OH)D during pregnancy were modified by the season at recruitment in the adjusted model . Women that started the study in winter (P<0.001), spring (P<0.001) or autumn (P=0.028) presented a longitudinal increase in 25(OH)D concentrations while women that started during summer did not (**Fig. 4 and Online Resource Table 1**).

Different patterns of 1,25$(OH)_2$D concentrations during the course of gestation were also observed according to vitamin D status at baseline considering the cutoffs proposed by the Endocrine Society Clinical Practice Guidelines. Women with insufficient concentrations of vitamin D at baseline had greater longitudinal increases in 1,25$(OH)_2$D in comparison to women with sufficiency in the adjusted model (P=0.006), but not among women with deficient 25(OH)D concentrations (P=0.364) (**Fig. 5 and Online Resource Table 1)**. We did not observe

interactions between vitamin D status at baseline according to IOM and 1,25$(OH)_2$D concentrations during pregnancy (**data not shown**).

*Discussion*

The present study has three main findings. First, it was observed that the prevalence of vitamin D inadequacy varied significantly according to the adopted criteria. The prevalence of vitamin D inadequacy was high, especially in the first trimester using the Endocrine Society Practice Guidelines (<75 nmol/L). It was moderate when the inadequacy criterion from the IOM (<50 nmol/L) was considered, but virtually non-existent when the IOM deficiency criterion was employed (<30 nmol/L). Second, it was observed that the longitudinal patterns of 25(OH)D concentrations during pregnancy were modified by the season at recruitment. Finally, when we stratified the participants according to vitamin D status at baseline, pregnant women who had vitamin D insufficiency (50-<75 nmol/L) had a greater increase in 1,25$(OH)_2$D concentrations throughout pregnancy compared to women with 25(OH)D adequacy (≥75 nmol/L).

There is no consensus for the definition of vitamin D inadequacy for pregnant women and results should be interpreted cautiously. We used the cut-off values proposed by the Endocrine Society Practice Guidelines [4] and the IOM [14] to allow comparisons among studies. Our results revealed that the prevalence of 25(OH)D <75 nmol/L, <50 nmol/L and <30 nmol/L at the first trimester was 70.4%, 16.1% and 2.1%, respectively. Studies with pregnant women that have used the 25(OH)D cut points of <75 nmol/L also found a high prevalence of vitamin D inadequacy in countries such as Korea (91.4%) [31], Spain (64.1%) [32], the United States (54.4%) [33], and other sunny regions such as Thailand (75.5%) [7], and Australia (80.4%) [6]. Results from a systematic review and meta-analysis revealed that the prevalence of 25(OH)D <50 nmol/L during pregnancy was greater in regions such as the Americas (64%), Europe (57%), Eastern Mediterranean (46%), South-East Asian (87%) and Western Pacific countries (83%), in

comparison to the present study [34]. In contrast, it is worth noting that only 2% of women in this cohort presented 25(OH)D concentrations <30 nmol/L, a more restrictive cut-off point that classifies vitamin D deficiency according to the IOM criteria. A higher prevalence of 25(OH)D <30 nmol/L have been reported in countries such as Australia (15%), Belgium (12%), the Netherlands (23%) and India (60%) [2]. Kiely et al. (2016) [35] observed in a large cohort from Ireland that 17% of the pregnant women had 25(OH)D <30 nmol/L, while Haggarty et al. (2013) [36] observed in a cohort study from Scotland that 21.5% had 25(OH)D values <25 nmol/L. The mean 25(OH)D concentration observed in our study (65.0 nmol/L) in early pregnancy is higher than other larger cohorts with pregnant women from countries located at higher altitudes such as Ireland (56.7 nmol/L) and Scotland (40.2 nmol/L) [35,36], but is comparable to other studies in sunny regions [2,6,7].

We found only one study comprising healthy pregnant women in Brazil that has addressed a vitamin D research question. This study was a clinical trial with 26 pregnant adolescents in the placebo group and 30 in the supplemented group (calcium and vitamin D) and found plasma 25(OH)D concentrations of 57.9 (20.7 SD) nmol/L and 59.5 (20.6 SD) nmol/L, respectively at baseline (second trimester of gestation) [37]. For the same period of gestation those concentrations were lower than the observed in our sample [78.7 (22.0 SD) nmol/L].

Some other factors could explain the higher prevalence of vitamin D inadequacy observed in this cohort, air pollution has been inversely associated with 25(OH)D concentration [5]. Air pollution is known to absorb ultraviolet B (UVB) rays and thereby limit cutaneous synthesis of vitamin D [5,38). Rio de Janeiro is known to have high pollution with particulate matter less than 10 μm in diameter (PM10) estimated to be 67 $\mu g/m^3$ in 2010 [39]. This value is above the World Health Organization recommendations (<20 $\mu g/m^3$ annual average concentrations) [40]. We hypothesize that air pollution in Rio de Janeiro plays a role in the observed high prevalence of vitamin D inadequacy in this cohort.

We found a mean vitamin D intake of only 186.8 IU/day, which is well below the recommendations set forth for pregnant women by both the Endocrine Society Practice Guidelines (1500 - 2000 IU/day) [4] and the IOM (600 IU/day) [14]. Inadequate dietary intake during pregnancy has been observed in other countries such as the United States [41], Iran [5] and Thailand [42]. Few food items naturally contain vitamin D in the Brazilian diet. Also, there is no national mandatory food fortification or supplementation program for vitamin D [23]. The mean calcium intake (760.2 mg/day) was also below the IOM recommendation (1,000 mg/day) for pregnant women. Similar results of low vitamin D and calcium intake were also observed in a systematic review and meta-analysis during pregnancy in regions such as the United States, Europe and Australia [43]. Finally, none of the women from our sample reported vitamin D and calcium supplementation during pregnancy. In Brazil, vitamin D and calcium supplementation are not usual among women receiving pre-natal care in public service [44].

Brazil is a racially diverse country, resulting in a mixed skin pigmentation of the population, which can affect endogenous production of vitamin D via sun exposure [18,45]. In the current study, 26.7% self-reported to be blacks and 46.2% mixed. Low vitamin D status has been found among obese adults, because vitamin D can be partially sequestered by body fat [46]. However, we did not find associations between vitamin D status with vitamin D and calcium intake, skin pigmentation, or pre-pregnancy BMI.

Physiological adjustment of vitamin D metabolism occurs during pregnancy. The activity of the 1α-hydroxylase enzyme is increased in the kidney, placenta and decidua [47-48], and an elevation in plasma vitamin D-binding protein (DBP) is observed [19]. The kidney has megalin which internalizes 25(OH)D-DBP resulting in the release of 25(OH)D for its conversion to 1,25$(OH)_2$D [19,49]. Moreover, the expression of vitamin D receptor (VDR) may be increased in the placenta and decidua during pregnancy [50]. These changes are important for the maternal and fetal requirements of 1,25$(OH)_2$D during this period [4].

Few prospective studies have previously measured longitudinal changes in vitamin D concentrations in pregnant women. During this period an increase in 1,25$(OH)_2$D is well reported while changes in 25(OH)D concentrations remain controversial [20-22]. Lee et al. [22] evaluated a sample of 275 Korean pregnant women and found that the mean 25(OH)D concentration during the first trimester was significantly lower than in the second and third trimesters, even after adjusting for season. Lundqvist et al. [51] reported that 25(OH)D concentrations increased slightly over the duration of pregnancy in 184 Swedish women. However, when the authors considered the months of recruitment, a lower rise of 25(OH)D concentrations during pregnancy was observed between women that started the study in summer, and a peak-shaped pattern during winter. On the other hand, Zhang et al. [21] evaluated 30 Irish women at several pregnancy weeks (15, 20, 24, 28, 32, 36 and 40) and reported that 25(OH)D concentrations decreased during this period. However, these women were recruited only during summer. Fernandez-Alonso et al. [52] also observed a decrease in 25(OH)D concentrations from first to third trimester in 148 Spanish pregnant women considering the effect of season. We found that women who started the study during spring, winter and autumn increased 25(OH)D concentration over this period. The women that began the study during summer had high 25(OH)D concentrations, and thus presented no change during pregnancy.

The increase of 1,25 $(OH)_2$D can be probable attributed to an increase on the metabolism of 25(OH)D and thus, resulting in the decreased in the 25(OH)D [19,49,53]. However, we suggest that the elevation of DBP [19] during pregnancy could prolong the 25(OH)D half-life during this period as a form of protection [53-54]. Thus, besides the influence of season women that begin the study with higher or lower concentrations of 25(OH)D can maintain or increase this metabolite during pregnancy, respectively [53-54].

Brazil is a tropical country with abundant sunlight and the State of Rio de Janeiro, situated at approximately 23ºS latitude, favors conditions for cutaneous vitamin D production.

The ultraviolet B radiation is high throughout the year and reaches maximum values in summer [23,55]. Therefore, high concentrations of 25(OH)D are expected between women who started the study during summer is plausible, even in a sunny region, as has been reported in other studies [15,42]. Furthermore, in the summer, people are more exposed to the sunlight, and do more outdoor leisure activities, such as going to the beach, which, besides being a cultural habit, is also accessible to the low-income population. The seasonal variation of vitamin D is even greater in regions with higher latitudes and well-defined seasons, as for example in pregnant woman resident in European countries as Ireland (52°N) or Spain (40°N), with lower concentrations of vitamin D in winter [21,52,56].

In a systematic review and meta-analysis involving twenty studies, the authors found that serum 1,25$(OH)_2$D was not related with 25(OH)D in pregnant women at term, and that the 25(OH)D concentrations were not different from the concentrations found in non-pregnant women, though the 1,25$(OH)_2$D concentrations were twice as high than the non-pregnant women [20]. Nevertheless, this study considered pregnant women at term and was comprised of cross-sectional data only. Hollis et al. (2011) [41] in a randomized controlled trial with vitamin D supplementation found an association between circulating 1,25$(OH)_2$D concentrations and circulating 25(OH)D in 148 pregnant women evaluated at 12, 16, 20, 24, 28, 32 and 36 weeks. However, concentrations of 25(OH)D of at least 100 nmol/L were needed to enable a maximum 1,25$(OH)_2$D increase during this period. Young et al. (2012) [57] observed that 25(OH)D measured at mid-gestation (~26 weeks) was inversely associated with 1,25$(OH)_2$D at delivery in a sample with 168 pregnant adolescents.

In the present study, we did not find a longitudinal association between 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D. We observed that pregnant women with vitamin D insufficiency at baseline according to Endocrine Society Practice Guidelines had a greater increase in 1,25$(OH)_2$D concentrations throughout pregnancy when compared to women with sufficient 25(OH)D

concentrations. These results indicate that there is a possible mechanism to meet the additional demands of vitamin D among pregnant women with low concentrations of 25(OH)D in early pregnancy. This may be due to secondary hyperparathyroidism associated with low plasma 25(OH)D, thereby increasing the renal production of 1,25$(OH)_2$D [3-4]. Another possible mechanism is that there are four different 1α-hydroxylase enzymes with distinct concentrations of regulation, one of which sufficiently converts even small amounts of vitamin D efficiently to 25(OH)D [58-59]. Moreover, considering that there is an increased activity of 1α-hydroxylase enzyme [47-48], DBP concentrations [19] and VDR expression during gestation [50], we suggest that these changes are more pronounced among pregnant women with 25(OH)D inadequacy. This may be a form of protection to prevent further reductions in the 25(OH)D concentration during the course of pregnancy. We believe that with a larger sample size this pattern would have also occurred in women with vitamin D insufficiency at baseline according to cut points by IOM.

The current study has some limitations. First, information on individual sun exposure was not collected. Instead, we considered the season at recruitment. Second, the loss to follow up was 14.6% and 13.5% for 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D, respectively. Despite the losses to follow-up, we did not identify significant differences in socio-demographic, lifestyle and reproductive characteristics between pregnant women with vitamin D data in all trimesters or those with data in at least one trimester. Other limitation of this study is the lack of assessment of serum PTH, calcium, phosphorus and DBP. On the other hand, this cohort study has important strengths. Plasma 1,25$(OH)_2$D and 25(OH)D concentrations were evaluated in each of the three pregnancy trimesters, and when performing the longitudinal models, our analyses were adjusted for several important confounders. 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D were also analyzed by the gold standard method (LC-MS/MS).

Low concentrations of vitamin D during pregnancy may be associated with increased risk of adverse maternal outcomes as gestational diabetes mellitus and low birth weight [5,8]. Further, there is a high correlation between maternal and fetal cord blood 25(OH)D concentrations [34]. Studies have suggested that low vitamin D status during pregnancy is associated with short and long-term newborn health consequences [5,8,60-61]. According to the theory of developmental origins of diseases (fetal programming), nutrition allows early life adaptation when there is an adverse environment. Thus, low concentrations of vitamin D during pregnancy can have effects throughout life via fetal programming [62], as for example negative impact in brain health, inflammation and respiratory disorders [61,63-64].

The prevalence of vitamin D inadequacy was high throughout pregnancy. Our results indicate that there is a need to examine the vitamin D status of pregnant women residing in other areas of Brazil who may have less sun exposure. There were different patterns of longitudinal 25(OH)D concentrations according to the season at recruitment. Although an increase in 1,25$(OH)_2$D was observed, these changes were not sufficient to reach vitamin D sufficiency in a high proportion of women at the level of the current recommendations for adults. Pregnant women who had insufficient 25(OH)D at the beginning of pregnancy had a higher increase in 1,25$(OH)_2$D across trimesters than those women with sufficient baseline 25(OH)D concentrations, after controlling for important confounders. The findings from this prospective cohort conducted in apparently healthy women from a tropical and sunny region contributes to the understanding of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D changes during pregnancy and highlights the importance of vitamin D sufficiency in early pregnancy. Our study has the potential for generating new evidence since there are few studies that prospectively evaluated plasma 1,25$(OH)_2$D and 25(OH)D concentrations in healthy pregnant women. Further studies are necessary to set the appropriate 25(OH)D cut points to compensate for the increased physiological requirements of vitamin D during pregnancy

*Acknowledgments*

The National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support of Rio de Janeiro State (FAPERJ) supported this study. Gilberto Kac has a research productivity scholarship from CNPq.

*Ethical standards*

The Research Ethics Committees of the Municipal Secretariat of Health and Civil Defense of the State of Rio de Janeiro (Protocol number: 0012.0.249.000-09) approved the present study. Written consent from all participants was obtained freely and spontaneously, after all necessary clarifications were provided in accordance with principles of the Declaration of Helsinki.

*Conflict of interest*

The authors declare that they have no conflict of interest.

*References*


1. Brito A, Cori H, Olivares M, Fernanda Mujica M, Cediel G, López de Romaña D (2013) Less than adequate vitamin D status and intake in Latin America and the Caribbean: a problem of unknown magnitude. Food Nutr Bull 34:52-64. doi 10.1177/156482651303400107
2. Palacios C, Gonzalez L (2014) Is vitamin D deficiency a major global public health problem? J Steroid Biochem Mol Biol 144 Pt A:138-145. doi 10.1016/j.jsbmb.2013.11.003.
3. Holick MF (2007) Vitamin D deficiency. N Engl J Med 357:266-281. doi 10.1056/NEJMra070553.
4. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM, Endocrine Society (2011) Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab 96: 1191–30. doi 10.1210/jc.2011-0385.
5. Kelishadi R, Sharifi-Ghazvini F, Poursafa P, Mehrabian F, Farajian S, Yousefy H, Movahedian M, Sharifi-Ghazvini S (2013) Determinants of hypovitaminosis d in pregnant women and their newborns in a sunny region. Int J Endocrinol 2013:460970. doi 10.1155/2013/460970.
6. Schneuer FJ, Roberts CL, Guilbert C, Simpson JM, Algert CS, Khambalia AZ, Tasevski V, Ashton AW, Morris JM, Nassar N (2014) Effects of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the first trimester on subsequent pregnancy outcomes in an Australian population. Am J Clin Nutr 99:287-295. doi 10.3945/ajcn.113.065672.
7. Pratumvinit B, Wongkrajang P, Wataganara T, Hanyongyuth S, Nimmannit A, Chatsiricharoenkul S, Manonukul K, Reesukumal K (2015) Maternal vitamin D status and its related factors in pregnant women in Bangkok, Thailand. PLoS

One 10:e0131126. doi 10.1371/journal.pone.0131126.

8. Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O'Beirne M, Rabi DM (2013) Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. BMJ 346:f1169. doi https://doi.org/10.1136/bmj.f1169
9. Dantas EM, Pereira FV, Queiroz JW, Dantas DL, Monteiro GR, Duggal P, Azevedo MdeF, Jeronimo SM, Araújo AC (2013) Preeclampsia is associated with increased maternal body weight in a northeastern Brazilian population. BMC Pregnancy Childbirth 13:159. doi 10.1186/1471-2393-13-159.
10. Tedesco RP, Passini R, Cecatti JG, Camargo RS, Pacagnella RC, Sousa MH (2013) Estimation of preterm birth rate, associated factors and maternal morbidity from a demographic and health survey in Brazil. Matern Child Health J 17:1638-1647. doi 10.1007/s10995-012-1177-6.
11. Mendes CQ, Cacella BC, Mandetta MA, Balieiro MM (2015) Low birth weight in a municipality in the southeast region of Brazil. Rev Bras Enferm 68:1169-1175. doi 10.1590/0034-7167.2015680624i.
12. Trujillo J, Vigo A, Duncan BB, Falavigna M, Wendland EM, Campos MA, Schmidt MI (2015) Impact of the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups criteria for gestational diabetes. Diabetes Res Clin Pract 108:288-295. doi 10.1016/j.diabres.2015.02.007.
13. Zhang R, Naughton DP (2010) Vitamin D in health and disease: current perspectives. Nutr J 9:65. doi 10.1186/1475-2891-9-65.
14. Institute of Medicine (2011). Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC): The National Academies Press. doi:10.17226/13050
15. Dror DK, Allen LH (2010) Vitamin D inadequacy in pregnancy: biology,

outcomes, and interventions. Nutr Rev 68:465-477. doi 10.1111/j.1753-4887.2010.00306.x.

16. Jorde R, Sneve M, Emaus N, Figenschau Y, Grimnes G (2010) Cross-sectional and longitudinal relation between serum 25-hydroxyvitamin D and body mass index: the Tromsø study. Eur J Nutr 49:401-407. doi 10.1007/s00394-010-0098-7.
17. Jääskeläinen T, Knekt P, Marniemi J, Sares-Jäske L, Männistö S, Heliövaara M, Järvinen R (2013) Vitamin D status is associated with sociodemographic factors, lifestyle and metabolic health. Eur J Nutr 52:513-525. doi 10.1007/s00394-012-0354-0.
18. Lips P, van Schoor NM, de Jongh RT (2014) Diet, sun, and lifestyle as determinants of vitamin D status. Ann N Y Acad Sci 1317:92-98. doi 10.1111/nyas.12443.
19. Brannon PM, Picciano MF (2011) Vitamin D in pregnancy and lactation in humans. Annu Rev Nutr 31:89-115. doi 10.1146/annurev.nutr.012809.104807.
20. Papapetrou PD (2010) The interrelationship of serum 1,25-dihydroxyvitamin D, 25-hydroxyvitamin D and 24,25-dihydroxyvitamin D in pregnancy at term: a meta-analysis. Hormones (Athens) 9:136-144.
21. Zhang JY, Lucey AJ, Horgan R, Kenny LC, Kiely M (2014) Impact of pregnancy on vitamin D status: a longitudinal study. Br J Nutr 112:1081-1087. doi 10.1017/S0007114514001883.
22. Lee DH, Ryu HM, Han YJ, Lee SW, Park SY, Yim CH, Kim SH, Yoon HK (2015) Effects of Serum 25-hydroxy-vitamin D and Fetal Bone Growth during Pregnancy. J Bone Metab 22:127-133. doi 10.11005/jbm.2015.22.3.127.
23. Maeda SS, Borba VZC, Camargo MBR, Silva DMW, Borges JLC, Bandeira F, Lazaretti-Castro M. S. S et al (2014) Recommendations of the Brazilian Society

of Endocrinology and Metabology (SBEM) for the diagnosis and treatment of hypovitaminosis D. Arq Bras Endocrinol Metab 58: 411-33. doi 10.1590/0004-2730000003388.

24. Joergensen C, Gall MA, Schmedes A, Tarnow L, Parving HH, Rossing P (2010) Vitamin D levels and mortality in type 2 diabetes. Diabetes Care 33:2238-2243. doi 10.2337/dc10-0582.
25. El-Khoury JM, Wang S (2012) Stability of 1,25-dihydroxyvitamin D(2) and 1,25-dihydroxyvitamin D(3) in human serum. Clin Biochem 45:707-708. doi 10.1016/j.clinbiochem.2012.03.016.
26. Sichieri R, Everhart JE (1998) Validity of a Brazilian food frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. Nutr Res 18:1649–1659. doi 10.1016/s0271-5317(98)00151-1.
27. Brazilian Institute of Geography and Statistics. National Household Budget Survey. Nutritional composition table of food consumed in Brazil (2011). [cited 2015 Oct 18]. Available from: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_composicao_nutricional/.
28. Singer JD, Willet JB (2003) Applied Longitudinal Data Analysis: Modeling Changes and Event Occurrence. New York: Oxford University Press.
29. Fox, J (2003). Effect Displays in {R} for Generalised Linear Models. Journal of Statistical Software. 8(15):1-27.
30. StataCorp (2011) Stata statistical software: release 12. College Station (TX): StataCorp LP.
31. Choi R, Kim S, Yoo H, Cho YY, Kim SW, Chung JH, Oh SY, Lee SY (2015) High prevalence of vitamin D deficiency in pregnant Korean women: the first trimester and the winter season as risk factors for vitamin D deficiency.

Nutrients 7:3427-3448. doi 10.3390/nu7053427.

32. Pérez-López FR, Fernández-Alonso AM, Ferrando-Marco P, González-Salmerón MD, Dionis-Sánchez EC, Fiol-Ruiz G, Chedraui P (2011) First trimester serum 25-hydroxyvitamin D status and factors related to lower levels in gravids living in the Spanish Mediterranean coast. Reprod Sci 18:730-736. doi 10.1177/1933719110396720.
33. Dror DK, King JC, Durand DJ, Allen LH (2011) Association of modifiable and nonmodifiable factors with vitamin D status in pregnant women and neonates in Oakland, CA. J Am Diet Assoc 111:111-116. doi 10.1016/j.jada.2010.10.002.
34. Saraf R, Morton SM, Camargo CA, Grant CC (2015) Global summary of maternal and newborn vitamin D status - a systematic review. Maternal and Child Nutrition. doi: 10.1111/mcn.12210.
35. Kiely ME, Zhang JY, Kinsella M, Khashan AS, Kenny LC (2016) Vitamin D status is associated with uteroplacental dysfunction indicated by pre-eclampsia and small-for-gestational-age birth in a large prospective pregnancy cohort in Ireland with low vitamin D status. Am J Clin Nutr 104 (2):354-361. doi:10.3945/ajcn.116.130419.
36. Haggarty P, Campbell DM, Knox S, Horgan GW, Hoad G, Boulton E, McNeill G, Wallace AM (2013) Vitamin D in pregnancy at high latitude in Scotland. Br J Nutr 109 (5):898-905. doi:10.1017/S0007114512002255.
37. Diogenes ME, Bezerra FF, Rezende EP, Donangelo CM (2015) Calcium Plus Vitamin D Supplementation During the Third Trimester of Pregnancy in Adolescents Accustomed to Low Calcium Diets Does Not Affect Infant Bone Mass at Early Lactation in a Randomized Controlled Trial. J Nutr 145:1515-1523. doi 10.3945/jn.114.208140.

38. Engelsen O, Brustad M, Aksnes L, Lund E (2005). Daily duration of vitamin D synthesis in human skin with relation to latitude, total ozone, altitude, ground cover, aerosols and cloud thickness. Photochem Photobiol. 81(6):1287-90.
39. Marques R, Dos Santos ES (2012) Inhalabel particulate matter network monitoring, law and health hazards. Hygeia 8:115-28.
40. World Health Organization (2006). Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide: Global update, Geneva: World Health Organization; [cited 2015 Oct 18]. Available from: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/78638/E90038.pdf?ua=1.
41. Hollis BW, Johnson D, Hulsey TC, Ebeling M, Wagner CL (2011) Vitamin D supplementation during pregnancy: double-blind, randomized clinical trial of safety and effectiveness. J Bone Miner Res 26:2341-2357. doi 10.1002/jbmr.463.
42. Charatcharoenwitthaya N, Nanthakomon T, Somprasit C, Chanthasenanont A, Chailurkit LO, Pattaraarchachai J, Ongphiphadhanakul B (2013) Maternal vitamin D status, its associated factors and the course of pregnancy in Thai women. Clin Endocrinol (Oxf) 78:126-133. doi 10.1111/j.1365-2265.2012.04470.x.
43. Blumfield ML, Hure AJ, Macdonald-Wicks L, Smith R, Collins CE (2013) A systematic review and meta-analysis of micronutrient intakes during pregnancy in developed countries. Nutr Rev 71 (2):118-132. doi 10.1111/nure.12003.
44. Brasil (2013). Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Programa Nacional de Suplementação de Ferro: manual de condutas gerais / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde 24 p.: il.
45. Brazilian Institute of Geography and Statistics (2010). Census: general

characteristics of the population, religion and people with disabilities; [cited 2015 Aug 03]. Available from:http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/94/cd_2010_religiao_deficiencia.pdf.

46. Pereira-Santos M, Costa PR, Assis AM, Santos CA, Santos DB (2015) Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. Obes Rev 16:341-349. doi 10.1111/obr.12239.
47. Novakovic B, Sibson M, Ng HK, Manuelpillai U, Rakyan V, Down T, Beck S, Fournier T, Evain-Brion D, Dimitriadis E, Craig JM, Morley R, Saffery R (2009) Placenta-specific methylation of the vitamin D 24-hydroxylase gene: implications for feedback autoregulation of active vitamin D levels at the fetomaternal interface. J Biol Chem 284:14838-14848. doi 10.1074/jbc.M809542200.
48. Barrett H, McElduff A (2010) Vitamin D and pregnancy: An old problem revisited. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 24:527-539. doi 10.1016/j.beem.2010.05.010.
49. Saito A, Iino N, Takeda T, Gejyo F (2007) Role of megalin, a proximal tubular endocytic receptor, in calcium and phosphate homeostasis. Ther Apher Dial 11 Suppl 1:S23-6. doi 10.1111/j.1744-9987.2007.00514.x
50. Shahbazi M, Jeddi-Tehrani M, Zareie M, Salek-Moghaddam A, Akhondi MM, Bahmanpoor M, Sadeghi MR, Zarnani AH (2011) Expression profiling of vitamin D receptor in placenta, decidua and ovary of pregnant mice. Placenta 32:657-664. doi 10.1016/j.placenta.2011.06.013.
51. Lundqvist A, Sandström H, Stenlund H, Johansson I, Hultdin J (2016) Vitamin D Status during Pregnancy: A Longitudinal Study in Swedish Women from Early Pregnancy to Seven Months Postpartum. PLoS One 11 (3):e0150385. Doi

10.1371/journal.pone.0150385.

52. Fernández-Alonso AM, Dionis-Sánchez EC, Chedraui P, González-Salmerón MD, Pérez-López FR, Group SVDaWsHR (2012) First-trimester maternal serum 25-hydroxyvitamin $D_3$ status and pregnancy outcome. Int J Gynaecol Obstet 116:6-9. doi 10.1016/j.ijgo.2011.07.029.
53. Jones KS, Assar S, Vanderschueren D, Bouillon R, Prentice A, Schoenmakers I (2015) Predictors of 25(OH)D half-life and plasma 25(OH)D concentration in The Gambia and the UK. Osteoporos Int 26:1137-46. doi 10.1007/s00198-014-2905-0.
54. Jones KS, Assar S, Prentice A, Schoenmakers I (2016) Vitamin D expenditure is not altered in pregnancy and lactation despite changes in vitamin D metabolite concentrations. Sci Rep 6:26795. doi 10.1038/srep26795.
55. Lips P (2007) Relative value of 25(OH)D and 1,25(OH)2D measurements. J Bone Miner Res 22:1668-1671. doi 10.1359/jbmr.070716.
56. Spiro A, Buttriss JL (2014) Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. Nutr Bull 39:322-350. doi 10.1111/nbu.12108.
57. Young BE, McNanley TJ, Cooper EM, McIntyre AW, Witter F, Harris ZL, O'Brien KO (2012) Vitamin D insufficiency is prevalent and vitamin D is inversely associated with parathyroid hormone and calcitriol in pregnant adolescents. J Bone Miner Res 27:177-186. doi 10.1002/jbmr.526
58. Jones G (2007) Expanding role for vitamin D in chronic kidney disease: importance of blood 25-OH-D levels and extra-renal 1alpha-hydroxylase in the classical and nonclassical actions of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D(3). Semin Dial 20:316-24. doi 10.1111/j.1525-139X.2007.00302.x.
59. Holick MF, Chen TC (2008) Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. Am J Clin Nutr 87:1080S-6S.

60. Palaniswamy S, Williams D, Järvelin MR, Sebert S (2015) Vitamin D and the Promotion of Long-Term Metabolic Health from a Programming Perspective. Nutr Metab Insights 8 (Suppl 1):11-21. doi 10.4137/NMI.S29526.

61. Litonjua AA, Carey VJ, Laranjo N, Harshfield BJ, McElrath TF, O'Connor GT, Sandel M, Iverson RE, Lee-Paritz A, Strunk RC, Bacharier LB, Macones GA, Zeiger RS, Schatz M, Hollis BW, Hornsby E, Hawrylowicz C, Wu AC, Weiss ST (2016) Effect of prenatal supplementation with vitamin D on asthma or recurrent wheezing in offspring by age 3 years: The VDAART randomized Clinical trial. JAMA 315 (4):362-370. doi 10.1001/jama.2015.18589.

62. Urrutia-Pereira M, Solé D (2015). Vitamin D deficiency in pregnancy and its impact on the fetus, the newborn and in childhood. Rev. paul. pediatr. 33 (1): 104-113. doi http://dx.doi.org/10.1016/j.rpped.2014.05.004.

63. Weinert LS, Silveiro SP (2015) Maternal-fetal impact of vitamin D deficiency: a critical review. Matern Child Health J 19 (1):94-101. doi 10.1007/s10995-014-1499-7.

64. Pet MA, Brouwer-Brolsma EM (2016) The Impact of Maternal Vitamin D Status on Offspring Brain Development and Function: a Systematic Review. Adv Nutr 7 (4):665-678. doi 10.3945/an.115.010330.

**Table 1.** Baseline characteristics according to vitamin D status in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

| Variables | Total n=199 | Vitamin D status at baseline | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Endocrine Society Practice Guidelines | | | | Institute of Medicine | | | |
| | | Deficient < 50 nmol/L n=32 | Insufficient 50-<75 nmol/L n=108 | Sufficient ≥ 75 nmol/L n=59 | P-value* | Deficient < 30 nmol/L n=4 | Insufficient 30-<50 nmol/L n=28 | Sufficient ≥ 50 nmol/ n=167 | P-value* |
| | | n (%) | | | | | | | |
| Season at recruitment | | | | | <0.001 | | | | 0.010 |
| Winter | 51 (25.6) | 15 (46.9) | 30 (27.8) | 6 (10.2) | | 2 (50.0) | 13 (46.4) | 36 (21.6) | |
| Spring | 54 (27.2) | 12 (37.5) | 29 (26.9) | 13 (22.0) | | 2 (50.0) | 10 (35.7) | 42 (25.1) | |
| Summer | 42 (21.1) | 2 (6.2) | 21 (19.4) | 19 (32.2) | | 0 (0.0) | 2 (7.2) | 40 (24.0) | |
| Autumn | 52 (26.1) | 3 (9.4) | 28 (25.9) | 21 (35.6) | | 0 (0.0) | 3 (10.7) | 49 (29.3) | |
| Pre-pregnancy BMI ($kg/m^{2)}$ [b] | | | | | 0.900 | | | | 0.872 |
| <25 | 119 (59.80) | 18 (56.2) | 65 (60.2) | 36 (61.0) | | 2 (50.0) | 16 (57.1) | 101 (60.5) | |
| ≥25 | 80 (40.20) | 14 (43.8) | 43 (39.8) | 23 (39.0) | | 2 (50.0) | 12 (42.9) | 66 (39.5) | |
| Alcohol consumption | | | | | 0.224 | | | | 0.203 |
| No | 158 (79.4) | 29 (90.6) | 84 (77.7) | 45 (76.3) | | 0 (0.0) | 3 (10.7) | 38 (22.8) | |
| Yes | 41 (20.6) | 3 (9.4) | 24 (22.3) | 14 (23.7) | | 4 (100.0) | 25 (89.3) | 129 (77.2) | |
| Smoking habit | | | | | 0.687 | | | | 0.671 |
| No | 186 (93.5) | 31 (96.9) | 100 (92.6) | 55 (93.2) | | 4 (100.0) | 27 (96.4) | 155 (92.8) | |
| Yes | 13 (6.5) | 1 (3.1) | 8 (7.4) | 4 (6.8) | | 0 (0.0) | 1 (3.6) | 12 (7.2) | |
| Education (years) | | | | | 0.207 | | | | 0.207 |
| <8 | 60 (30.2) | 8 (25.0) | 29 (26.8) | 23 (39.0) | | 9 (25.0) | 29 (26.9) | 33 (39.0) | |
| ≥8 | 139 (69.8) | 24 (75.0) | 79 (73.2) | 36 (61.0) | | 24 (75.0) | 79 (73.1) | 36 (61.0) | |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Self-reported skin color | | | | | 0.268 | | | | 0.306 |
| White | 54 (27.1) | 4 (12.5) | 35 (32.4) | 15 (25.4) | | 0 (0.0) | 4 (14.3) | 50 (29.9) | |
| Mixed | 92 (46.2) | 18 (56.2) | 47 (43.5) | 27 (45.8) | | 3 (75.0) | 15 (53.6) | 74 (44.3) | |
| Black | 53 (26.7) | 10 (31.3) | 26 (24.1) | 17 (28.8) | | 1 (25.0) | 9 (32.1) | 43 (25.8) | |
| Leisure physical activity before pregnancy | | | | | 0.213 | | | | 0.342 |
| No | 148 (75.1) | 26 (83.9) | 82 (76.6) | 40 (67.8) | | 4 (100.0) | 22 (81.5) | 122 (73.5) | |
| Yes | 49 (24.9) | 5 (16.1) | 25 (23.4) | 19 (32.2) | | 0 (0.0) | 5 (18.5) | 44 (26.5) | |
| Parity | | | | | 0.322 | | | | 0.393 |
| Nulliparous | 78 (39.2) | 16 (50.0) | 42 (38.9) | 20 (33.9) | | 2 (50.0) | 14 (50.0) | 62 (37.1) | |
| Parous | 121 (60.8) | 16 (50.0) | 66 (61.1) | 39 (66.1) | | 2 (50.0) | 14 (50.0) | 105 (62.9) | |

**Notes: ***P-value refers to ANOVA test or to chi-squared test.

[a, b, c] Different letters at the same line indicate statistically significant difference ($P<0.05$) between categories of vitamin D using Bonferroni post hoc test. 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D; 1,25$(OH)_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D; BMI=Body Mass Index.

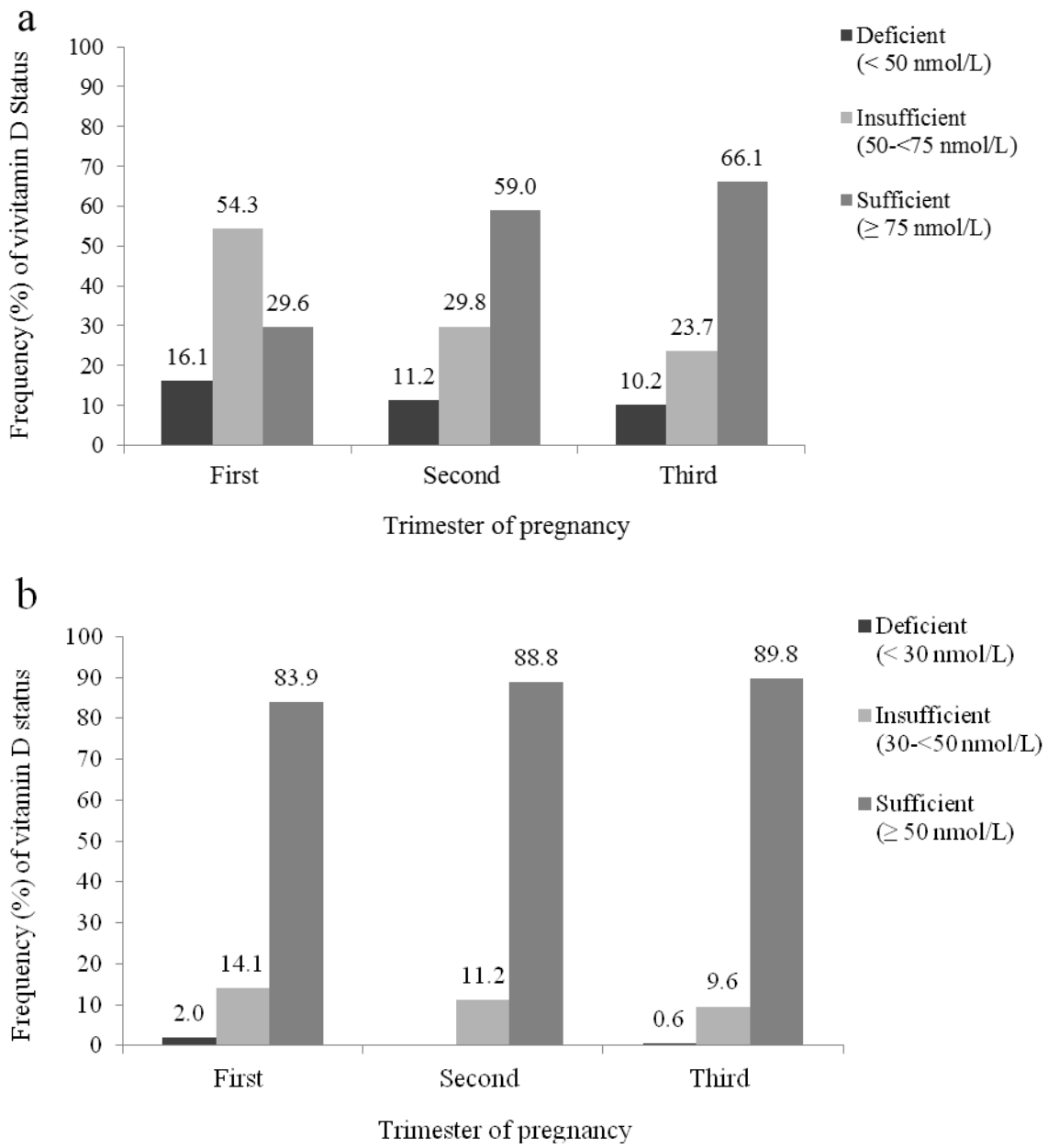



**Fig. 1** Frequency of vitamin D status according to trimester of pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Notes:** [a] Vitamin D status according to the Endocrine Society Clinical Practice Guidelines, vitamin D inadequacy refers to the sum of vitamin D deficient and insufficient (25(OH)D <75 nmol/L). [b] Vitamin D status according the Institute of Medicine, vitamin D inadequacy refers to the sum of vitamin D deficient and insufficient (25(OH)D <50 nmol/L).

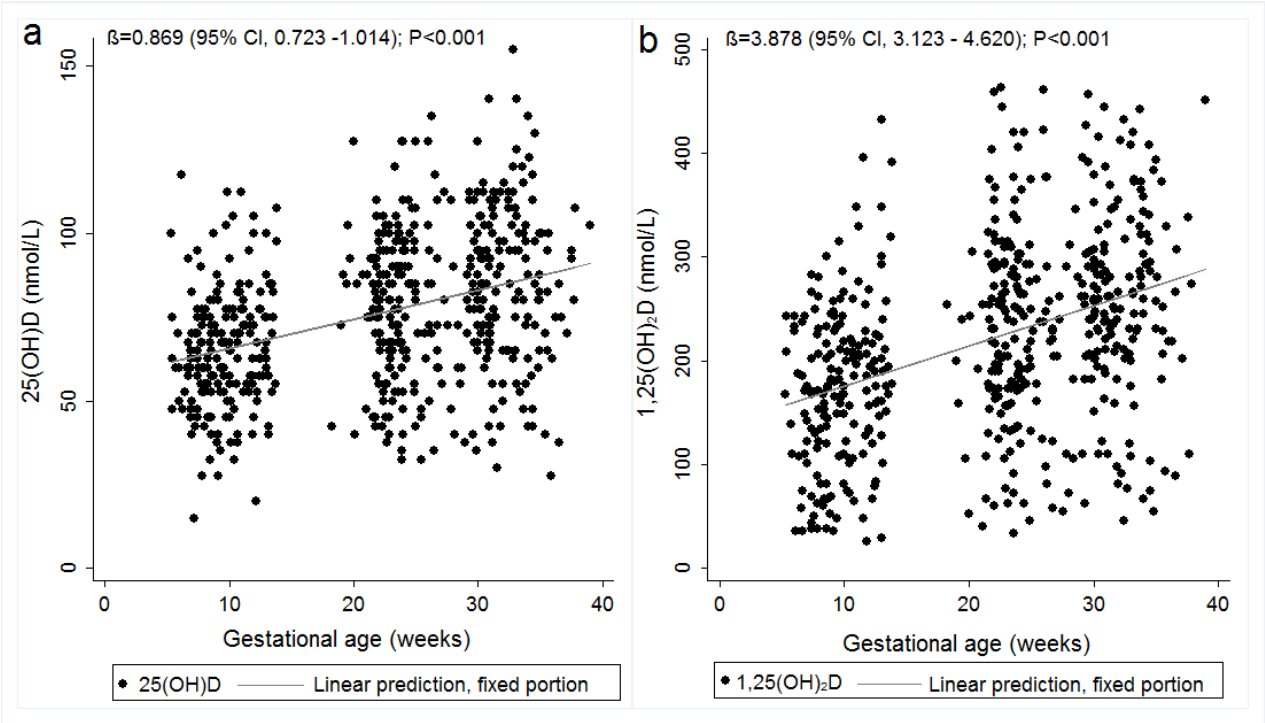



**Fig. 2** Changes in plasma 25(OH)D and 1,25(OH)$_2$D concentrations during pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Notes**: [a] Fitted values were predicted using an unadjusted longitudinal linear regression model between 25(OH)D concentration (nmol/L) and gestational age (weeks) (n=225 groups, n=565 observations). [b] Fitted values were predicted using an unadjusted longitudinal linear regression model between 1,25(OH)$_2$D concentration (pmol/L) and gestational age (weeks) (n=214 groups, n=522 observations). CI=confidence interval; 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D; 1,25(OH)$_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D. The group refers to the number of women with at least one data point in time and observation refers to the total number of data points in time for all women.

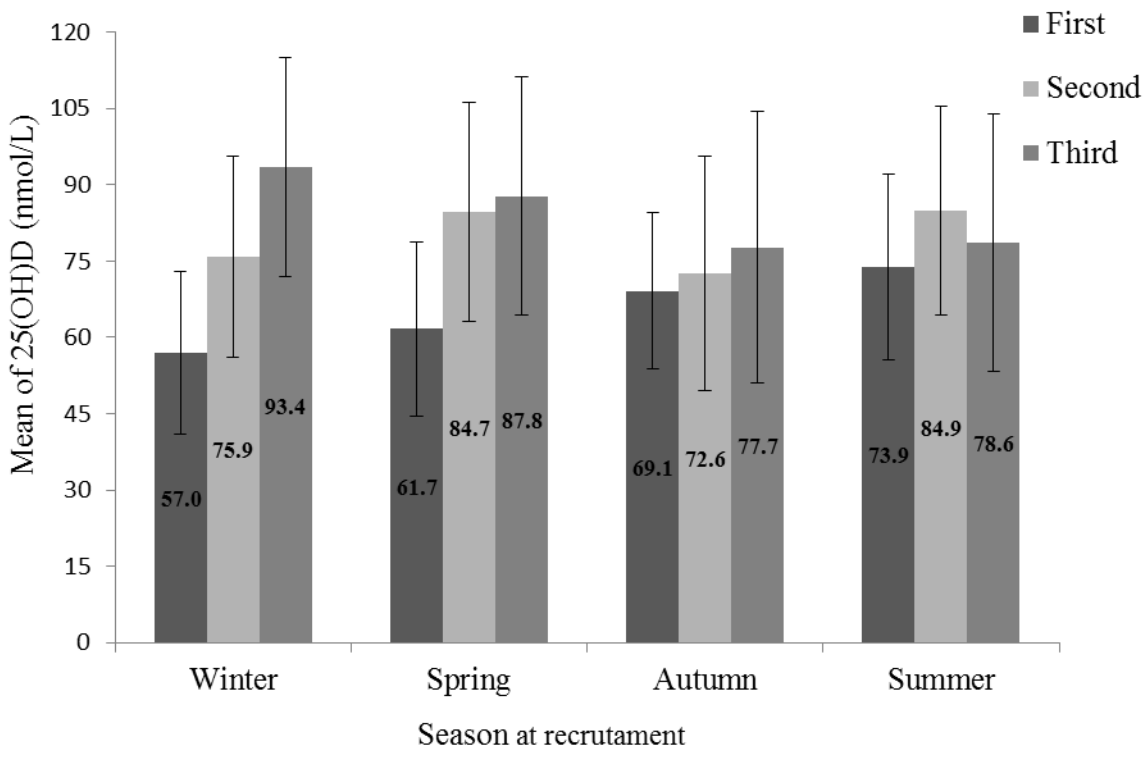



**Fig. 3** Mean in plasma 25(OH)D concentration according to first, second and third trimester of pregnancy and season of recruitment into the study among women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Notes**: Results are presented as mean and standard deviation (error bars); winter=June 21st to September 21st; spring=September 22nd to December 20th; summer=December 21st to March 19th; autumn=March 20th to June 20th; 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D.

**Fig. 4** Changes in plasma 25(OH)D concentration during pregnancy according to seasons at recruitment in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Notes**: Interaction between season at first trimester and gestational age: summer (n=42: reference); winter (n=51): β=1.441; 95% CI, 1.066 to 1.816, P<0.001; spring (n=54): β=1.126; 95% CI, 0.758 to 1.493, P<0.001; autumn (n=52)*:* β=0.398*;* 95% CI, 0.044 to 0.752, P=0.028. Longitudinal model adjusted for parity, education, self-reported skin color and pre-pregnancy Body Mass Index. The shaded grey area represents the 95% CI. The black lines at the bottom of the figure represent the scatter of the data. winter=June 21$^{st}$ to September 21$^{st}$; spring=September 22$^{nd}$ to December 20$^{th}$; summer=December 21$^{st}$ to March 19$^{th}$; autumn=March 20$^{th}$ to June 20$^{th}$. 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D; 1,25(OH)$_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D; β=Longitudinal Linear Regression Coefficient; CI=Confidence Interval.

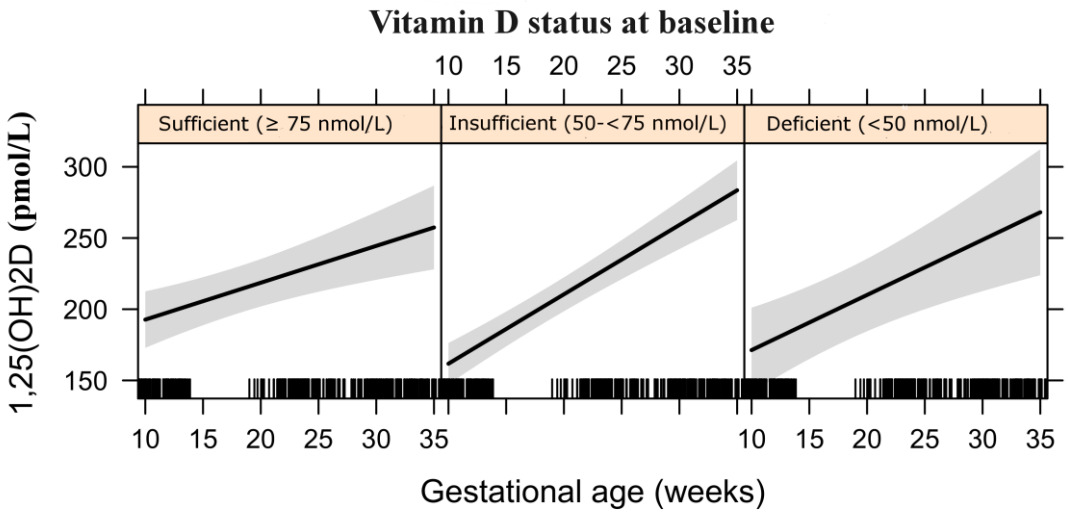
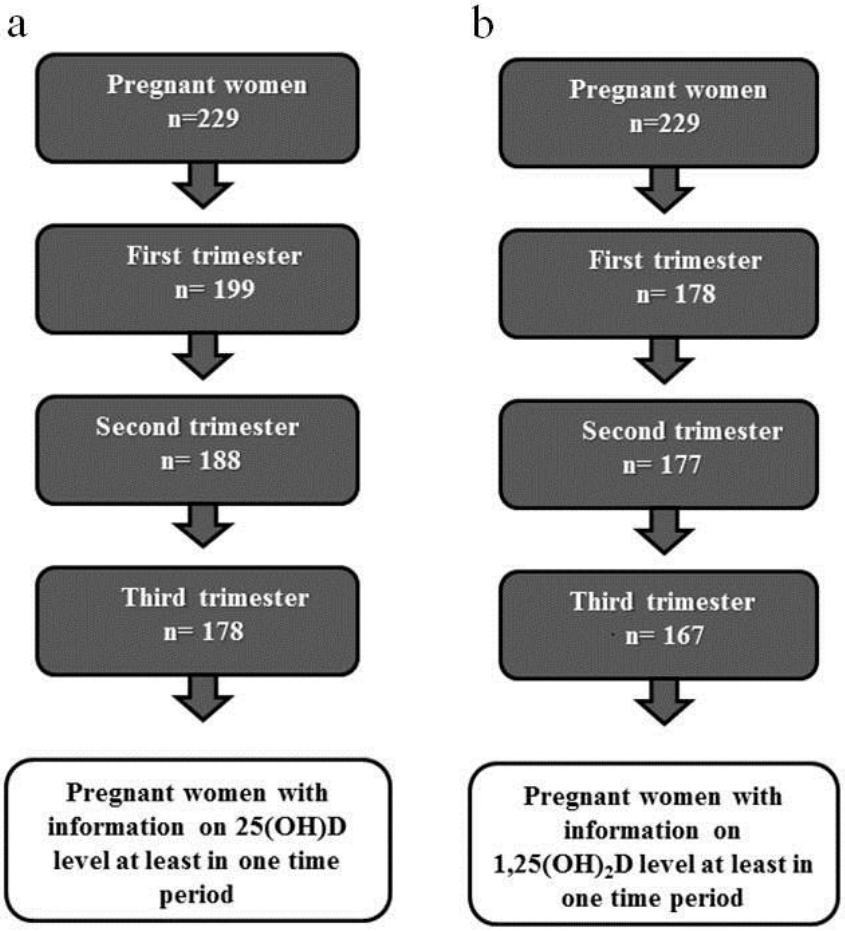



**Fig. 5** Changes in plasma 1,25(OH)$_2$D concentration during pregnancy according to vitamin D status at baseline in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

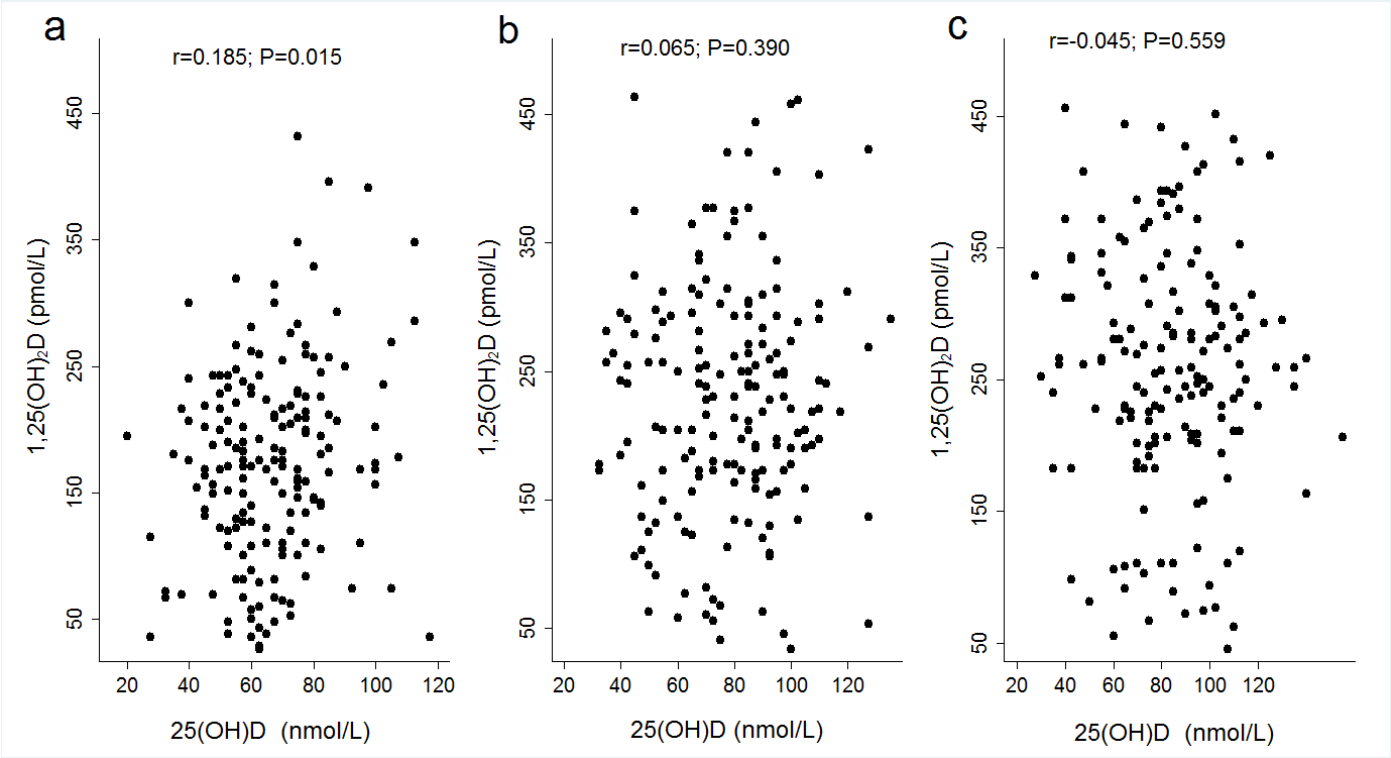
**Notes**: Interaction between vitamin D insufficiency (50-<75 nmol/L) (n= 97) and gestational age: β=2.365; 95% CI, 0.675 to 4.054; P=0.006. Longitudinal model adjusted for seasons at recruitment, parity, education, self-reported skin color and pre-pregnancy Body Mass Index. The shaded grey area represents the 95% confidence interval. The black lines at the bottom of the figure represent the scatter of the data. 1,25(OH)$_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D; β=longitudinal linear regression coefficient, CI=Confidence Interval.

Online Supporting Material




**Online Resource Fig. 1** Flowchart of the selection process of study final sample of pregnant woman followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Note**s: [a] 25(OH)D, total number of observations (data)=565 and total number of groups (women=225). [b] 1,25$(OH)_2$D, total number of observations=522 and total number of groups=214. All women with information for 1,25$(OH)_2$D also present data from 25(OH)D concentrations. 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D; 1,25$(OH)_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D. The group refers to the number of women with at least one data point in time and observations refers to the total number of data points in time for all women.




**Online Resource Fig. 2** Correlation between 1,25$(OH)_2$D and 25(OH)D concentrations during first (a), second (b), and third (c) trimester in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Notes**: [a] first trimester (n=178), [b] second trimester (n=177), [c] third trimester (n=167). 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D; 1,25$(OH)_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D.

**Online Resource Table 1.** Confounders estimates in the longitudinal model of plasma 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations during pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

| | **25(OH)D concentration (nmol/L) according to season at recruitment n=199** | | | | **1,25$(OH)_2$D concentration (pmol/L) according to vitamin D status at baseline n=178** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Variables** | **n** | **β** | **95%CI** | **P** | **n** | **β** | **95%CI** | **P** |
| Gestational age | 199 | 0.103 | -0.174 to 0.380 | 0.465 | 178 | 2.646 | 1.281 to 4.011 | <0.001 |
| Vitamin D status at baseline | | | | | | | | |
| Sufficient (≥75 nmol/L): reference | | | | | 57 | | | |
| Insufficient (50-<75 nmol/L) | _ | _ | _ | _ | 97 | -54.810 | -91.248 to -18.372 | 0.003 |
| Deficient (< 50 nmol/L) | _ | _ | _ | _ | 24 | -33.577 | -86.116 to 18.961 | 0.210 |
| Season at recruitment* | | | | | | | | |
| Summer: reference | 42 | | | | 42 | | | |
| Autumn | 52 | -10.269 | -18.148 to -2.390 | 0.011 | 50 | -22.760 | -47.731 to 2.210 | 0.074 |
| Winter | 51 | -32.215 | -40.259 to -24.171 | <0.001 | 35 | -23.028 | -51.039 to 4.982 | 0.107 |
| Spring | 54 | -22.999 | -30.914 to -15.084 | <0.001 | 51 | -16.988 | -42.377 to 8.400 | 0.109 |
| Parity | | | | | | | | |
| Nulliparous: reference | 78 | | | | 70 | | | |
| Parous | 121 | 4.782 | 0.052 to 9.513 | 0.048 | 108 | 15.414 | -3.426 to 34.253 | 0.109 |
| Education (years) | 199 | 0.121 | -0.686 to 0.928 | 0.769 | 178 | -1.976 | -5.178 to 1.227 | 0.227 |
| Pre-pregnancy BMI (kg/$m^2$) | | | | | | | | |
| <25: reference | 119 | | | | 105 | | | |
| ≥25 | 80 | -2.777 | -7.265 to 1.710 | 0.225 | 73 | 15.757 | -2.383 to 33.896 | 0.089 |
| Self-reported skin color | | | | | | | | |
| White: reference | 54 | | | | 51 | | | |
| Mixed | 92 | -0.133 | -5.406 to 5.140 | 0.960 | 78 | -6.612 | -27.731 to 14.507 | 0.539 |
| Black | 53 | -1.847 | -7.805 to 4.110 | 0.543 | 49 | 3.501 | -20.260 to 27.263 | 0.773 |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Interaction between vitamin D status at baseline and gestational age | | | | | | | | |
| Sufficient (≥75 nmol/L): reference | | | | | 57 | | | |
| Insufficient (50-75 nmol/L) | _ | _ | _ | _ | 97 | 2.365 | 0.675 to 4.054 | 0.006 |
| Deficient (<50 nmol/L) | _ | _ | _ | _ | 24 | 1.126 | -1.307 to 3.560 | 0.364 |
| Interaction between season at recruitment and gestational age | | | | | | | | |
| Summer: reference | 42 | | | | | | | |
| Autumn | 52 | 0.398 | 0.044 to 0.752 | 0.028 | _ | _ | _ | _ |
| Winter | 51 | 1.441 | 1.066 to 1.816 | <0.001 | _ | _ | _ | _ |
| Spring | 54 | 1.126 | 0.758 to 1.493 | <0.001 | _ | _ | _ | _ |

**Notes**: Longitudinal linear regression coefficient (β), 95% confidence interval (CI) and P were calculated using linear mixed effects; winter=June 21st to September 21st; spring=September 22nd to December 20th; summer=December 21st to March 19th; autumn=March 20th to June 20th.; 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D;1,25$(OH)_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D; BMI=Body Mass Index.

## 8.2 *Association between plasma concentrations of vitamin D metabolites and depressive symptoms throughout pregnancy in a prospective cohort of Brazilian women.*

Amanda C. Cunha Figueiredo [a]; Janet Trujillo [a]; Ana Amélia Freitas-Vilela [a, b] ; Ana Beatriz Franco-Sena [a, c]; Fernanda Rebelo [a, d]; Geraldo Marcelo Cunha [e]; Maria Beatriz Trindade de Castro [a, f]; Amanda Farnum [a]; Rana R. Mokhtar [g]; Michael F. Holick [g]; Gilberto Kac [a, f].

[a] Nutritional Epidemiology Observatory, Department of Social and Applied Nutrition, Institute of Nutrition Josué de Castro, Rio de Janeiro Federal University, RJ, Brazil; [b] Special Academic Unit of Health Sciences, Goiás Federal University, GO, Brazil; [c] Department of Social Nutrition, Emília de Jesus Ferreira Nutrition School, Fluminense Federal University, Niteroi, Brazil ; [d] Division of Clinical Trials and Drug Development, National Institute of Cancer, Ministry of Health, RJ, Brazil;. [e] National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; [f] Graduate Program in Nutrition, Institute of Nutrition Josué de Castro, Rio de Janeiro Federal University, RJ, Brazil; [g] School of Medicine, Boston University , Boston, USA.

Author for correspondence

Professor Gilberto Kac, MSc, PhD

Rio de Janeiro Federal University

Institute of Nutrition Josué de Castro,

Avenida Carlos Chagas Filho, 373,

CCS, Bloco J, 2º andar

Cidade Universitária – Ilha do Fundão

Rio de Janeiro, Brasil - 21941-902

Phone: (+55) 21 39386595; Fax: (+55) 21 22808343

*e-mail*: gilberto.kac@gmail.com

## Abstract

Plasma concentrations of vitamin D metabolites can be inversely associated with depressive symptoms. However, few longitudinal studies have investigated this association, especially during pregnancy. The aim of this study was to investigate the association between concentrations of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] and 1,25-dihydroxivitamin D [1,25$(OH)_2$D] with the occurrence of depressive symptoms throughout pregnancy. A prospective cohort of 179 women was followed at $5^{th}$-$13^{th}$, $20^{th}$-$26^{th}$ and $30^{th}$-$36^{th}$ gestational weeks. At each trimester of pregnancy, the plasma concentrations of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D were analyzed by liquid chromatography tandem mass spectroscopy. Vitamin D status was categorized according to the Endocrine Society Practice Guidelines and the Institute of Medicine. Depressive symptoms were measured at each trimester using the Edinburg Postnatal Depressive Scale (cutoff ≥13). Statistical analyses included random intercept logistic regression models for longitudinal analyses. In the first trimester, the prevalence of 25(OH)D <75, <50 and <30 nmol/L were 69.3%, 14.0% and 1.7%, respectively. Prevalence of depressive symptoms were 20.1%, 14.7% and 7.8% for the first, second and third trimesters, respectively. The probability of occurrence of depressive symptoms decreased throughout pregnancy (p-value=0.005). Women with higher concentrations of 25(OH)D in the first trimester presented a lower odds ratio (OR) for the development of depressive symptoms during pregnancy (OR=0.98; 95%CI: 0.96 to 0.99, p-value=0.047) in the adjusted model. In conclusion, there was a higher prevalence of vitamin D inadequacy and depressive symptoms during the first trimester. Higher 25(OH)D concentrations in the first trimester were associated with a decrease of 2% in the odds for presenting depressive symptoms throughout pregnancy.


**Keyword**: Vitamin D; micronutrients; Brazil; depression; mental health; pregnancy.

## 1. Introduction

Depression is considered a major public health issue (WHO, 2012). Pregnancy is a physiological period of strong biological, physical and social changes (Marcus, 2009) in which women are more vulnerable to develop this disease (Soares and Zitek, 2008). The prevalence of this mental disorder during pregnancy in developing and transitional countries, such as Brazil, has been estimated to be around 20%, while in developed countries it is between 10 to 15% (Pereira et al., 2011). Depression during pregnancy is associated with adverse maternal and fetal outcomes, such as postpartum depression (Pereira et al., 2011), low birth weight and preterm birth (Grote et al., 2010).

Previous studies have identified sociodemographic, lifestyle and nutrition characteristics as factors potentially associated with depression during pregnancy (Brandenbarg et al., 2012; Lancaster et al., 2010; Thiengo et al., 2012; Willians et al., 2016). Vitamin D is considered a neurosteroid hormone and its role in the pathophysiology of depression has been investigated (Eyles et al., 2013; Fernandes de Abreu et al., 2009). Moreover, this hormone is important for maternal and child health (Aghajafari et al., 2013; Brandenbarg et al., 2012; Holick et al., 2011; Schneuer et al., 2014). Vitamin D deficiency has been shown to be associated with pre-eclampsia, gestational diabetes, depressive symptoms, low birth weight, and preterm birth (Aghajafari et al., 2013; Brandenbarg et al., 2012; Schneuer et al., 2014).

A systematic review and meta-analysis revealed that vitamin D status is inversely associated with depression in adults and elderly people (Anglin et al., 2013). Having pooled data from nine cross-sectional studies, researchers identified an increased odds ratio (OR) for depressive symptoms (OR=1.31, 95%CI: 1.0-1.71) in women with lower 25(OH)D levels (<50 nmol/L) compared to those with higher levels (25(OH)D (≥50 nmol/L). Similarly, in three cohort studies, an increased hazard ratio

(HR) for depressive symptoms was identified among women with lower 25(OH)D concentrations (<50 nmol/L) compared to women with higher levels (≥50 nmol/L) (HR=2.21, 95%CI: 1.40-3.49). Moreover, the data from one case-control demonstrated that the mean 25(OH)D concentration found in depressed individuals was 67.5 nmol/L and 85 nmol/L in controls (standardized mean difference=0.60, 95%CI: 0.23-0.97) (Anglin et al., 2013).

There is still little evidence concerning the associations between vitamin D status and depressive symptoms during pregnancy (Brandenbarg et al., 2012; Cassidy-Bushrow et al., 2012; Huang et al., 2014; Willians et al. 2016). Moreover, to the best of our knowledge, no study has evaluated the longitudinal association between 25(OH)D and 1,25-dihydroxivitamin D [1,25$(OH)_2$D] concentrations and depressive symptoms assessed at all trimesters of pregnancy in apparently healthy women. The aim of this study was to estimate the association between plasma concentrations of vitamin D biomarkers and depressive symptoms measured longitudinally during pregnancy.

## 2. Material and methods

This a prospective cohort study of pregnant women recruited at a Public Health Center in Rio de Janeiro, Brazil, between November 2009 and October 2011. Pregnant women were invited to participate in the study if they met the following eligibility criteria: being in their $5^{th}$–$13^{th}$ weeks of gestation, aged between 20 and 40 years, free of chronic or infectious diseases (except obesity) and presenting a singleton pregnancy. The participants were followed three times throughout pregnancy: $5^{th}$–$13^{th}$ (baseline), $20^{th}$–$26^{th}$ and $30^{th}$–$36^{th}$ gestational weeks.

The Research Ethics Committee of the Municipal Secretariat of Health and Civil Defense of the State of Rio de Janeiro (Protocol number: 0012.0.249.000-09) approved

the present study. Written consent from all participants was obtained freely and spontaneously, after all necessary clarifications were provided, in accordance with principles of the Declaration of Helsinki.

A total of 322 pregnant women who met the eligibility criteria were invited to participate; of those, 23 chose not to participate. Moreover, 75 women were excluded based on confirmed pre-gestational diagnosis of non-communicable diseases (n=12), diagnosis of chronic or infectious diseases (n=9), twin pregnancy (n=4), missed the baseline interview (n=20), miscarriage (n=25), and stillbirth (n=5). Additionally, 15 women were excluded because of missing data on the Edinburgh Postpartum Depression Scale (EPDS) (n=5) or missing data on confounding variables (n=7), and due to the use of antidepressants at the moment of the baseline evaluation (n=3). For the 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D analyses, 30 and 20 pregnant women were excluded, respectively because they presented no information on these variables at baseline.

The losses to follow-up between the first and second trimester were 23 and 16 women for 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D, respectively. At the second trimester, a subsample of 41 women were invited to participate in a clinical randomized trial (RCT) to test the efficacy of omega-3 supplementation during pregnancy as a means of preventing postpartum depressive symptoms. Women were allocated into a fish-oil (1.8 g of omega-3 per day) or a placebo group (soybean oil) and were followed for 16 weeks. All women who participated in the RCT from the third trimester analysis were excluded, which included 28 participants for the analysis of 25(OH)D and 25 for 1,25$(OH)_2$D.

The total sample size for analyses of 25(OH)D was 179, 156 and 128 and for 1,25$(OH)_2$D was 159, 143 and 118 pregnant women in the first, second and third pregnancy trimester, respectively (**Supplemental Figure 1**).

## 2.1 Vitamin D metabolite concentrations

Maternal blood samples were collected in each follow-up period by a trained technician after a 12 hour fast. Blood samples were centrifuged (at 5,000 rpm for 5 minutes) and plasma was separated and stored at -80°C until analysis.

Plasma 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D were analyzed by the Quest Diagnostics Nichols Institute (San Juan Capistrano, CA, USA) which forms part of the Hormone Standardization Program conducted by the Centers for Disease Control and Prevention. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was the chosen analysis method. The instruments used were the LC Thermo Cohesive System coupled to the Thermo Quantum Ultra Mass Spectrometer (Thermo Fisher; San Jose, CA, USA). Analytical measurement ranges were 19–960 pmol/L for 1,25$(OH)_2$D and 10–640 nmol/L for 25(OH)D. The coefficients of variation for all analyses were <10%.

At baseline, 25(OH)D concentrations were analyzed as continuous variables and were also categorized as vitamin D deficiency (<50 nmol/L) and inadequacy (<75 nmol/L) according to the Endocrine Society Practice Guidelines; and as vitamin D deficiency (<30 nmol/L) and inadequacy (<50 nmol/L) based on the Institute of Medicine (IOM) recommendations (Holick et al., 2011; IOM, 2011). For the longitudinal analyses, 25(OH)D (nmol/L) and 1,25$(OH)_2$D (pmol/L) concentrations were analyzed as continuous variables.

## 2.2 Depressive symptoms

The EPDS scale was assessed by trained interviewers at each trimester of pregnancy in order to evaluate depressive symptoms. This scale consists of ten questions, each one with four answer options that are assigned a score from 0 to 3 (total

score range from 0 to 30) and represent a measure of the mother's mood for the preceding seven days. The EPDS was developed for use in the postpartum period by Cox et al. (1987) and was validated for use in pregnancy by Murray and Cox (1990). This scale was further validated by Santos et al. (2007) in a study with mothers from Pelotas, Rio Grande de Sul, Southern Brazil, in the postpartum period, and according to Santos et al. (2007) the cut-off point of ≥13 (59.5% sensitivity; 88.4% specificity) indicates a high risk for depressive symptoms. Thus, in the present study, we categorized the EPDS score as ≥13 and <13 to evaluate the presence or absence of depressive symptoms, respectively.

**2.3 Covariates assessment**

Structured questionnaires were administered in order to obtain socioeconomic, demographic, reproductive and lifestyle data. The following variables were collected in the first follow-up visit: marital status (lives with a partner/does not live with a partner), per-capita family (R$), parity (0 parturition/≥1 parturition), smoking habit (yes/no), alcohol intake (yes/no), self-reported skin color (white/mixed/black), leisure physical activity before pregnancy (yes/no) and planned pregnancy (yes/no). The season was classified according to the date of recruitment as follows: winter (June 21st to September 21st); spring (September 22nd to December 20th); summer (December 21st to March 19th); or autumn (March 20th to June 20th). Information on age and education was analyzed both as continuous (years) and categorical (<30/≥30 years and <8/≥8 years, respectively) variables.

The gestational age was calculated based on data from the first ultrasonography (USG) examination or in cases where the first USG was not performed prior to the 24$^{th}$ week of gestation, data on the last menstrual period was used instead. Previous history

of depression (yes/no) was evaluated at baseline of the study according to the MINI International Neuropsychiatric Interview (Sheehan, 1998). Pre-gestational body mass index (BMI) (weight [kg]/height [m²]) was calculated based on self-reported pre-gestational weight and on the height (cm) measured at baseline using a portable stadiometer (SECA Ltd., Hamburg, Germany).

Intake of vitamin D (IU/day) and calcium (mg/day) were adjusted for total energy using the residual method (Willett et al., 1997). Intake was estimated using the food composition reference from the Tables of Nutritional Composition of Food Consumed from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE, 2011). These data were obtained using a semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ), which was administered by trained interviewers during the third trimester. This questionnaire was further validated for the adult population of Rio de Janeiro, Brazil (Sichieri and Everhart, 1998) and referred to the last six months.

**2.4 Statistical analysis**

We compared the main characteristics between 299 women that chose to participate in the present study and the 179 that were enrolled at baseline in order to assess for potential selection bias and the profile of women who reached the final follow-up and those who were lost to follow-up or excluded from the analysis.

Normality of continuous variables was assessed by Shapiro-Wilks tests and histograms. The characteristics at baseline were evaluated according to presence or absence of depressive symptoms. These characteristics were described using means and standard deviations (SD) for continuous variables and relative frequencies (%) for categorical variables. Student's T and chi-squared tests were employed to compare mean and proportions, respectively. Fisher's exact tests were applied to compare proportions

when n<5. The prevalence of depressive symptoms throughout pregnancy was compared using the McNemar test.

The association between baseline concentrations of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D as continuous variables, and depressive symptoms (EPDS ≥13/<13) during pregnancy were estimated with random intercept logistic regression models. This analysis considers the correlation structure of the measures in the same woman. The probability of depressive symptoms was also calculated throughout pregnancy according to the concentrations of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D in the first trimester adjusting for relevant confounders.

The confounders were selected based on a directed acyclic graph (DAG) that was constructed with DAGitty; an online free software (Textor et al., 2011). The DAG is a graphical model that functions to identify minimal sufficient adjustment to estimate causal effects between exposure and outcome. The DAG for the causal relationship between 25(OH)D and depressive symptoms suggested that the following variables should be adjusted: gestational age, age, pre-pregnancy body mass index, self-reported skin color, previous history of depression, education, alcohol intake and smoking habit (**Supplemental Figure 2**).

Analyses were performed using Stata (version 12.0) and R (version 3.3.1) software. A p-value of <0.05 was considered significant.

## 3. Results

The analysis of data from women that chose to participate (n=299) and those that were enrolled at baseline (n=179) revealed that losses to follow-up occurred randomly. No differences were identified regarding 25(OH)D, 1,25$(OH)_2$D, depressive symptoms or socio-demographic, lifestyle and reproductive characteristics at baseline

when women who completed the follow-up were compared to those classified as losses to follow-up or who were excluded (**data not shown).**

Women with depressive symptoms at baseline (EPDS ≥13) tended to have lower mean (SD) of per-capita family income [450.1 (356.4) *vs*. 569.9 (322.8) *reais*], vitamin D intake [154.0 (76.9) *vs*. 196.2 (196.2) IU/day] and calcium intake [675.0 (289.7) *vs.* 810.4 (373.7) mg/day]. They also had higher frequencies of previous history of depression (75.0% *vs.* 38.5%), of not living with a partner (33.3% *vs.* 16.8%), of carrying an unplanned pregnancy (77.8% *vs.* 56.6%) and pre-pregnancy obesity (22.2% *vs.* 10.5%) compared to women without depressive symptoms in the first trimester. The prevalence of 25(OH)D <30, <50 and <75 nmol/L at baseline were 1.7%, 14.0% and 69.3%, respectively (**Table 1**).

The prevalence of depressive symptoms were 20.1%, 14.7% and 7.8% in the first, second and third trimesters, respectively. The prevalence of depressive symptoms was higher in the first trimester compared to the third trimester of pregnancy (p-value= 0.012) (**Supplemental Figure 3**). The predicted probability of depressive symptoms decreased throughout pregnancy (p-value= 0.005) **(Figure 1)**.

A 2% decrease in the odds of having depressive symptoms throughout pregnancy was observed for each one-unit increase in 25(OH)D concentrations in the first trimester, considering the longitudinal change in the same women during pregnancy (OR=0.98; 95%CI: 0.96-0.99, p-value=0.047) in the adjusted model. This result was not observed when 1,25$(OH)_2$D in the first trimester was considered (**Table 2**). The evolution of longitudinal concentrations of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D throughout pregnancy trimesters did not present significant associations with depressive symptoms (**Table 3)**. Higher concentrations of 25(OH)D nmol/L in early pregnancy

represents lower predicted probability of depressive symptoms during pregnancy in the adjusted model (p-value=0.047) (**Figure 2**).

## 4. Discussion

This study has three main findings. First, the prevalence of depressive symptoms was high, particularly in the first trimester (20.1%) and the longitudinal probability of developing these symptoms decreased throughout pregnancy. Second, a high prevalence of women with 25(OH)D concentrations <75 nmol/L (69.3%) in early pregnancy was identified despite Rio de Janeiro being a tropical region (23°S latitude). Finally, the present study observed that each one-unit increase of 25(OH)D in early pregnancy was associated with a 2.0% reduction in the odds of developing depressive symptoms.

A prevalence of depressive symptoms similar to the one reported in the present study utilized a cutoff-point of 13 or more was observed in a sample of 4,130 pregnant women between the $16^{th}$–$24^{th}$ gestational weeks from Pelotas, a Southern Brazilian city (EPDS ≥ 13=16.0%) (Coll et al., 2017). Moreover, the prevalence of depression in developing countries is usually higher than in developed ones (Pereira et al., 2011). Perlen et al. (2013) reported that 9% of their sample of 1,507 nulliparous Australian women evaluated in early pregnancy presented depressive symptoms (EPDS ≥ 13). Lara et al. (2015) demonstrated a prevalence of 16.6% when assessing depressive symptoms according to the Patient Health Questionnaire (cutoff ≥9) in 280 Mexican women during the third trimester of pregnancy.

Few longitudinal studies have evaluated depressive symptoms during pregnancy and the results of this study are similar to previous investigations that observed a decrease in depressive symptoms during this period (Figueiredo and Conde, 2011; Micali et al., 2011). Figueiredo and Conde (2011) investigated depressive symptoms

(EPDS ≥ 10) from early pregnancy to 3-months postpartum in 260 Portuguese women and observed a prevalence of 20.0%, 19.6%, 17.4% in women in the first, second, and third pregnancy trimesters, respectively. Micali et al. (2011) assessed depressive symptoms (EPDS ≥ 12) in 9,660 women from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children, and reported that depression scores significantly decreased over time. Values were 10.6%, 6.6%, 2.0% and 1.1% at 18 and 32 weeks of pregnancy and at 8 weeks and 8 months post-partum, respectively.

Through this study, it was observed that women with depressive symptoms in the first trimester of pregnancy had higher pre-pregnancy BMI ≥30 (kg/m$^2$) (22.2%) compared to those without depressive symptoms (10%), corroborating results previously published by Molyneaux et al. (2014). Body fat can sequester vitamin D causing obese pregnant women to become more vulnerable to vitamin D deficiency (Bodnar et al., 2007). Thus, BMI is considered an important confounder.

The identification of confounders on the causal relationship of an exposure and an outcome is still a great matter of debate. The use of the DAG approach was found to be more widespread recently and should be considered as an important tool in determining causal relationships. Such an approach can avoid over adjustments and minimize the magnitude of the bias in the produced estimate (Textor et al., 2011). The scientific literature has shown that dietary intake of vitamin D and season are variables widely recognized for its influence on vitamin D plasma concentrations. Vitamin D it is metabolized in the liver to 25(OH)D and thus impacts plasma concentrations of vitamin D metabolites (Holick, 2007). In relation to the season, although it is recognized as an important determinant of vitamin D (Figueiredo et al., 2017), it is uncommon to find seasonal affective disorders in Brazil, as it is a tropical country with abundant sunlight throughout the year (D'incao and Gastaud, 2015; Kerr-Correa et al., 1998; Marqueze et

al., 2015). According to the DAG that has driven our confounder selection, neither vitamin D intake nor season were identified as confounders. Thus, in the present study, these variables were not considered in the multiple regression analysis (Textor et al., 2011).

There is a high interest in studies that investigate the association between plasma concentrations of vitamin D and depression (Anglin et al., 2013; Holick et al., 2011; IOM, 2011). There is a strong biological plausibility for the association between vitamin D plasma concentrations and depressive symptoms. Vitamin D receptors are present in diverse brain areas that are possibly involved in depression such as the hypothalamus, *substantia nigra*, and prefrontal cortex (Eyles et al., 2005; Eyles et al., 2013). Moreover, the active metabolite of vitamin D, 1,25$(OH)_2$D, modulates the dopamine and serotonin synthesis by transcription of the tryptophan hydroxylase 2 and tyrosine hydroxylase genes, respectively (Eyles et al., 2013; Patrick et al., 2014). These neurotransmitters can be involved in the pathophysiology of mood disorders (Hasler, 2010; Soares and Zitek, 2008). Additionally, 1,25$(OH)_2$D regulates the neurotrophic factors and act in processes such as neuroprotection and neuroplasticity in the brain (Brown et al., 2003; Fernandes de Abreu, 2009; Eyles et al., 2013).

The present study observed that each one-unit increase of 25(OH)D in early pregnancy was associated with a 2.0% reduction in the odds of developing depressive symptoms, considering the longitudinal change in the same women during pregnancy. Thus, the results of this study present clinical health relevance considering that the women in the 25th percentile of the distribution of 25(OH)D (55 nmol/L) had on average, less 22.5 nmol/L concentration units than women on the 75th percentile (77.5 nmol/L). Based on the random intercept logistic model applied, (1-exp(-0.02*22.5)=0.3623718), this would represent a 36.2% higher chance of developing

depressive symptoms throughout pregnancy for those with less 25(OH)D. No significant association was observed for 1,25$(OH)_2$D concentrations. Several factors may explain the results found in the present study. First, 25(OH)D is the best biomarker available to assess vitamin D status (Holick et al., 2011; IOM, 2011). Second, plasma concentrations of 1,25$(OH)_2$D are very tightly regulated and vary according to the concentrations of parathyroid hormone, fibroblast growth factor, calcium and phosphorus (Holick et al., 2011; IOM, 2011). However, the extra-renal synthesis of 1,25$(OH)_2$D in organs such as the brain depends mainly on the local factors and presence of 25(OH)D concentrations (Adams and Hewison, 2012; Höbaus et al., 2013; Holick et al., 2011; Schlögl and Holick, 2014). Thus, lower concentrations of 25(OH)D have an impact on extrarenal production of 1,25$(OH)_2$D.

Moreover, when 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations in each trimester of pregnancy were considered, no association was observed with depressive symptoms during pregnancy. Physiological adaptations alter maternal concentrations of vitamin D metabolites in order to provide sufficient calcium for fetal bone mineralization, mainly in women that started pregnancy with low concentrations of 25(OH)D (Brannon and Picciano, 2011; Figueiredo et al., 2017). Figueiredo et al. (2017) observed that healthy pregnant Brazilian women with insufficient vitamin D status in the first trimester had a greater increase in 1,25$(OH)_2$D concentrations throughout pregnancy in comparison to women with sufficient vitamin D (50–<75 nmol/L). Thus, through this study it is suggest that 25(OH)D concentrations in the first trimester may be associated with pregnancy outcomes more than concentrations of 25(OH)D measured at second or third trimesters (Boyle et al, 2016; Figueiredo et al., 2017; Lepsch et al., 2017; Schneuer et al., 2014; Willians et al., 2016).

Similar results have been shown among several studies which evaluated the association between 25(OH)D concentrations and depressive symptoms during pregnancy (Brandenbarg et al., 2012; Cassidy-Bushrow et al., 2012; Huang et al., 2014; Willians et al., 2016). Huang et al. (2014) found significant association between 25(OH)D concentrations and depressive symptoms at 16$^{th}$ gestational week in 498 American women who reported no leisure time physical activity. Cassidy-Bushrow et al. (2012) observed that for every 1-unit increase in log 25(OH)D concentrations in early pregnancy the odds of depressive symptoms evaluated between 13$^{th}$–28$^{th}$ gestation weeks decreased by 46% among 178 African American women. Brandenbarg et al. (2012) demonstrated that vitamin D deficiency [25(OH)D <30 nmol/L] or vitamin D insufficiency [25(OH)D 30–<50 nmol/L] in the first trimester was significantly associated with depressive symptoms at the 6$^{th}$ week gestation when compared with women with vitamin D adequacy [25(OH)D ≥80 nmol/L] among 4,236 women from the Netherlands, Amsterdam. A recent cohort among 126 pregnant women residing in Michigan (US) exhibited an inverse association between maternal 25(OH)D at 12–20 weeks and depression symptoms at 12-20 and 34–36 weeks of gestation (Willians et al. 2016).

A high prevalence of vitamin D inadequacy [25(OH)D <75 nmol/L) (69.3%) was observed during pregnancy. Similar results have also been reported worldwide (Sarafa et al., 2015; Schneuer et al., 2014). In countries such as Thailand (14°01’N); Australia (34°S) and Ireland (52°N), for example, the prevalence of vitamin D inadequacy in the first trimester of pregnancy using the same cutoff-point of the present study were 83.3%, 80.4% and 75.0%, respectively (Charatcharoenwitthaya et al., 2013; Kiely et al., 2016; Schneuer et al., 2014).

Some limitations of the present study should be highlighted. The main limitation was the losses to follow-up. However, these occurred randomly and no differences were found regarding 25(OH)D, 1,25$(OH)_2$D, depressive symptoms and baseline characteristics between pregnant women with data in all trimesters or those with data in at least one trimester. The high prevalence of the women with previous history of depression may be seen as a possible limitation, considering that these women may have less sunlight exposure, which could put them at risk for vitamin D deficiency (Penckofer et al., 2010; McCue et al., 2012). Thus, the possibility of reverse causality cannot be ruled out. An attempt to minimize this limitation by comparing the 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations among women with or without a previous history of depression was performed and no significant differences were found. Furthermore, pregnant women who used antidepressants at baseline were also excluded, and the subsequent analyses were adjusted by previous history of depression.

A further limitation exists in the use of EPDS that could have introduced misclassification of depression considering that this instrument does not provide a clinical diagnosis of this disorder, rather, the questionnaire only screens for the presence of depressive symptoms. However, any misclassification would be non-differential considering the misclassification rates do not differ between the study groups (Gordis, 2009). Moreover, the Brazilian version of the EPDS has been validated for postpartum women (Santos et al., 2007). In addition to the above, this instrument has been widely used during pregnancy in Brazil and around the world (Coll et al., 2017; Micali et al., 2011).

Some significant strengths are also demonstrated by this study. The longitudinal design allows for measurement of changes over time. Moreover, the random intercept logistic regression model was utilized adjusted for important confounders based on the

DAG. This study also analyzed both 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D whereas many studies only analyze 25(OH)D concentrations. The 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D were analyzed using a gold standard method (LC-MS/MS). Moreover, we also presented data of vitamin D and calcium intake, vitamin D supplementation.

## 5. Conclusion

The findings from this prospective study demonstrated a high prevalence of vitamin D inadequacy and depressive symptoms in apparently healthy pregnant women residing in a developing country located in a tropical region. Women with higher concentrations of 25(OH)D in early pregnancy were associated with lower odds of depressive symptoms during pregnancy, after adjustment for relevant confounders. There is a high interest in modifiable risk factors for the prevention or treatment of depression. Improving vitamin D status among pregnant women may be a cost-effective strategy. However, future prospective and RCT studies among pregnant women are needed to assess causality between vitamin D concentrations and depression.

**References**

Adams, J.S., and Hewison., M. Extrarenal expression of the 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylase. Arch Biochem Biophys. 2012; 523, 95-102.

Aghajafari, F., Nagulesapillai, T., Ronksley, P.E., Tough, SC., O'Beirne, M., and Rabi, D.M. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 2013; 346:f1169

Anglin, R.E., Samaan, Z., Walter, S.D., McDonald, S.D. Vitamin D deficiency and depression in adults: systematic review and meta-analysis. Br J Psychiatry. 2013; 202: 100-107.

Bérard, A., Zhao, J. P., and Sheehy, O. Antidepressant use during pregnancy and the risk of major congenital malformations in a cohort of depressed pregnant women: an updated analysis of the Quebec Pregnancy Cohort. BMJ Open. 2017; 7, e013372.

Bodnar, L.M., Catov, J.M., Roberts, J.M., and Simhan, H.N. Prepregnancy obesity predicts poor vitamin D status in mothers and their neonates. J Nutr. 2007; 137, 2437-2442.

Boyle, V.T., Thorstensen, E.B., Mourath, D., Jones, M.B., McCowan, L.M., Kenny, L.C., and Baker, P.N. 2016. The relationship between 25-hydroxyvitamin D concentration in early pregnancy and pregnancy outcomes in a large, prospective cohort. Br J Nutr. 2017; 116:1409-1415.

Brandenbarg, J., Vrijkotte, T.G., Goedhart, G., and van, Eijsden, M. Maternal early-pregnancy vitamin D status is associated with maternal depressive symptoms in the Amsterdam Born Children and Their Development cohort. Psychosom Med. 2012; 74: 751-757.

Brannon, P. M., and Picciano, M. F.. Vitamin D in pregnancy and lactation in humans. Annu Rev Nutr. 2011; 31, 89-115.

Brazilian Institute of Geography and Statistics. National Household Budget Survey. Nutritional composition table of food consumed in Brazil. 2011.

http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_composicao_nutricional/ (accessed 5/01/2016).

Brown, J., Bianco., J.I, McGrath, J.J., and Eyles, D.W. 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces nerve growth factor, promotes neurite outgrowth and inhibits mitosis in embryonic rat hippocampal neurons. Neurosci Lett. 2003; 343, 139-143.

Cassidy-Bushrow, A.E., Peters, R.M., Johnson, D.A., Li, J., and Rao, D.S. Vitamin D nutritional status and antenatal depressive symptoms in African American women. J Womens Health (Larchmt). 2012; 21, 1189-1195.

Charatcharoenwitthaya, N., Nanthakomon, T., Somprasit, C., Chanthasenanont, A., Chailurkit, L.O., Pattaraarchachai, J., and Ongphiphadhanakul, B. Maternal vitamin D status, its associated factors and the course of pregnancy in Thai women. Clin Endocrinol (Oxf). 2013; 78, 126-133.

Coll, C.V., da Silveira, M.F., Bassani, D.G., Netsi, E., Wehrmeister, F.C., Barros, F.C., and Stein, A. Antenatal depressive symptoms among pregnant women: Evidence from a Southern Brazilian population-based cohort study. J Affect Disord. 2017; 209, 140-146.

Cox, J. L., Holden, J. M., and Sagovsky, R. Detection of postnatal depression. Development of the 10-item Edinburgh Postnatal Depression Scale. Br J Psychiatry. 1987; 150, 782-6.

D'incao, D.A., and Gastaud, M. B. Investigating the association between depressive symptoms and complaints in different seasons. Fractal: Revista de Psicologia. 2015; 27, 152-159.

Eyles, D. W., Burne, T. H., and Mcgrath, J. J. Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. Front Neuroendocrinol. 2013; 34, 47-64.

Eyles, D.W., Smith, S., Kinobe, R., Hewison, M., and McGrath, J.J. Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. J Chem Neuroanat. 2005; 29, 21-30.

Fernandes de Abreu, D.A., Eyles, D., Féron, F. Vitamin D, a neuro-immunomodulator: implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. Psychoneuroendocrinology. 2009; 34, S265-277.

Figueiredo, B., Conde, A. Anxiety and depression in women and men from early pregnancy to 3-months postpartum. Arch Womens Ment Health. 2011; 14, 247-255.

Figueiredo, A. C., Cocate, P.G., Adegboye, A.R., Franco-Sena, A. B., Farias, D. R., de Castro, M. B., Brito, A., Allen, L. H., Mokhtar, R. R., Holick, M. F., and Kac, G. Changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D during pregnancy: a Brazilian cohort. Eur J Nutr. 2017.

Gordis, L. Epidemiology. 4th edition. Philadelphia: Saunders, Elsevier. 2009.

Grote, N.K., Bridge, J.A., Gavin, A.R., Melville, J.L., Iyengar, S., and Katon, W.J. A meta-analysis of depression during pregnancy and the risk of preterm birth, low birth weight, and intrauterine growth restriction. Arch Gen Psychiatry. 2010; 67:1012-1024.

Hasler, G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? World Psychiatry.2010; 9, 155-161.

Höbaus, J., Thiem, U., Hummel, D.M., and Kallay, E. Role of calcium, vitamin D, and the extrarenal vitamin D hydroxylases in carcinogenesis. Anticancer Agents Med Chem. 2013; 13, 20-35.

Holick, M.F., Binkley, N.C., Bischoff-Ferrari, H.A., Gordon, C.M., Hanley, D.A, Heaney, R.P, Murad, M.H., and 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.

Huang, J.Y., Arnold, D., Qiu, C.F., Miller, R.S., and William, M.A., and Enquobahrie, D.A. Association of serum vitamin D with symptoms of depression and anxiety in early pregnancy. J Womens Health (Larchmt). 2014; 23, 588-595.

Institute of medicine (US). Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium: Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC). 2011. National Academies Press (US).

Kerr-Correa, F., Souza, L.B., and Calil, H.M. Affective disorders, hospital admissions, and seasonal variation of mania in a subtropical area, southern hemisphere. Psychopathology. 1998; 31, 265-269.

Kiely, M.E., Zhang, J.Y., Kinsella, M., Khashan, A.S., and Kenny, L.C. Vitamin D status is associated with uteroplacental dysfunction indicated by pre-eclampsia and small-for-gestational-age birth in a large prospective pregnancy cohort in Ireland with low vitamin D status. Am J Clin Nutr. 2016; 104, 354-61.

Lancaster, C.A., Gold, K.J., Flynn, H.A., Yoo, H., Marcus, S.M., and Davis, M.M. Risk factors for depressive symptoms during pregnancy: a systematic review. Am J Obstet Gynecol, 2010; 202, 5-14.

Lara, M.A., Navarrete, L., Nieto, L., Martín, J.P., Navarro, J.L., and Lara-Tapia, H. Prevalence and incidence of perinatal depression and depressive symptoms among Mexican women. J Affect Disord. 2015; 175, 18-24.

Marcus, S.M. Depression during pregnancy: rates, risks and consequences- Motherisk Update 2008. Can J Clin Pharmacol. 2009; 16, e15-22.

Marqueze, E.C., Vasconcelos, S., Garefelt, J., Skene, D.J., Moreno, C.R., and Lowden, A. Natural light exposure, sleep and depression among day workers and shift workers at Arctic and Equatorial latitudes. Gamble KL, ed. PLoS one. 2015; 10, e0122078.

McCue, R. E., Charles, R. A., Orendain, G. C. M., Joseph, M. D., & Abanishe, J. O. (2012). Vitamin D Deficiency Among Psychiatric Inpatients. The Primary Care Companion to CNS Disorders. 2012; 14, PCC.11m01230.

Micali, N., Simonoff, E., and Treasure, J. Pregnancy and post-partum depression and anxiety in a longitudinal general population cohort: the effect of eating disorders and past depression. J Affect Disord. 2011; 131, 150-7.

Molyneaux, E., Poston, L., Ashurst-Williams, S., and Howard, L.M. Obesity and mental disorders during pregnancy and postpartum: a systematic review and meta-analysis. Obstet Gynecol. 2014; 123, 857-867.

Murray, D., and Cox, J.L. Screening for depression during pregnancy with the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS). J Reprod Infant Psychol. 1990; 8, 99–107.

Patrick, R.P., and Ames, B.N. Vitamin D hormone regulates serotonin synthesis. Part 1: relevance for autism. FASEB J. 2014; 28, 2398-413.

Penckofer, S., Kouba, J., Byrn, M., and Ferrans, C.E. Vitamin D and Depression: Where is all the Sunshine? Issues in Mental Health Nursing. 2010; 31, 385-393.

Pereira, P.K., Lovisi, G.M., Lima, L.A., Legay, L.F., Santos, J.F.C., Santos, S.A., Thiengo, D.L., and Valencia, E. Depression During Pregnancy: Review of Epidemiological and Clinical Aspects in Developed and Developing Countries. Psychiatric Disorders. 2011.

Perlen, S., Woolhouse, H., Gartland, D., and Brown, S.J. Maternal depression and physical health problems in early pregnancy: findings of an Australian nulliparous pregnancy cohort study. Midwifery. 2013; 29: 233-239.

Santos, I.S., Matijasevich, A., Tavares, B.F., Barros, A.J., Botelho, I.P., Lapolli, C., Magalhães, P.V., Barbosa, A.P., and Barros, F.C. Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. Cad Saude Publica. 2007; 23, 2577-2588.

Saraf, R., Morton, S.M., Camargo, C.A., and Grant, C.C. Global summary of maternal and newborn vitamin D status - a systematic review. Matern Child Nutr. 2016;12, 647-668.

Schlögl, M., and Holick, M.F. Vitamin D and neurocognitive function. Clin Interv Aging. 2014; 9, 559-568.

Schneuer, F.J., Roberts, C.L., Guilbert, C., Simpson, J.M., Algert, C.S., Khambalia, A.Z., Tasevski, V., Ashton, A.W., Morris, J.M., and Nassar, N. Effects of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the first trimester on subsequent pregnancy outcomes in

an Australian population. Am J Clin Nutr. 2014; 99, 287-295.

Sheehan, D.V., Lecrubier, Y., Sheehan, K.H., Amorim, P., Janavs, J., Weiller, E., Hergueta, T., Baker, R., and Dunbar, G.C. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. J Clin Psychiatry. 1998; 59, Suppl 20, 22-33; quiz 34-57.

Sichieri, R., and Everhart, J.E. Validity of a Brazilian food frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. Nutrition Research, 1998.

Soares, C.N., and Zitek, B. Reproductive hormone sensitivity and risk for depression across the female life cycle: a continuum of vulnerability? J Psychiatry Neurosci. 2008; 33, 331-343.

Textor, J., Hardt, J., and Knüppel, S. DAGitty: a graphical tool for analyzing causal diagrams. Epidemiology. 2011; 22, 745.

Thiengo, D.L., Pereira, P.K., Santos, J.F.C., Cavalcanti, M.T., and Lovisi, G.M. Depressão durante a gestação e os desfechos na saúde do recém-nascido: coorte de mães atendidas em unidade básica de saúde. J. bras. Psiquiatr. 2012; 61, 214-220.

Willett, W.C., Howe, G.R., and Kushi, L.H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. Am. J. Clin. Nutr. 1997; 65, 1220–1228.

Williams, J.A., Romero, V.C., Clinton, C.M., Vazquez, D.M., Marcus, S.M., Chilimigras, J.L., Hamilton, S.E., Allbaugh, L.J., Vahratian, A.M., Schrader, R.M., and Mozurkewich, E.L.Vitamin D levels and perinatal depressive symptoms in women at risk: a secondary analysis of the mothers, omega-3, and mental health study. BMC Pregnancy Childbirth. 2016; 16, 203.

World Health Organization (WHO). Depression. Fact sheet No. 369. 2012. (http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/ (accessed 5/12/2017).

**Table 1**. Baseline characteristics of pregnant women with and without depressive symptoms followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009–2012.

| **Variables** | **All (n= 179)** | **EPDS <13 (n= 143)** | **EPDS ≥13 (n= 36)** | **P-value** [*, ‡, ⊢] |
|---|---|---|---|---|
| | n [mean (SD)] | n [mean (SD)] | | |
| 25(OH)D (nmol/L) | 179 [66.2 (17.5)] | 143 [66.6 (18.0)] | 36 [64.4 (15.8)] | 0.254 |
| 1,25$(OH)_2$D (pmol/L) | 159 [172.5 (76.7)] | 126 [174.9 (78.0)] | 33 [163.4 (72.2)] | 0.224 |
| Depressive symptoms (score) | 179 [8.7 (4.6)] | 143 [7.0 (3.2)] | 36 [15.5 (2.3)] | **< 0.001** |
| Age (years) | 179 [26.8 (5.6)] | 143 [26.7 (5.4)] | 36 [27.4 (6.4)] | 0.477 |
| Per-capita family income (R$) | 179 [545.8 (332.3)] | 143 [569.9 (322.8)] | 36 [450.1 (356.4)] | 0.052 |
| Dietary vitamin D intake during pregnancy (IU/day) | 154 [371.8 (108.5)] | 123 [380.3 (113.8)] | 31 [338.1 (76.9)] | 0.052 |
| Dietary calcium intake during pregnancy (mg/day) | 153 [1550.5 (361.5)] | 122 [1578.0 (373.7) | 31 [1442.5 (289.7)] | 0.062 |
| | n (%) | n (%) | | |
| Previous history of depression | | | | **< 0.001** |
| No | 97 (54.2) | 88 (61.5) | 9 (25.0) | |
| Yes | 82 (45.8) | 55 (38.5) | 27 (75.0) | |
| Alcohol consumption | | | | 0.861 |
| No | 146 (81.6) | 117 (81.8) | 29 (80.6) | |
| Yes | 33 (18.4) | 26 (18.2) | 7 (19.4) | |
| Smoking habit | | | | 0.572 |
| No | 170 (95.0) | 136 (95.1) | 34 (94.4) | |
| Yes | 9 (5.0) | 7 (4.9) | 2 (5.6) | |

| Variables | All (n= 179) | EPDS <13 (n= 143) | EPDS ≥13 (n= 36) | P-value *, ‡, ⊢ |
|---|---|---|---|---|
| | n (%) | n (%) | | |
| Education (years) | | | | 0.111 |
| <8 | 55 (30.7) | 40 (28.0) | 15 (41.7) | |
| ≥8 | 124 (69.3) | 103 (72.0) | 21 (58.3) | |
| Marital status | | | | **0.027** |
| Lives with a partner | 143 (79.9) | 119 (83.2) | 24 (66.7) | |
| Does not lives with a partner | 36 (20.1) | 24 (16.8) | 12 (33.3) | |
| Pre-pregnancy BMI (kg/m$^2$) | | | | 0.060 |
| <30 | 156 (87.2) | 128 (89.5) | 28 (77.8) | |
| ≥30 | 23 (12.8) | 15 (10.5) | 8 (22.2) | |
| Leisure physical activity before pregnancy | | | | 0.593 |
| No | 133 (74.3) | 105 (73.4) | 28 (77.8) | |
| Yes | 46 (25.7) | 38 (26.6) | 8 (22.2) | |
| Parity | | | | 0.137 |
| 0 | 69 (38.6) | 59 (41.2) | 10 (27.8) | |
| ≥1 | 110 (61.4) | 84 (58.8) | 26 (72.2) | |
| Planned pregnancy | | | | **0.020** |
| No | 109 (60.9) | 81 (56.6) | 28 (77.8) | |
| Yes | 70 (39.1) | 62 (43.4) | 8 (22.2) | |
| Self-reported skin color | | | | 0.361 |
| White | 48 (26.8) | 36 (25.2) | 12 (33.3) | |
| Mixed | 86 (48.1) | 68 (47.5) | 18 (50.0) | |
| Black | 45 (25.1) | 39 (27.3) | 6 (16.7) | |

| Variables | All (n= 179) | EPDS <13 (n= 143) | EPDS ≥13 (n= 36) | P-value *, ‡, ⊢ |
|---|---|---|---|---|
| | n (%) | n (%) | | |
| Season at recruit | | | | 0.137 |
| Winter | 43 (24.0) | 31 (21.6) | 12 (33.3) | |
| Spring | 48 (26.8) | 37 (25.9) | 11 (30.6) | |
| Summer | 37 (20.7) | 34 (23.8) | 3 (8.3) | |
| Autumn | 51 (28.5) | 41 (28.7) | 10 (27.8) | |
| Vitamin D status | | | | |
| 25(OH)D <75 nmol/L | | | | 0.216 |
| No | 55 (30.7) | 47 (32.9) | 8 (22.2) | |
| Yes | 124 (69.3) | 96 (67.1) | 28 (77.8) | |
| 25(OH)D <50 nmol/L | | | | 0.403 |
| No | 154 (86.0) | 122 (85.3) | 32 (88.9) | |
| Yes | 25 (14.0) | 21 (14.7) | 4 (11.1) | |
| 25(OH)D <30 nmol/L | | | | 0.508 |
| No | 176 (98.3) | 140 (97.9) | 36 (100.0) | |
| Yes | 3 (1.7) | 3 (2.1) | 0 (0.0) | |

**Notes**: [1]Depressive symptoms evaluated according to Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS); *p-value refers to Students t test; ‡p-value refers to chi-squared test (n≥5); ⊢p-value refers to Fisher's exact test (n<5). The significance of bold values is p-value<0.05. BMI=Body Mass Index; 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D; 1,25(OH)$_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D; IU= International Unit.

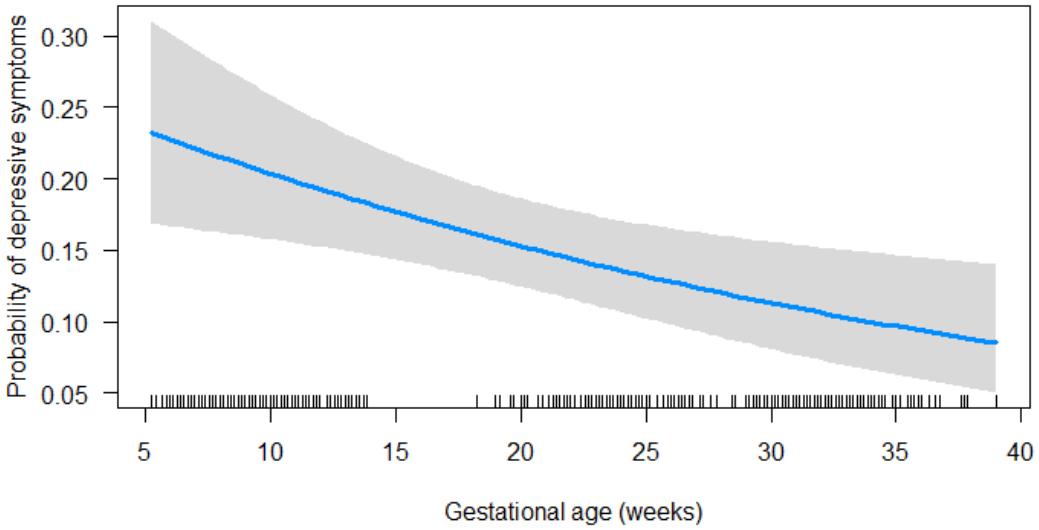



**Figure 1**. Predicted probabilities of depressive symptoms throughout pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Notes**: The line represents the probabilities of depressive symptoms and the shaded grey area represents the 95% confidence intervals. Depressive symptoms were evaluated according to Edinburgh Postnatal Depression Scale (<13/≥13); n=187 groups; n=470 observations; the group refers to the number of women with at least one data point in time and observation refers to the total number of data points in time for all women. P-value=0.005.

**Table 2**. Random intercept logistic model between first trimester vitamin D concentrations and depressive symptoms[1] measured prospectively in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009–2012.

| | **Depression symptoms (<13/≥13)[1]** | | |
|---|---|---|---|
| | OR[2] | 95% CI | p-value[3] |
| **First trimester 25(OH)D (nmol/L)** | 0.98 | 0.96-0.99 | **0.047** |
| Gestational age (weeks) | 0.96 | 0.94-0.98 | **<0.001** |
| Age (<30/≥30) | 0.71 | 0.39-1.26 | 0.249 |
| Pre-pregnancy BMI (<30/≥30 kg/m$^2$) | 1.60 | 0.79-3.21 | 0.183 |
| Self-reported skin color (white/mixed or black) | 1.30 | 0.71-2.37 | 0.383 |
| Education (years) | 0.90 | 0.82-0.98 | **0.020** |
| Alcohol intake (no/yes) | 1.33 | 0.71-2.48 | 0.360 |
| Smoking (no/yes) | 1.10 | 0.42-2.84 | 0.836 |
| Previous history of depression (no/yes) | 4.08 | 2.38-7.00 | **<0.001** |
| **First trimester 1,25(OH)$_2$D (pmol/L)** | 1.00 | 0.99-1.00 | 0.766 |
| Gestational age (weeks) | 0.94 | 0.92-0.97 | **<0.001** |
| Age (<30/≥30) | 0.69 | 0.36-1.32 | 0.274 |
| Pre-pregnancy BMI (<30/≥30 kg/m$^2$) | 1.78 | 0.85-3.73 | 0.122 |
| Self-reported skin color (white/mixed or black) | 1.40 | 0.73-2.70 | 0.302 |
| Education (years) | 0.86 | 0.78-0.95 | **0.004** |
| Alcohol intake (no/yes) | 1.38 | 0.71-2.67 | 0.332 |
| Smoking (no/yes) | 1.39 | 0.40-4.84 | 0.225 |
| Previous history of depression (no/yes) | 3.24 | 1.80-5.60 | **<0.001** |

**Notes:** [1]Depressive symptoms were evaluated according to Edinburgh Postnatal Depression Scale (<13/≥13). [2]Odds Ratio and 95% CI were calculated using a random intercept logistic regression model; [3]p-value refers to the maximum likelihood estimator. The significance of bold values is p-value<0.05. Unadjusted effects: 25(OH)D= OR 0.99; 95%CI 0.97-1.00, p-value=0.276; 1,25(OH)$_2$D= OR 1.00; 95%CI 0.99-1.00, p-value=0.539. Reference categories: age <30 years, pre-pregnancy BMI <30 kg/m$^2$, self-reported skin color white, no alcohol intake, no smoking, no previous history of depression. 25(OH)D: n=187 groups; n=470 observations. 1,25(OH)$_2$D: n=167 groups; n=426 observations; the group refers to the number of women with at least one data point in time and observation refers to the total number of data points in time for all women. BMI=Body Mass Index; 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D; 1,25(OH)$_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D; OR= Odds Ratio; CI= Confidence Intervals.

**Table 3**. Random intercept logistic model between vitamin D concentrations and depressive symptoms[1] measured prospectively in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009–2012.

| | **Depression symptoms (<13/≥13)[1]** | | |
|---|---|---|---|
| | OR[2] | 95% CI | p-value[3] |
| **25(OH)D (nmol/L) throughout pregnancy** | 0.99 | 0.98-1.01 | 0.982 |
| Gestational age (weeks) | 0.96 | 0.93-0.99 | **0.014** |
| Age (<30/≥30) | 0.71 | 0.38-1.31 | 0.282 |
| Pre-pregnancy BMI (<30/≥30 kg/m$^2$) | 1.94 | 0.97-3.87 | 0.057 |
| Self-reported skin color (white/mixed or black) | 1.25 | 0.68-2.28 | 0.462 |
| Education (years) | 0.90 | 0.82-0.99 | 0.403 |
| Alcohol intake (no/yes) | 1.24 | 0.65-2.34 | 0.501 |
| Smoking (no/yes) | 0.98 | 0.37-2.62 | 0.983 |
| Previous history of depression (no/yes) | 3.87 | 2.24-6.69 | **<0.001** |
| **1,25(OH)$_2$D (pmol/L) throughout pregnancy** | 1.00 | 0.99-1.00 | 0.270 |
| Gestational age (weeks) | 0.95 | 0.93-0.98 | **0.006** |
| Age (<30/≥30) | 0.83 | 0.44-1.58 | 0.589 |
| Pre-pregnancy BMI (<30/≥30 kg/m$^2$) | 1.80 | 0.95-3.41 | 0.115 |
| Self-reported skin color (white/mixed or black) | 1.55 | 0.81-2.94 | 0.179 |
| Education (years) | 0.90 | 0.82-0.99 | **0.042** |
| Alcohol intake (no/yes) | 1.08 | 0.55-2.14 | 0.804 |
| Smoking (no/ yes) | 0.73 | 0.24-2.22 | 0.588 |
| Previous history of depression (no/yes) | 3.38 | 1.93-5.90 | **<0.001** |

**Notes:** [1]Depressive symptoms were evaluated according to Edinburgh Postnatal Depression Scale (<13/≥13). [2]Odds Ratio (OR) and 95% Confidence Intervals (CI) were calculated using a random intercept logistic regression model; [3]p-value refers to the maximum likelihood estimator. The significance of bold values is p-value<0.05. Unadjusted effects: 25(OH)D= OR 1.00; 95%CI 0.99-1.00, p-value=0.544; 1,25 (OH)$_2$D= OR 1.00; 95%CI 0.99-1.00, p-value=0.106. Reference categories: age <30 years, pre-pregnancy BMI <30 kg/m$^2$, self-reported skin color white, no alcohol intake, no smoking, no previous history of depression. 25(OH)D: n=215 groups; n=505 observations. 1,25(OH)$_2$D: n=169 groups; n=431 observations; the group refers to the number of women with at least one data point in time and observation refers to the total number of data points in time for all women. BMI=Body Mass Index; 25(OH)D=25-hydroxyvitamin D; 1,25(OH)$_2$D=1,25-dihydroxyvitamin D; OR= Odds Ratio; CI= Confidence Intervals.

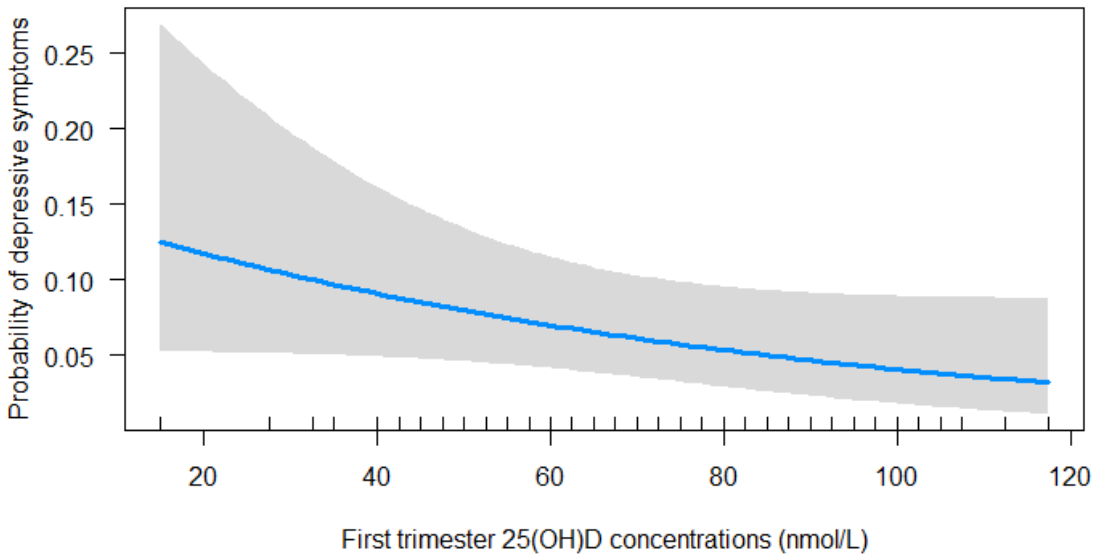
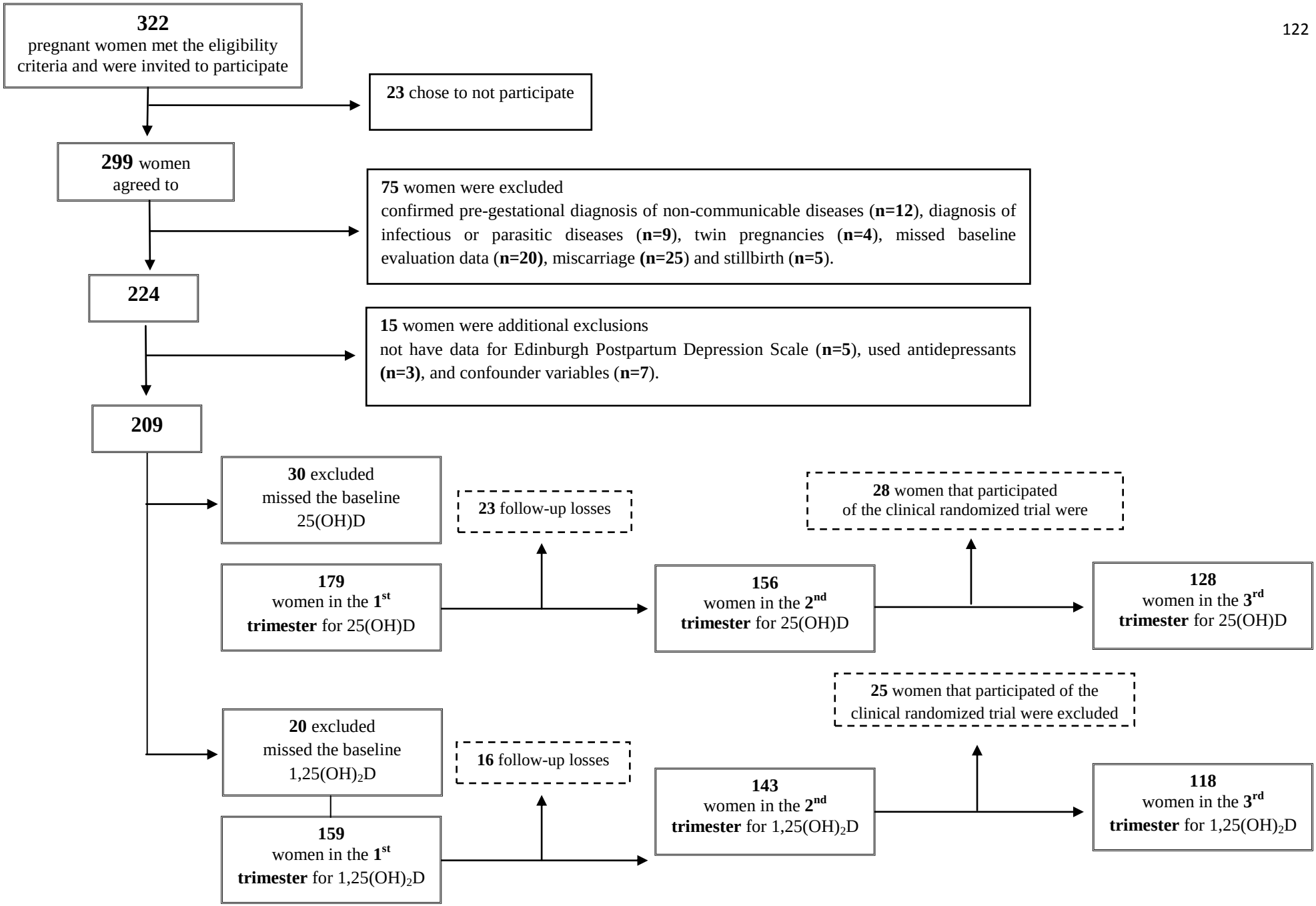
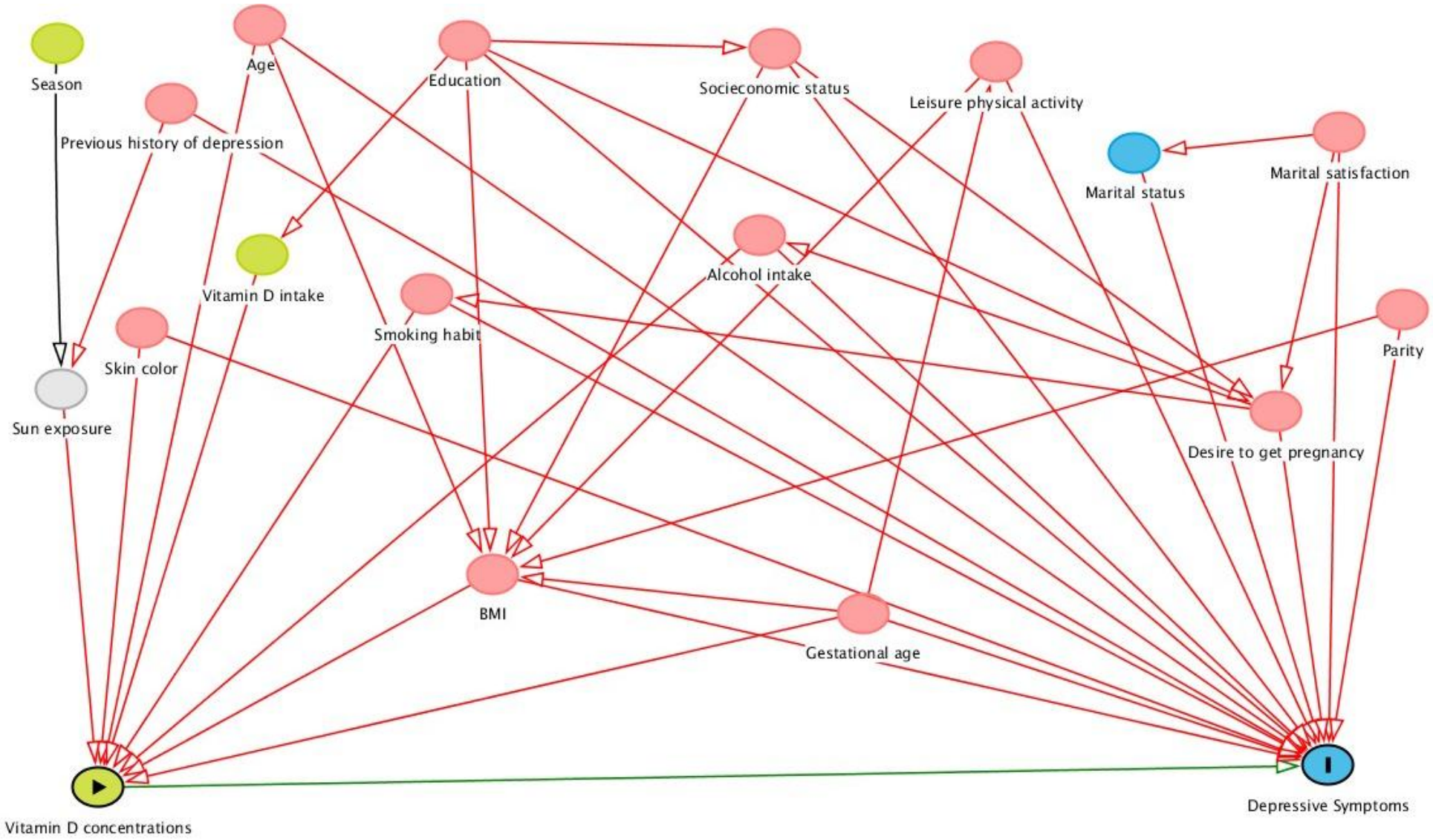



**Figure 2**. Predicted probabilities of depressive symptoms throughout pregnancy according to 25(OH)D concentrations in early pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Note**s: The line represents the probabilities of depressive symptoms and the shaded grey area represents the 95% confidence intervals. Depressive symptoms were evaluated according to Edinburgh Postnatal Depression Scale (<13/≥13), n=187 groups; n=470 observations; the group refers to the number of women with at least one data point in time and observation refers to the total number of data points in time for all women. Model adjusted for gestational age (weeks), age (<30/≥30), pre-pregnancy BMI (<30/≥30 kg/m$^2$), self-reported skin color (white/mixed or black), education (years), alcohol intake (no/yes), smoking (no/yes) and previous history of depression (no/yes).

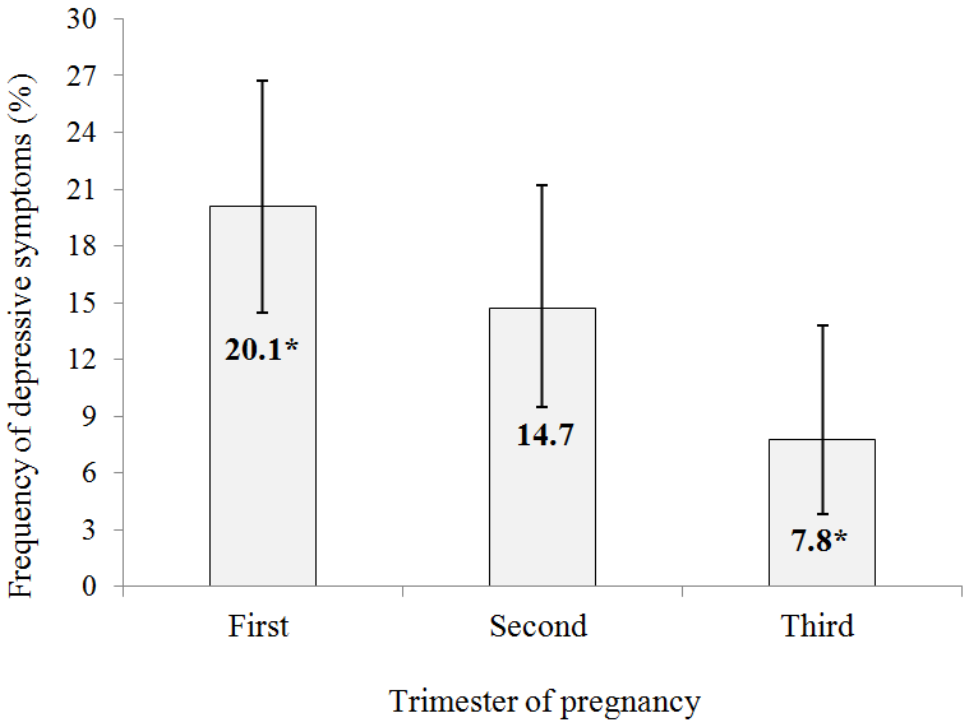



**Supplemental Figure 1**. Flow chart illustrating the recruitment and follow-up of women at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.




**Supplemental Figure 2**. Directed acyclic graph (DAG) for vitamin D and depressive symptoms.

**Notes**: Minimal sufficient adjustment: age, body mass index, skin color, education, alcohol intake, smoking and previous history of depression. BMI= Body Mass Index.
Legend= exposure; outcome; ancestor of exposure; ancestor of outcome; ancestor of exposure and outcome; unobserved (latent); causal path; biasing path.




**Supplemental Figure 3**. Frequency and confidence intervals of depressive symptoms according to pregnancy trimester of pregnancy in women followed at a public health center in Rio de Janeiro, Brazil, 2009-2012.

**Notes:** Depressive symptoms were evaluated according to Edinburgh Postnatal Depression Scale (≥13). Total of women: first trimester (n=179), second trimester (n=156), third trimester (n=128). Frequency (%) and 95% confidence interval (CI) of pregnant women with depressive symptoms (first trimester: 95%CI: 14.5-26.7, second trimester: 95%CI: 9.5-21.2, third trimester: 95%CI: 3.8-13.8. *Significant difference between trimesters, P-value=0.012 refers to McNemar test.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente dissertação descreveu a trajetória das concentrações plasmáticas de vitamina D ao longo da gestação, e a sua associação com os sintomas depressivos durante esse período.

Nesse estudo, a prevalência de 25(OH)D<30 nmol/L foi praticamente nula, porém prevalências de 25(OH)D<50 nmol/L e <75 nmol/L foram moderadas e altas, respectivamente. De acordo com os pontos de corte do IOM e a da Sociedade Americana de Endocrinologia, sugere-se que as concentrações de vitamina D observadas nessa dissertação podem ser suficientes em relação as funções da vitamina D na saúde óssea. No entanto valores mais elevados podem ser necessários para garantir as funções extra esqueléticas da vitamina D, como em relação aos sintomas depressivos. Ressalta-se que os pontos de corte para adequação de vitamina D ainda são controversos, e os valores utilizados para gestantes são os mesmos de adultos. Além disso, as funções extra esqueléticas da vitamina D não são totalmente comprovadas e, assim, é necessária maior cautela na interpretação desses resultados.

Apesar do Brasil ser um país tropical e apresentar um curto inverno, observou-se alterações sazonais nas concentrações plasmáticas de 25(OH)D ao longo da gestação. As gestantes que iniciaram a gestação durante o inverno, primavera e outono apresentaram aumento das concentrações plasmáticas de 25(OH)D ao longo da gravidez em comparação com as mulheres que começaram a gestação durante o verão. Além disso, as mulheres que começaram a gestação com concentrações inadequadas de 25(OH)D apresentaram maior aumento das concentrações de 1,25$(OH)_2$D, a forma ativa da vitamina D, ao longo da gestação, provavelmente devido à adaptações fisiológicas. No entanto, as concentrações inadequadas de 25(OH)D desde o início da gestação podem estar associadas a desfechos gestacionais indesejáveis, como observado na presente dissertação que encontrou associação inversa entre as concentrações plasmáticas de vitamina D no primeiro trimestre e sintomas depressivos ao longo desse período.

Estudos recentes também observaram a associação inversa entre as concentrações de vitamina D e sintomas depressivos, porém os resultados são controversos e são escassos estudos em gestantes. Dessa forma, orientações em relação à exposição solar adequada ou suplementação de vitamina D antes e durante o período gravídico, principalmente durante as estações do ano inverno, primavera e outono, podem contribuir para a saúde materna e infantil.

A depressão durante a gestação é considerada um relevante problema de saúde pública e a população residente em países em desenvolvimento, como o Brasil, é mais vulnerável a esse transtorno mental. Foram observadas altas prevalências de sintomas depressivos nas gestantes avaliadas na presente dissertação, principalmente no primeiro trimestre. Existe grande interesse nos fatores modificáveis que podem estar associados a depressão durante a gestação. Dessa forma, baixas concentrações de vitamina D podem ser uma importante estratégia para rastreamento de gestantes em risco para depressão.

Nessa perspectiva, a dissertação foi importante para gerar evidências sobre a trajetória das concentrações plasmáticas de vitamina D durante a gestação. Além disso, também corrobora com estudos que observaram associação inversa entre as concentrações plasmáticas de vitamina D e sintomas depressivos. Contudo, mais estudos com essa temática são necessários para estabelecer pontos de corte de vitamina D apropriados para gestantes e também para comprovar os benefícios da vitamina D para prevenção e tratamento da depressão.

## 10. REFERÊNCIAS

ACCORTT, E. E. et al. Lower prenatal vitamin D status and postpartum depressive symptomatology in African American women: Preliminary evidence for moderation by inflammatory cytokines. Arch Womens Ment Health, v. 19, n. 2, p. 373-83, Apr 2016.

ADAMS, J. S; HEWISON, M. Extrarenal expression of the 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylase. Arch Biochem Biophys, v. 523, n. 1, p. 95-102, Jul 2012.

AGHAJAFARI, F. et al. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. BMJ, v. 346, p. f1169, 2013

ALMEIDA, M,S. et al. Mental disorders in a sample of pregnant women receiving primary health care in Southern Brazil**.** Cad Saúde Pública, v.28, n.2, p.385-393, Feb 2012.

ANGLIN, R. E. et al. Vitamin D deficiency and depression in adults: systematic review and meta-analysis. Br J Psychiatry, v. 202, p. 100-7, Feb 2013.

ANNWEILER, C. et al. Vitamin D and brain volumetric changes: Systematic review and meta-analysis. Maturitas, v. 78, n. 1, p. 30-9, May 2014.

BEA, J. W. et al. Concentrations of the vitamin D metabolite 1,25(OH)2D and odds of metabolic syndrome and its components. Metabolism, v. 64, n. 3, p. 447-59, Mar 2015.

BLACK, L. J. et al. Low vitamin D levels are associated with symptoms of depression in young adult males**.** Aust N Z J Psychiatry, v. 48, n. 5, p. 464-71, May 2014.

BLOOM D,E, et al. The global economic burden of noncommunicable diseases. Geneva: World Economic Forum, 2011.

BARRETT, H.; MCELDUFF, A. Vitamin D and pregnancy: An old problem revisited. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, v. 24, n. 4, p. 527-39, Aug 2010.

BRANDENBARG, J. et al. Maternal early-pregnancy vitamin D status is associated with maternal depressive symptoms in the Amsterdam Born Children and Their Development cohort. Psychosom Med, v. 74, n. 7, p. 751-7, Sep 2012.

BRANNON, P. M.; PICCIANO, M. F. Vitamin D in pregnancy and lactation in humans. Annu Rev Nutr, v. 31, p. 89-115, Aug 2011.

BROWN, J. et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces nerve growth factor, promotes neurite outgrowth and inhibits mitosis in embryonic rat hippocampal neurons. Neurosci Lett, v. 343, n. 2, p. 139-43, Jun 2003.

CAMACHO R. S. et al. Transtornos Psiquiátricos na Gestação e no Puerpério: Classificação, Diagnóstico e Tratamento**.** Rev Psiquiatr Clín, v.2, n.33, p.92-102, Mar 2006.

CASS, W. A.; SMITH, M. P.; PETERS, L. E. Calcitriol protects against the dopamine- and serotonin-depleting effects of neurotoxic doses of methamphetamine. Ann N Y Acad Sci, v. 1074, p. 261-71, Aug 2006.

CASSIDY-BUSHROW, A. E. et al. Vitamin D nutritional status and antenatal depressive symptoms in African American women. J Womens Health (Larchmt**)**, v. 21, n. 11, p. 1189-95, Nov 2012.

CHAUDRON, L. H. Complex challenges in treating depression during pregnancy. Am J Psychiatry**,** v. 170, n. 1, p. 12-20, Jan 2013.

CHARATCHAROENWITTHAYA, N. et al. Maternal vitamin D status, its associated factors and the course of pregnancy in Thai women. Clin Endocrinol (Oxf), v. 78, n. 1, p. 126-33, Jan 2013.

CHUNG, H. K. et al. The association between serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and depressive symptoms in Korean adults: findings from the fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2010. PLoS One**,** v. 9, n. 6, p. e 99185, May 2014.

COX J. L.; HOLDEN J. M, Sagovsky R. Detection of postnatal depression. Development of the 10-item Edinburgh Postnatal Depression Scale**.** Br J Psychiatry, v.150, p. 782-6, Jun 1987.

CHISHOLM, D. et al. Scaling-up treatment of depression and anxiety: a global return on investment analysis. Lancet Psychiatry**,** v. 3, n. 5, p. 415-24, May 2016.

CROSS N. A. et al. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation, and postweaning: a longitudinal study**.** Am J Clin Nutr, v.61, n.3, p. 514–523, mar 1995.

DEAVE, T. et al. The impact of maternal depression in pregnancy on early child development. BJOG**,** v. 115, n. 8, p. 1043-51, Jul 2008.

DIAGNOSTIC AND STATISTIC MANUAL OF DISORDERS - DSM - IV. Generalized

Anxiety Disorder (Include Overanxious Disorders of Childhood). 4th ed. American Psichiatry Association, p. 432-436, 1994.

DIOGENES, M. E. et al. Effect of calcium plus vitamin D supplementation during pregnancy in Brazilian adolescent mothers: a randomized, placebo-controlled trial. Am J Clin Nutr**,** v. 98, n. 1, p. 82-91, Jul 2013.

DREVETS, W. C.; PRICE, J. L.; FUREY, M. L. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. Brain Struct Funct, v. 213, n. 1-2, p. 93-118, Sep 2008.

EL-KHOURY J.M.; REINEKS E.Z.; WANG S. Progress of liquid chromatography-mass spectrometry in measurement of vitamin D metabolites and analogues. Clin Biochem, v.44, n.1, p.66-76, Jan 2011.

EYLES, D. W.; BURNE, T. H.; MCGRATH, J. J. Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. Front Neuroendocrinol**,** v. 34, n. 1, p. 47-64, Jan 2013.

EYLES, D. W. et al. Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. J Chem Neuroanat**,** v. 29, n. 1, p. 21-30, Jan 2005.

FERNÁNDEZ-ALONSO, A. M. et al. First-trimester maternal serum 25-hydroxyvitamin D status and pregnancy outcome. Int J Gynaecol Obstet, v. 116, n. 1, p. 6-9, Jan 2012.

FERNANDES DE ABREU, D. A.; EYLES, D.; FÉRON, F. Vitamin D, a neuro-immunomodulator: implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. Psychoneuroendocrinology**,** v. 34 Suppl 1, p. S265-77, Dec 2009.

FIGUEIREDO, B.; CONDE, A. Anxiety and depression in women and men from early pregnancy to 3-months postpartum. Arch Womens Ment Health, v. 14, n. 3, p. 247-55, Jun 2011.

FISHER, J. et al. Prevalence and determinants of common perinatal mental disorders in women in low- and lower-middle-income countries: a systematic review. Bull World Health Organ, v. 90, n. 2, p. 139G-149G, Feb 2012.

FONSECA-MACHADO, M. E. O. et al. Depressive disorder in pregnant Latin women: does intimate partner violence matter? J Clin Nurs, v. 24, n. 9-10, p. 1289-99, May 2015.

GILL, T. K. et al. Vitamin D levels in an Australian population. BMC Public Health, v. 14, p. 1001, 2014.

GLOVER, V. Maternal depression, anxiety and stress during pregnancy and child outcome; what needs to be done**.** Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol**,** v. 28, n. 1, p. 25-35, Jan 2014.

GROTE, N. K. et al. A meta-analysis of depression during pregnancy and the risk of preterm birth, low birth weight, and intrauterine growth restriction. Arch Gen Psychiatry, v. 67, n. 10, p. 1012-24, Oct 2010.

GUR, E. B. et al. Mid-pregnancy vitamin D levels and postpartum depression. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, v. 179, p. 110-6, Aug 2014.

HASLER, G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? World Psychiatry**,** v. 9, n. 3, p. 155-61, Oct 2010.

HÖBAUS, J. et al. Role of calcium, vitamin D, and the extrarenal vitamin D hydroxylases in carcinogenesis. Anticancer Agents Med Chem**,** v. 13, n. 1, p. 20-35, Jan 2013.

HOLICK, M. F. Vitamin D deficiency**.** N Engl J Med**,** v. 357, n. 3, p. 266-81, Jul 2007.

HOLICK, M. F. Vitamin D: evolutionary, physiological and health perspectives. Curr Drug Targets, v. 12, n. 1, p. 4-18, Jan 2011.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab**,** v. 96, n. 7, p. 1911-30, Jul 2011.

HOANG, M. T. et al. Association between low serum 25-hydroxyvitamin D and depression in a large sample of healthy adults: the Cooper Center longitudinal study. Mayo Clin Proc, v. 86, n. 11, p. 1050-5, Nov 2011.

HUANG, J. Y. et al. Association of serum vitamin D with symptoms of depression and anxiety in early pregnancy. J Womens Health (Larchmt), v. 23, n. 7, p. 588-95, Jul 2014.

JOHNSON, D. D. et al. Vitamin D deficiency and insufficiency is common during pregnancy**.** Am J Perinatol**,** v. 28, n. 1, p. 7-12, Jan 2011.

INSTITUTE OF MEDICINE (U.S.). Weight Gain during Pregnancy: Reexamining the Guidelines. National Academies Press; Washington, D.C.: Committee to Reexamine IOM

Pregnancy Weight Guidelines. 2009.

INSTITUTE OF MEDICINE (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium: Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC). National Academies Press (US), 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Pesquisa de orçamentos Familiares. Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2011.

JOERGENSEN, C. et al. Vitamin D levels and mortality in type 2 diabetes. Diabetes Care, v. 33, n. 10, p. 2238-43, Oct 2010.

JU, S. Y.; LEE, Y. J.; JEONG, S. N. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of depression: a systematic review and meta-analysis. J Nutr Health Aging**,** v. 17, n. 5, p. 447-55, 2013.

KELISHADI, R. et al. Determinants of hypovitaminosis d in pregnant women and their newborns in a sunny region. Int J Endocrinol, v. 2013, p. 460970, 2013.

KERR, D. C. et al. Associations between vitamin D levels and depressive symptoms in healthy young adult women. Psychiatry Res**,** v. 227, n. 1, p. 46-51, May 2015.

LANCASTER, C. A. et al. Risk factors for depressive symptoms during pregnancy: a systematic review. Am J Obstet Gynecol**,** v. 202, n. 1, p. 5-14, Jan 2010.

LARA, M. A. et al. Prevalence and incidence of perinatal depression and depressive symptoms among Mexican women. J Affect Disord, v. 175, p. 18-24, Apr 2015.

LEE, D. H. et al. Effects of Serum 25-hydroxy-vitamin D and Fetal Bone Growth during Pregnancy. J Bone Metab**,** v. 22, n. 3, p. 127-33, Aug 2015.

LIPS, P.; VAN Schoor, N. M.; DE JONGH, R. T. Diet, sun, and lifestyle as determinants of vitamin D status. Ann N Y Acad Sci**,** v. 1317, p. 92-8, May 2014.

LIOU, S. R.; WANG, P.; CHENG, C. Y. Longitudinal study of perinatal maternal stress, depressive symptoms and anxiety. Midwifery, v. 30, n. 6, p. 795-801, Jun 2014

LOHMAN T. G.; ROCHE A.; F, MARTORELL R. Anthropometric Standardization Reference Manual. Illinois: Human Kinetics Books, 1988.

LOPES, J. B. et al. A predictive model of vitamin D insufficiency in older community people: from the São Paulo Aging & Health Study (SPAH). Maturitas, v. 78, n. 4, p. 335-40, Aug 2014.

LUNDQVIST, A. et al. Vitamin D Status during Pregnancy: A Longitudinal Study in Swedish Women from Early Pregnancy to Seven Months Postpartum. PLoS One, v. 11, n. 3, p. e0150385, 2016.

MAEDA, S. S. et al. Seasonal variation in the serum 25-hydroxyvitamin D levels of young and elderly active and inactive adults in São Paulo, Brazil: The São Paulo Vitamin D Evaluation Study (SPADES). Dermatoendocrinol, v. 5, n. 1, p. 211-7, Jan 2013.

MAEDA, S. S et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. Arq Bras Endocrinol Metab, v. n.5. pp. 411-433, July 2014.

MARCUS, S. M. Depression during pregnancy: rates, risks and consequences--Motherisk Update. Can J Clin Pharmacol, v. 16, n. 1, p. e15-22, Jan 2009.

MARQUEZ, P. V.; SAXENA, S. Making Mental Health a Global Priority. Cerebrum**,** v. 2016, 2016 Jul-Aug 2016.

MARTINI, J. et al. Risk factors and course patterns of anxiety and depressive disorders during pregnancy and after delivery: a prospective-longitudinal study**.** J Affect Disord, v. 175, p. 385-95, Apr 2015.

MATOS, M. L. L.; PIÉLAGO, J. S.; FIGUEROA, A. L. Major depression in pregnant women served by the National Materno-Perinatal Institute in Lima, Peru. Rev Panam Salud Publica, v. 26, n. 4, p. 310-314, Oct 2009

MARWAHA, R. K. et al. Vitamin D status in pregnant Indian women across trimesters and different seasons and its correlation with neonatal serum 25-hydroxyvitamin D levels. Br J Nutr, v. 106, n. 9, p. 1383-9, Nov 2011.

MAZAHERY, H. et al. Vitamin D and Autism Spectrum Disorder: A Literature Review. Nutrients, v. 8, n. 4, p. 236, Apr 2016.

MCCANN, J. C.; AMES, B. N. Is there convincing biological or behavioral evidence linking vitamin D deficiency to brain dysfunction? FASEB J, v. 22, n. 4, p. 982-1001, Apr 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de informática do SUS - DATASUS. Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde. 4ª edição; 2008. Disponível em: http://www.datasus.gov.br/cid10/V2008/WebHelp/cap05_3d.htm

MITHAL, A. et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. Osteoporos Int, v. 20, n. 11, p. 1807-20, Nov 2009.

NIELSEN, N. O. et al. Vitamin D status during pregnancy and the risk of subsequent postpartum depression: a case-control study. PLoS One, v. 8, n. 11, p. e80686, 2013.

NOVAKOVIC, B. et al. Placenta-specific methylation of the vitamin D 24-hydroxylase gene: implications for feedback autoregulation of active vitamin D levels at the fetomaternal interface. J Biol Chem, v. 284, n. 22, p. 14838-48, May 2009.

ONG, L. et al. Current 25-hydroxyvitamin D assays: do they pass the test? Clin Chim Acta, v. 413, n. 13-14, p. 1127-34, Jul 2012.

OUDE VOSHAAR, R. C. et al. Antidepressants differentially related to 1,25-$(OH)_2$ vitamin $D_3$ and 25-(OH) vitamin $D_3$ in late-life depression. Transl Psychiatry, v. 4, p. e383, Apr 2014.

PAN, A. et al. Association between depressive symptoms and 25-hydroxyvitamin D in middle-aged and elderly Chinese. J Affect Disord**,** v. 118, n. 1-3, p. 240-3, Nov 2009.

PAPAPETROU, P. D. The interrelationship of serum 1,25-dihydroxyvitamin D, 25-hydroxyvitamin D and 24,25-dihydroxyvitamin D in pregnancy at term: a meta-analysis. Hormones (Athens), v. 9, n. 2, p. 136-44, 2010 Apr-Jun 2010

PATRICK, R. P.; AMES, B. N. Vitamin D hormone regulates serotonin synthesis. Part 1: relevance for autism. FASEB J**,** v. 28, n. 6, p. 2398-413, Jun 2014.

PEREIRA, P. K. et al. Depression during pregnancy: prevalence and risk factors among women attending a public health clinic in Rio de Janeiro, Brazil. Cad Saude Publica, v. 25, n. 12, p. 2725-36, Dec 2009.

PEREIRA, P. K. et al. Depression During Pregnancy: Review of Epidemiological and Clinical Aspects in Developed and Developing Countries. Psychiatr. Disord, Oct 2011.

PEARLSTEIN, T. Depression during Pregnancy. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, v. 29, n. 5, p. 754-64, Jul 2015.

PINHEIRO, J.; BATES, D. Mixed effects models in S and S-Plus. New York: Springer. 2000.

PRATUMVINIT, B. et al. Maternal Vitamin D Status and Its Related Factors in Pregnant Women in Bangkok, Thailand. PLoS One, v. 10, n. 7, p. e0131126, 2015.

REMICK, R. A.; FROESE, C. Monoamine oxidase inhibitors: clinical review. Can Fam Physician, v. 36, p. 1151-5, Jun 1990.

REYNOLDS, J. N.; WICKENS, J. R. Substantia nigra dopamine regulates synaptic plasticity and membrane potential fluctuations in the rat neostriatum, in vivo. Neuroscience, v. 99, n. 2, p. 199-203, 2000a.

ROBINSON, M. et al. Low maternal serum vitamin D during pregnancy and the risk for postpartum depression symptoms. Arch Womens Ment Health, v. 17, n. 3, p. 213-9, Jun 2014.

SANTOS I. N. et al. Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. Cad. Saúde Pública, v. 23, n.11, p.2577-2588, Nov 2007.

SCHLÖGL, M.; HOLICK, M. F. Vitamin D and neurocognitive function. Clin Interv Aging**,** v. 9, p. 559-68, 2014.

SICHIERI R.; EVERHART J. E. Validity of a Brazilian food frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. Nutrition Research, v.18, n.10, Oct 1998.

SILVA, R. et al Sociodemographic risk factors of perinatal depression: a cohort study in the public health care system. Rev. Bras. Psiquiatr, v. 34, n.2, p. 143-148, Jun 2012.

SILVA, M. T. et al. Prevalence of depression morbidity among Brazilian adults: a systematic review and meta-analysis. Rev Bras Psiquiatr**,** v. 36, n. 3, p. 262-70, Sep 2014.

SINGER J. D.; WILLET J. B. Applied longitudinal data analysis: modeling changes and eventoccurrence. New York: Oxford university press; 2003.

SHAHBAZI, M. et al. Expression profiling of vitamin D receptor in placenta, decidua and ovary of pregnant mice. Placenta, v. 32, n. 9, p. 657-64, Sep 2011.

SHIRAZI, L. et al. Determinants of serum levels of vitamin D: a study of life-style, menopausal status, dietary intake, serum calcium, and PTH. BMC Womens Health, v. 13, p. 33, Aug 2013.

SOARES, C. N.; ZITEK, B. Reproductive hormone sensitivity and risk for depression across the female life cycle: a continuum of vulnerability? J Psychiatry Neurosci, v. 33, n. 4, p. 331-43, Jul 2008.

TEXTOR, J. et al. DAGitty: A Graphical Tool for Analyzing Causal Diagrams. Epidemiology, v. 22, n. 5, p 615-752, Set 2011.

THIENGO, D. L. et al. Depressão durante a gestação e os desfechos na saúde do recém-nascido: coorte de mães atendidas em unidade básica de saúde**.** J. bras. Psiquiatr, v.61, n.4, p. 214-220, Set 2012.

THUESEN, B. et al. Determinants of vitamin D status in a general population of Danish adults. Bone, v. 50, n. 3, p. 605-10, Mar 2012.

VILELA, L. H. M.; JURUENA, M. F Assessment of HPA axis functioning in patients with depression through baseline measures: a systematic literature review and analysis of the used methodologies. J. bras. psiquiatr. V.63, n.3. p. 232-241. Set 2014.

VILELA, A. A. et al. Prepregnancy healthy dietary pattern is inversely associated with depressive symptoms among pregnant Brazilian women. J Nutr, v. 144, n. 10, p. 1612-8. Oct 2014.

WACKER, M.; HOLICK, M. F. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. Dermatoendocrinol, v. 5, n.1, p.51–108. Jan 2013.

WEINERT, L. S.; SILVEIRO, S. P. Maternal-fetal impact of vitamin D deficiency: a critical review. Matern Child Health J, v. 19, n. 1, p. 94-101, Jan 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2012. Depression. Fact sheet No. 369/ October 2012. Acessado em agosto de 2015. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/

ZHANG, R.; NAUGHTON, D. P. Vitamin D in health and disease: current perspectives. Nutr J**,** v. 9, p. 65, Dec 2010.

ZHANG, J. Y. et al. Impact of pregnancy on vitamin D status: a longitudinal study**.** Br J

Nutr, v. 112, n. 7, p. 1081-7, Oct 2014.

ZHAO, G. et al. No associations between serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone and depression among US adults. Br J Nutr**,** v.104, n.11, p. 1696-702, Dec 2010.

ZHAO, Y. et al. Dynamic changes in serum 25-hydroxyvitamin D during pregnancy and lack of effect on thyroid parameters. PLoS One, v. 9, n. 3, p. e90161, 2014.

ZHU, K. et al. Maternal vitamin D status during pregnancy and bone mass in offspring at 20 years of age: a prospective cohort study**.** J Bone Miner Res, v. 29, n. 5, p. 1088-95, 2014.

# 11. ANEXOS

# ANEXO 1

# PUBLICAÇÃO ARTIGO 1

Eur J Nutr
DOI 10.1007/s00394-017-1389-z

ORIGINAL CONTRIBUTION

# Changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D during pregnancy: a Brazilian cohort

**Amanda C. Cunha Figueiredo[1] · Paula Guedes Cocate[1] · Amanda R. Amorim Adegboye[2] · Ana Beatriz Franco-Sena[1,4] · Dayana R. Farias[1,3] · Maria Beatriz Trindade de Castro[1,3] · Alex Brito[5] · Lindsay H. Allen[5] · Rana R. Mokhtar[6] · Michael F. Holick[6] · Gilberto Kac[1,3]**

Received: 23 April 2016 / Accepted: 28 January 2017
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017

**Abstract**

*Purpose* To characterize the physiological changes in 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] and 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25$(OH)_2$D] throughout pregnancy.

*Methods* Prospective cohort of 229 apparently healthy pregnant women followed at 5th–13th, 20th–26th, and 30th–36th gestational weeks. 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D concentrations were measured by LC–MS/MS. Statistical analyses included longitudinal linear mixed-effects models adjusted for parity, season, education, self-reported skin color, and pre-pregnancy BMI. Vitamin D status was defined based on 25(OH)D concentrations according to the Endocrine Society Practice Guideline and Institute of Medicine (IOM) for adults.

*Results* The prevalence of 25(OH)D <75 nmol/L was 70.4, 41.0, and 33.9%; the prevalence of 25(OH)D <50 nmol/L was 16.1, 11.2, and 10.2%; and the prevalence of 25(OH)D <30 nmol/L was 2, 0, and 0.6%, at the first, second, and third trimesters, respectively. Unadjusted analysis showed an increase in 25(OH)D ($\beta$=0.869; 95% CI 0.723–1.014; $P$<0.001) and 1,25$(OH)_2$D ($\beta$=3.878; 95% CI 3.136–4.620; $P$<0.001) throughout pregnancy. Multiple adjusted analyses showed that women who started the study in winter ($P$<0.001), spring ($P$<0.001), or autumn ($P$=0.028) presented a longitudinal increase in 25(OH)D concentrations, while women that started during summer did not. Increase of 1,25$(OH)_2$D concentrations over time in women with insufficient vitamin D (50–75 nmol/L) at baseline was higher compared to women with sufficient vitamin D (≥75 nmol/L) ($P$=0.006).

*Conclusions* The prevalence of vitamin D inadequacy varied significantly according to the adopted criteria. There was a seasonal variation of 25(OH)D during pregnancy. The women with insufficient vitamin D status present greater longitudinal increases in the concentrations of 1,25$(OH)_2$D in comparison to women with sufficiency.

**Keywords** Vitamin D · Pregnancy · Micronutrients · Cohort · Tropical country · Seasons

**Electronic supplementary material** The online version of this article (doi:10.1007/s00394-017-1389-z) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Gilberto Kac
gilberto.kac@gmail.com

1 Nutritional Epidemiology Observatory, Josué de Castro Nutrition Institute, Rio de Janeiro Federal University, Avenida Carlos Chagas Filho, 373, CCS, Bloco J, 2° andar, Cidade Universitária-Ilha do Fundão, Rio de Janeiro 21941-902, Brazil

2 Division of Nutrition, Food and Public Health, Department of Life Science, University of Westminster, London, UK

3 Graduate Program in Nutrition, Josué de Castro Nutrition Institute, Rio de Janeiro Federal University, Rio de Janeiro, Brazil

4 Department of Social Nutrition, Emília de Jesus Ferreira Nutrition School, Fluminense Federal University, Niteroi, Brazil

5 USDA, ARS, Western Human Nutrition Research Center, University of California, Davis, USA

6 School of Medicine, Boston University , Boston, USA

## Introduction

Vitamin D deficiency or insufficiency is considered to be a global public health problem [1, 2] with an estimated 1 billion people affected worldwide [3]. Pregnant women have been identified as a high-risk group for vitamin D

Published online: 28 March 2017

# ANEXO 2

# PUBLICAÇÃO ARTIGO 2

Journal of Psychiatric Research 95 (2017) 1–8

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Psychiatric Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/psychires

# Association between plasma concentrations of vitamin D metabolites and depressive symptoms throughout pregnancy in a prospective cohort of Brazilian women

Amanda C. Cunha Figueiredo [a], Janet Trujillo [a], Ana Amélia Freitas-Vilela [a, b], Ana Beatriz Franco-Sena [a, c], Fernanda Rebelo [a, d], Geraldo Marcelo Cunha [e], Maria Beatriz Trindade de Castro [a, f], Amanda Farnum [a], Rana R. Mokhtar [g], Michael F. Holick [g], Gilberto Kac [a, f, *]

[a] Nutritional Epidemiology Observatory, Department of Social and Applied Nutrition, Institute of Nutrition Josué de Castro, Rio de Janeiro Federal University, RJ, Brazil
[b] Special Academic Unit of Health Sciences, Goiás Federal University, GO, Brazil
[c] Department of Social Nutrition, Emília de Jesus Ferreiro Nutrition School, Fluminense Federal University, Niteroi, Brazil
[d] Division of Clinical Trials and Drug Development, National Institute of Cancer, Ministry of Health, RJ, Brazil
[e] National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, RJ, Brazil
[f] Graduate Program in Nutrition, Institute of Nutrition Josué de Castro, Rio de Janeiro Federal University, RJ, Brazil
[g] School of Medicine, Boston University, Boston, USA

ARTICLE INFO

*Article history:*
Received 28 March 2017
Received in revised form
4 June 2017
Accepted 13 July 2017

*Keywords:*
Vitamin D
Micronutrients
Brazil
Depression
Mental health
Pregnancy

ABSTRACT

Plasma concentrations of vitamin D metabolites can be inversely associated with depressive symptoms. However, few longitudinal studies have investigated this association, especially during pregnancy. The aim of this study was to investigate the association between concentrations of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] and 1,25-dihydroxivitamin D [1,25$(OH)_2$D] with the occurrence of depressive symptoms throughout pregnancy. A prospective cohort of 179 women was followed at 5th-13th, 20th-26th and 30th-36th gestational weeks. At each trimester of pregnancy, the plasma concentrations of 25(OH)D and 1,25$(OH)_2$D were analyzed by liquid chromatography tandem mass spectroscopy. Vitamin D status was categorized according to the Endocrine Society Practice Guidelines and the Institute of Medicine. Depressive symptoms were measured at each trimester using the Edinburgh Postnatal Depressive Scale (cutoff $\geq$13). Statistical analyses included random intercept logistic regression models for longitudinal analyses. In the first trimester, the prevalence of 25(OH)D <75, <50 and <30 nmol/L were 69.3%, 14.0% and 1.7%, respectively. Prevalence of depressive symptoms were 20.1%, 14.7% and 7.8% for the first, second and third trimesters, respectively. The probability of occurrence of depressive symptoms decreased throughout pregnancy (p-value = 0.005). Women with higher concentrations of 25(OH)D in the first trimester presented a lower odds ratio (OR) for the development of depressive symptoms during pregnancy (OR = 0.98; 95%CI: 0.96 to 0.99, p-value = 0.047) in the adjusted model. In conclusion, there was a higher prevalence of vitamin D inadequacy and depressive symptoms during the first trimester. Higher 25(OH)D concentrations in the first trimester were associated with a decrease of 2% in the odds for presenting depressive symptoms throughout pregnancy.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

# ANEXO 3

QUESTIONÁRIOS

# Questionários

Ensaio [ ] Coorte [ ] **Motivo/tipo de aborto:**_____

| DATA DE COLETA | ENTREV | REV | DIG 1 | DATA DE DIGITAÇÃO 1 | DIG 2 | DATA DE DIGITAÇÃO 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| __ __ / __ __ / __ __ __ __ | __ __ | __ __ | __ __ | __ __ / __ __ / __ __ __ __ | | __ __ / __ __ / __ __ __ __ |

| ☞ ***Realizar a PRIMEIRA medida de pressão arterial (folha antropometria)*** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **"Vamos começar nossa conversa sobre alguns dados gerais da sra.."** | | | | | | | |
| **1** | **Qual sua data de nascimento?** | ___ ___ / ___ ___ / ___ ___ ___ ___ | | **2** | **Qual a sua idade?** | ___ ___ anos | |
| **3** | **A respeito de sua situação conjugal, a Sra:** (*LER as opções de resposta*) | 01 [ ] **vive com companheiro**<br>02 [ ] **não vive com companheiro há mais de 1 ano**<br>03 [ ] **não vive com companheiro há menos de 1 ano**<br>04 [ ] **tem namorado há mais de 1 ano** | | | 05 [ ] **não tem namorado**<br>06 [ ] **tem namorado a < 1 ano**<br>07 [ ] outro<br>__ __[ ] codificação | | |
| **4** | **Você pratica alguma religião?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não →*siga à 7*<br>__ [ ] cod | | **5** | **Qual sua religião?** | 01 [ ] católica romana<br>03 [ ] umbanda/candomblé<br>05 [ ] religiões orientais/Budista<br>07 [ ] espírita/kardecista<br>__ __[ ] codificação | 02 [ ] judaica ou israelita<br>04 [ ] protestante tradicional<br>06 [ ] evangélica/crente<br>08 [ ] outra: _____ |
| 6 | Cor (observação do entrevistador): | 1 [ ] branca<br>2 [ ] parda/mulata/morena/cabocla | 3 [ ] negra<br>4 [ ] amarela/oriental | 5 [ ] indígena<br>__ [ ] codificação | | | |
| **7** | **Como você classifica a sua a sua cor?** | 1 [ ] branca<br>2 [ ] parda/mulata/morena/cabocla | 3 [ ] negra<br>4 [ ] amarela/oriental | 5 [ ] indígena<br>__ [ ] codificação | | | |
| **8** | **Você freqüentou a escola?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não → *próxima sessão* | __ [ ] cod | **9** | **Qual foi a última série (ano) que você concluiu com aprovação?** | __ __ série de estudo<br>__ __ grau | |
| **10** | *CODIFICAR DEPOIS:*<br>Qual foi a última série (ano) que você concluiu com aprovação? | 0 [ ] Nenhum ou até 3º série do ensino fundamental<br>1 [ ] 4º série ou ensino fundamental (1º grau) incompleto<br>2 [ ] Ens.fund. (1º grau) compl. ou ens. médio (2ºgrau) incompleto<br>3 [ ] Ensino médio (2º grau) completo ou superior incompleto | | | 4 [ ] Superior completo<br>__ [ ] codificação | | |

| HISTÓRIA OBSTÉTRICA | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **"Vamos agora conversar um pouco sobre alguns aspectos relacionados a outras gestações, partos e filhos."** | | | | | | | | |
| **1** | **Com que idade você menstruou pela primeira vez?** | __ __ anos | | **2** | **Com que idade você engravidou pela primeira vez?** | __ __ anos | | |
| **3** | **Quantas vezes você ficou grávida, incluindo esta gravidez e abortos?** | | | | | ___ ___ *se 1 vez → siga à próxima seção* | | |
| **4** | **Quantos partos você já teve?** | __ __ *se 00→ siga à 8* | **5** | **Com que idade você teve seu primeiro parto?** | __ __ anos | **6** | **Quantos filhos nasceram vivos?** | __ __ |
| **7** | **Quantos filhos nasceram mortos?** | __ __ | **8** | **Já teve gravidez que resultou em aborto?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não → *siga à 11* | __ [ ] codificação | | |
| **9** | **Desses abortos que a Sra. teve, quantos foram espontâneos e quantos foram provocados?** | ____ ____ Espontâneo<br>____ ____ Provocado | | **10** | **Quando foi seu último aborto?** | __ __ / __ __ / __ __ __ __ | | |
| **11** | **Você já teve algum bebê prematuro, quer dizer, que tenha nascido antes dos nove meses de gravidez?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não → *siga à 13* | __ [ ] cod | **12** | **Quantos?** | __ __ | | |
| **13** | **Você já teve algum filho com peso ao nascer acima de 4 quilos?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não → *siga à 15* | __ [ ] cod | **14** | **Quantos?** | __ __ | | |
| **15** | **Você já teve algum filho com peso ao nascer menor que 2 quilos e 500 gramas?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não → *siga à 17* | __ [ ] cod | **16** | **Quantos?** | __ __ | | |
| **17** | **Quando foi seu último parto?** | __ __ / __ __ / __ __ __ __ | | **18** | **Qual foi o tipo de parto do último filho?** | 1 [ ] vaginal normal<br>2 [ ] cesárea<br>3 [ ] fórceps<br>4 [ ] cócoras | __ [ ] cod | |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **19** | **Você já perdeu filhos depois de nascidos?** | 1 [ ] sim __ [ ] cod<br>0 [ ] não → *siga à próxima seção* | | | | **20** | **Quantos? __ __**<br>**Qual (is) era(m) a(s) idade(s)?**<br>(*codificar abaixo conforme resposta*) | | | | |
| **21** | **Antes de completar 1 semana de vida?** | __ __ | **22** | **Entre 1 semana e 1 mês de vida?** | __ __ | **23** | **Entre 1 mês e 1 ano de vida?** | __ __ | **24** | **Com 1 ano ou mais?** | __ __ |

| **DESEJO DE ENGRAVIDAR** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **"Nós gostaríamos de saber o que você e o pai da criança sentiram quando souberam da sua gravidez."** | | | | | |
| **1** | **Você estava utilizando algum método para evitar esta gravidez?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não → *siga à 3*<br>__ [ ] cod | **2** | **Qual o método você estava usando?** | 1 [ ] tabela, coito interrompido<br>2 [ ] camisinha<br>3 [ ] pílula<br>4 [ ] hormônio injetável<br>5 [ ] adesivo<br>__ [ ] cod |
| **3** | **Quando ficou grávida, você:** | 1 [ ] **estava querendo engravidar**<br>2 [ ] **queria esperar mais um tempo**<br>3 [ ] **não queria engravidar**<br>__ [ ] codificação | | | |
| **4** | **E o pai do bebê, quando soube que você estava grávida:** | 1 [ ] **queria que você estivesse grávida**<br>2 [ ] **queria esperar mais um tempo**<br>3 [ ] **não queria que você estivesse grávida**<br>__ [ ] codificação | | | |

| **SONO** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **"Vamos agora conversar um pouco sobre como é o seu sono."** | | | | | | | |
| **1** | **ATUALMENTE, quantas horas de sono, em MÉDIA, você costuma dormir POR NOITE?** | | | | | | ___ ___horas |
| **2** | **O seu tempo de sono mudou depois que engravidou?** | 0 [ ] **não mudou.** *Pule para 4*<br>1 [ ] **sim, aumentou**<br>2 [ ] **sim, diminuiu**<br>__ [ ] cod | | | **3** | *SE SIM*, ***<Mudou>*** **Quanto?** | ___ ___ horas |
| **4** | **Em geral, você tem o sono tranqüilo?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod | **5** | **Modificou depois que engravidou?** | 0 [ ] **não modificou**<br>1 [ ] **sim, está mais tranqüilo**<br>2 [ ] **sim, está mais agitado**<br>3 [ ] **sim, estou com insônia**<br>__ [ ] codificação | | |
| **6** | **Você costuma dormir em outros horários, sem ser a noite?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não. *Próxima seção*<br>__ [ ] cod | | | **7** | **Quantas horas?** | __ __ h __ __ min |

| **FUMO** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **"Agora, eu vou fazer algumas perguntas sobre o hábito de fumar".** | | | | | | | |
| **1** | **Você fuma atualmente?** | 1 [ ] sim → *pule para 3*<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod | **2** | **Você já fumou?** | 1 [ ] sim __ [ ] cod<br>0 [ ] não → *pule para a próxima seção* | | |
| **3** | **Com que idade você começou a fumar?** | __ __ anos | **4** | **Quantos cigarros você fuma(va) por dia?** | ___ ___ | **5** | **Sempre fumou a mesma quantidade?** 1 [ ] sim<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod |
| **6** | *SE SIM na 2,* **Há quanto tempo você parou de fumar?** *888 se fuma atualmente, 000 para menos de 1 mês.* | __ __ __ meses | **7** | *Calcular depois* Durante quanto tempo você foi fumante? | __ __ __ meses | | |

| **ÁLCOOL** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **"E agora, eu vou fazer algumas perguntas sobre consumo de bebidas alcoólicas".** | | | | | |
| **1** | **Você consome algum tipo de bebida alcoólica?** | 1 [ ] sim → *siga à 5*<br>0 [ ] não __ [ ] cod | **2** | **Você já consumiu algum tipo de bebida alcoólica?** | 1 [ ] sim __ [ ] cod<br>0 [ ] não → *próxima seção* |
| **3** | **Que idade você tinha quando parou de beber?** __ __ anos | Há quanto tempo parou de beber?<br>__ __ __ meses | **4** | *Calcular depois* Durante quanto tempo você foi consumidora de álcool? | __ __ __ meses |
| **5** | **Com que idade começou a beber?** | ___ ___ anos | | | |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| 6 | Qual (era) o tipo de bebida alcoólica? | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Tipo de bebida** | | **Quantidade** | **Qual a freqüência que você costuma beber?** |
| | Cerveja/ Chopp | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod | __ __ copos ou<br>__ __ garrafa<br>ou<br>__ __ long neck<br>__ __ latinhas | **1** [ ] mais de 2 vezes/dia **3** [ ] 4-6 vezes/semana **5** [ ] 1-3 vezes/mês<br>**2** [ ] 1 vez/dia **4** [ ] 1-3 vezes/semana **6** [ ] nunca/quase __ [ ] cod<br>nunca |
| | Cachaça/ Vodka | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod | __ __copos | **1** [ ] mais de 2 vezes/dia **3** [ ] 4-6 vezes/semana **5** [ ] 1-3 vezes/mês<br>**2** [ ] 1 vez/dia **4** [ ] 1-3 vezes/semana **6** [ ] nunca/quase __ [ ] cod<br>nunca |
| | Vinho | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod | __ __taça | **1** [ ] mais de 2 vezes/dia **3** [ ] 4-6 vezes/semana **5** [ ] 1-3 vezes/mês<br>**2** [ ] 1 vez/dia **4** [ ] 1-3 vezes/semana **6** [ ] nunca/quase __ [ ] cod<br>nunca |
| | Uísque | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod | __ __doses | **1** [ ] mais de 2 vezes/dia **3** [ ] 4-6 vezes/semana **5** [ ] 1-3 vezes/mês<br>**2** [ ] 1 vez/dia **4** [ ] 1-3 vezes/semana **6** [ ] nunca/quase __ [ ] cod<br>nunca |
| | _____ | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod | __ __<br>_____ | **1** [ ] mais de 2 vezes/dia **3** [ ] 4-6 vezes/semana **5** [ ] 1-3 vezes/mês<br>**2** [ ] 1 vez/dia **4** [ ] 1-3 vezes/semana **6** [ ] nunca/quase __ [ ] cod<br>nunca |

| RENDA / CARACTERÍSTICAS DO DOMICÍLIO | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **"Agora farei algumas perguntas sobre os bens e a renda dos moradores da casa.<br>Mais uma vez lembro que os dados deste estudo servirão apenas para uma pesquisa, portanto a Sra. pode ficar tranqüila para informar o que for perguntado."** | | | | | | | |
| 1 | **A casa em que você mora é:** | 1 [ ] **própria** 3 [ ] **posse** 5 [ ] **outra:** _____<br>2 [ ] **alugada** 4 [ ] **emprestada** __ [ ] cod | | 2 | **Quantas pessoas moram em sua casa incluindo você?** | ___<br>___ | |
| 3 | **Quantos cômodos há em sua casa, incluindo o banheiro?** | ___ ___ | 4 | **Quantos cômodos são usados para dormir?** | ___ ___ | | |
| 5 | **Quantas pessoas que moram na sua casa possuem alguma fonte de renda, incluindo você?** | | | | ___ ___ pessoas | | |
| 6 | **Você faz algum trabalho remunerado fora de casa ou em casa?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não. *Pule para 8* __ [ ] cod | 7 | **Qual?** | | | |
| 8 | **Qual a remuneração em reais de cada uma dessas pessoas (listar parentesco com a gestante)?**<br>*(GANHOS REFERENTES ao MÊS PASSADO)* | | | | | | |
| | **8.1** Entrevistada: (88888 se não trabalha) R$ __ __ __ __ __, 00<br>**8.2** Contribuinte 1: (_____ ) R$ __ __ __ __ __, 00<br>**8.3** Contribuinte 2: (_____ ) R$ __ __ __ __ __, 00 | | | **8.4** Contribuinte 3: ( _____ ) R$ __ __ __ __ __ , 00<br>**8.5** Contribuinte 4: ( _____ ) R$ __ __ __ __ __, 00<br>**8.6** EXTRA *( questão abaixo)*: R$ __ __ __ __ __, 00<br>**8.7** Total *(Somar depois)*: **R$ __ __ __ __ __, 00** | | | |
| **A família tem outra fonte de renda, por exemplo, bolsa família, aluguel, pensão ou outra, que não foi citada acima?** | | | | 0[ ]Não 1[ ] Sim __ [ ] cod → **Quanto?** R$__ __ __ __,00/ mês | | | |
| 9 | **Agora vou fazer algumas perguntas a respeito de aparelhos que a Sra. tem em casa.** | | | | | | |
| | **A Sra. tem _____ em casa?** | | | *Para uso do REVISOR: A escala está completa? 1[ ] Sim 0[ ] Não* | | | |
| | **Televisão em cores** | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 1 [ ] uma 2 [ ] duas 3 [ ] três 4 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| | **Rádio** | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 1 [ ] uma 2 [ ] duas 3 [ ] três 4 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| | **Banheiro** | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 4 [ ] uma 5 [ ] duas 6 [ ] três 7 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| | **Automóvel** | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 4 [ ] uma 7 [ ] duas 9 [ ] três 9 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| | **Quem faz o serviço doméstico na sua casa?**<br>Empregada mensalista | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 3 [ ] uma 4 [ ] duas 4 [ ] três 4 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| | **Máquina de lavar, sem ser tanquinho** | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 2 [ ] uma 2 [ ] duas 2 [ ] três 2 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| | **Videocassete e/ou DVD** | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 2 [ ] uma 2 [ ] duas 2 [ ] três 2 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| | **Geladeira** | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 4 [ ] uma 4 [ ] duas 4 [ ] três 4 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| | **Freezer ou geladeira duplex** | 0 [ ] Não | Sim. **Quantas?** | 2 [ ] uma 2 [ ] duas 2 [ ] três 2 [ ] quatro ou + __ [ ] cod | | | |
| 10 | **Quem é o chefe da família?** _____ (PARENTESCO com a gestante) | | | | | | |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| | |
|---|---|
| 1<br>1 | *SE O CHEFE DA FAMILIA FOR A GESTANTE OU MARIDO, NÃO PERGUNTE E CODIFIQUE DEPOIS.*<br>**Qual o último ano de estudo do chefe da família?**<br>0 [ ] Nenhum ou até 3º série do ensino fundamental<br>1 [ ] 4º série ou ensino fundamental (1º grau) incompleto<br>2 [ ] Ens.fund. (1º grau) compl. ou ens. médio (2ºgrau) incompleto<br>4 [ ] Ensino médio (2º grau) completo ou superior incompleto<br>8 [ ] Superior completo __ [ ] cod |

| QUESTIONÁRIO EDINBURGH | | |
|---|---|---|
| **Você terá um bebê e nós gostaríamos de saber como você esta se sentindo. Para isso, vou ler algumas frases e lhe dar algumas opções. Peço que você me responda a opção que mais se aproxima de como você se sentiu NOS ÚLTIMOS SETE DIAS, e não apenas como você se sente hoje.** | | |
| | | *Para uso do REVISOR: A escala está completa? 1[ ] Sim 0[ ] Não* |
| **1** | **Eu tenho sido capaz de rir e achar graça das coisas.** | 0 [ ] **Como eu sempre fiz.**<br>1 [ ] **Não tanto quanto antes.**<br>2 [ ] **Sem dúvida, menos que antes.**<br>3 [ ] **De jeito nenhum.** __ [ ] cod |
| **2** | **Eu tenho pensado no futuro com alegria.** | 0 [ ] **Sim, como de costume.**<br>1 [ ] **Um pouco menos que de costume.**<br>2 [ ] **Muito menos que de costume.**<br>3 [ ] **Praticamente não.** __ [ ] cod |
| **3** | **Eu tenho me culpado sem razão quando as coisas dão errado.** | 0 [ ] **Não, de jeito nenhum.**<br>1 [ ] **Raramente.**<br>2 [ ] **Sim, às vezes.**<br>3 [ ] **Sim, muito freqüentemente.** __ [ ] cod |
| **4** | **Eu tenho ficado ansiosa ou preocupada sem uma boa razão.** | 3 [ ] **Sim, muito seguido.**<br>2 [ ] **Sim, às vezes.**<br>1 [ ] **De vez em quando.**<br>0 [ ] **Não, de jeito nenhum.** __ [ ] cod |
| **5** | **Eu tenho me sentido assustada ou em pânico sem um bom motivo.** | 3 [ ] **Sim, muito seguido.**<br>2 [ ] **Sim, às vezes.**<br>1 [ ] **Raramente.**<br>0 [ ] **Não, de jeito nenhum.** __ [ ] cod |
| **6** | **Eu tenho me sentido sobrecarregada pelas tarefas e acontecimentos do meu dia-a-dia** | 3 [ ] **Sim. Na maioria das vezes eu não consigo lidar bem com eles.**<br>2 [ ] **Sim. Algumas vezes não consigo lidar bem como antes.**<br>1 [ ] **Não. Na maioria das vezes consigo lidar bem com eles.**<br>0 [ ] **Não. Eu consigo lidar com eles tão bem quanto antes** __ [ ] cod |
| **7** | **Eu tenho me sentido tão infeliz que eu tenho tido dificuldade de dormir.** | 3 [ ] **Sim, na maioria das vezes.**<br>2 [ ] **Sim, algumas vezes.**<br>1 [ ] **Raramente.**<br>0 [ ] **Não, nenhuma vez.** __ [ ] cod |
| **8** | **Eu tenho me sentido triste ou muito mal.** | 3 [ ] **Sim, na maioria das vezes.**<br>2 [ ] **Sim, muitas vezes.**<br>1 [ ] **Raramente.**<br>0 [ ] **Não, de jeito nenhum.** __ [ ] cod |
| **9** | **Eu tenho me sentido tão triste que tenho chorado.** | 3 [ ] **Sim, a maior parte do tempo.**<br>2 [ ] **Sim, muitas vezes.**<br>1 [ ] **Só de vez em quando.**<br>0 [ ] **Não, nunca.** __ [ ] cod |
| **10** | **Eu tenho pensado em fazer alguma coisa contra mim mesma.** | 3 [ ] **Sim, muitas vezes.**<br>2 [ ] **Às vezes.**<br>1 [ ] **Raramente.**<br>0 [ ] **Nunca.** __ [ ] cod |

| ATIVIDADE FÍSICA | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **"Agora vamos aplicar um questionário para saber que tipo de atividades físicas a Sra. realiza no seu dia-a-dia. Por favor, responda às questões, mesmo que você não se considere uma pessoa ativa. As perguntas que faremos se referem ao tempo gasto com atividades físicas <u>em uma semana normal.</u>"** | | | | | |
| *Se mulher respondeu no questionário de RENDA que não trabalha, siga para PARTE 2* | | | | | |
| **PARTE 1: ATIVIDADES FÍSICAS OCUPACIONAIS (RELACIONADAS AO TRABALHO)**<br>**"A primeira parte é sobre trabalho. Isso inclui trabalho remunerado ou não, trabalho voluntário, ou qualquer trabalho que você faça fora as tarefas domésticas como: cuidar da própria casa ou quintal e cuidados com a sua família."** | | | | | |
| **1** | **Quantos dias por semana você trabalha?** | ___ ___ dias. | **2** | **Quantas horas você trabalha por dia?** __ __ h __ __ | *Calcular depois*:<br>Total: __ __ __ min |
| **3** | **Qual a atividade que você passa mais tempo fazendo no seu trabalho?** | | | | _____ |
| **4** | **Das suas " __ __" horas de trabalho, quanto tempo você gasta com esta atividade?** | | | | ___ ___ hs ___ ___ min. |
| **5** | **Esta atividade é predominantemente:** 1[ ]**em pé ou** 2[ ] **sentada** __ [ ] codificação | | | | |
| **6** | **Quanto tempo em média você gasta <u>por dia</u> andando no seu trabalho?** | **1** [ ] < 30 min<br>**2** [ ] 30-60 min<br>**3** [ ] 1-2h | **4** [ ] 2-4h<br>**5** [ ] 4-6h **6** [ ] >6h | | __ [ ] cod |
| **7** | **Quanto tempo em média você gasta <u>por dia</u> sentada no seu trabalho?** | **1** [ ] < 30 min<br>**2** [ ] 30-60 min<br>**3** [ ] 1-2h | **4** [ ] 2-4h<br>**5** [ ] 4-6h **6** [ ] >6h | | __ [ ] cod |
| **8** | **Você se abaixa/agacha ou se curva muito no trabalho?** | **1** [ ] sim<br>**0** [ ] não | __ [ ] cod | **9** | **Você carrega muito peso no trabalho?** | **1** [ ] sim<br>**0** [ ] não | __ [ ] cod |
| **10** | **Você sobe muitos lances de escadas no trabalho?** | **1** [ ] sim<br>**0** [ ] não | __ [ ] cod | **11** | **Você se cansa muito (fisicamente) no trabalho?** | **1** [ ] sim<br>**0** [ ] não | __ [ ] cod |
| **PARTE 2: ATIVIDADES FÍSICAS DE DESLOCAMENTO (LOCOMOÇÃO)**<br>**Agora vou perguntar sobre como a Sra. vai de um lugar a outro, incluindo lugares como trabalho, mercado, escola, farmácia, banco, etc.** | | | | | |
| **12** | **Você anda de bicicleta <u>como meio de transporte</u>?** | **1** [ ] sim<br>**0**[ ] não → *Pular para 15* | __ [ ] cod | | |
| **13** | **Quantos DIAS você anda de bicicleta, em uma semana normal, <u>como meio de transporte?</u>** | ___ ___ dias. | | | |
| **14** | **Quanto TEMPO em média você gasta <u>por dia</u> andando de bicicleta <u>como meio de transporte</u>?** | **1**[ ] < 15 min<br>**2**[ ] 15-30 min | **3**[ ] 30-60 min<br>**4**[ ] > 1h | __ [ ] cod | |
| **15** | *Se gestante não trabalha fora de casa → Pular para 17*<br>**Quantos DIAS você caminha para ir e voltar do trabalho em uma semana normal?** | ___ ___ dias. | | | |
| **16** | **Quanto TEMPO você gasta <u>por dia</u> caminhando para <u>IR E VOLTAR</u> do trabalho?** | **1**[ ] < 15 min<br>**2**[ ] 15-30 min | **3**[ ] 30-60 min<br>**4**[ ] > 1h | __ [ ] cod | |
| **17** | **Você freqüenta ou leva seu(s) filho(s) à escola?** | **1** [ ] sim<br>**0** [ ] não → *Pular para 20* | __ [ ] cod | | |
| **18** | **Quantos DIAS você caminha para ir e voltar da escola em uma semana normal?** | ___ ___ dias. | | | |
| **19** | **Quanto TEMPO você gasta <u>por dia</u> caminhando para <u>IR E VOLTAR</u> da escola?** | **1**[ ] < 15 min<br>**2**[ ] 15-30 min | **3**[ ] 30-60 min<br>**4**[ ] > 1h | __ [ ] cod | |
| **20** | **Quantos DIAS você caminha para ir e voltar de outros lugares como: mercado, farmácia, banco em uma semana normal?** | ___ ___ dias. | | | |
| **21** | **Quanto TEMPO você gasta <u>por dia</u> caminhando para ir e voltar desse(s) lugar(es) <u>(não incluir o tempo andando em casa e/ou no trabalho)</u>?** | **1**[ ] < 15 min<br>**2**[ ] 15-30 min | **3**[ ] 30-60 min<br>**4**[ ] > 1h | __ [ ] cod | |
| **22** | **Você sobe muitas escadas ou ladeiras, para ir de um lugar a outro caminhando?** | **1**[ ] sim<br>**0**[ ] não | __ [ ] cod | **23** | **Você se cansa muito (fisicamente) para ir de um lugar a outro caminhando?** | **1**[ ] sim<br>**0**[ ] não | __ [ ] cod |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |

**PARTE 3: ATIVIDADES FÍSICAS DOMÉSTICAS E CUIDADOS COM A FAMÍLIA**

**"Falaremos agora sobre as atividades físicas que a Sra. faz <u>dentro de casa e no quintal ou jardim</u>; ou seja, tarefas domésticas como: cozinhar, lavar passar, jardinagem, faxina em geral e cuidados com a família."**

| | Em uma semana normal, quantos dias você: | | Quanto tempo em média você gasta <u>por dia</u> com essa tarefa? |
|---|---|---|---|
| 24 | 1) Varre a casa? | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 2) Faz limpeza leve (tirar pó, arrumar mesa e cama)? | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 3) Faxina moderada (limpar janela, lavar banheiro)? | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 4) Lava roupa a mão? | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 5) Estende roupa no varal? | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 6) Passa roupa? | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 7) Cozinha? | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 8) Lava louça? | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | <u>Além dessas, alguma que não tenhamos perguntado?</u> | | |
| | 9)_____ | | ---------- |
| | 10)_____ | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 11)_____ | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 12)_____ | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | 13)_____ | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |
| | | __ __ | 1[ ]<15 min 2[ ]15-30min 3[ ]>30-60m 4[ ]>1h __[ ] cod |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 25 | Quanto tempo em média você passa <u>por dia</u> sentada ou deitada dentro de casa (assistindo televisão, lendo, descansando)? | 1 [ ] < 30 min<br>2 [ ] 30-60 min<br>3 [ ] 1-2h | 4 [ ] 2-4h<br>5 [ ] 4-6h<br>6 [ ] >6h | __ [ ] cod | |
| 26 | Você se abaixa/agacha ou se curva muito em casa? | 1[ ] sim<br>0[ ] não | __ [ ] cod | 27 | Você carrega muito peso em casa? |
| | | | | | 1[ ] sim<br>0[ ] não __ [ ] cod |
| 28 | Você sobe muitos lances de escadas em casa? | 1[ ] sim<br>0[ ] não | __ [ ] cod | 29 | Você se cansa muito (fisicamente) em casa? |
| | | | | | 1[ ] sim<br>0[ ] não __ [ ] cod |

**PARTE 4: ATIVIDADES FÍSICAS DE LAZER (ATIVIDADES RECREACIONAIS, ESPORTES)**

**"Agora faremos perguntas sobre todas as atividades físicas que a Sra. fez <u>exclusivamente com o objetivo de se divertir, exercitar-se, praticar algum esporte ou apenas por lazer</u>."**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 30 | <u>Antes de saber da gravidez</u>, você <u>estava praticando</u> alguma atividade física de lazer? | | | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não → *Siga a 35* __ [ ] cod | |
| 31 | Qual a atividade? | 32 | Quantos dias por semana? | 33 | Quanto tempo por dia? |
| | 1) _____ | | ___ ___ dias por semana. | | ___ ___ horas ___ ___ minutos. |
| | 2) _____ | | ___ ___ dias por semana. | | ___ ___ horas ___ ___ minutos. |
| | 3) _____ | | ___ ___ dias por semana. | | ___ ___ horas ___ ___ minutos. |
| 34 | <u>Há quanto tempo</u> você praticava esta(s) atividade(s), antes de engravidar? | 1) _____; 2) _____; 3) _____. | | | |
| 35 | E agora, <u>você está/continua praticando</u> alguma atividade física de lazer? | | | 1 [ ] Sim<br>0 [ ] Não → *Siga à Parte 5* __ [ ] cod | |
| 36 | Qual a atividade? | 37 | Quantos dias por semana? | 38 | Quanto tempo por dia? |
| | 1) _____ | | ___ ___ dias por semana. | | ___ ___ horas ___ ___ minutos. |
| | 2) _____ | | ___ ___ dias por semana. | | ___ ___ horas ___ ___ minutos. |
| | 3) _____ | | ___ ___ dias por semana. | | ___ ___ horas ___ ___ minutos. |

| PARTE 5: PERCEPÇÃO SOBRE ATIVIDADES FÍSICA E ORIENTAÇÃO NO PRÉ-NATAL | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **39** | **De maneira geral, em relação ao período antes de saber que estava grávida, você considera que:** | 1 [ ] **diminuiu suas atividades no dia-a-dia.**<br>2 [ ] **não mudou suas atividades.**<br>__ [ ] cod<br>3 [ ] **aumentou ou passou a fazer mais atividades do que fazia antes.** | | | |
| **40** | **Na sua opinião, atualmente você se considera:** | 1 [ ] **Muito pouco ativa**<br>2 [ ] **Pouco ativa** | 3 [ ] **Moderadamente ativa**<br>4 [ ] **Muito ativa**<br>__ [ ] cod | | |
| **41** | **<u>No seu atendimento pré-natal</u>, você recebeu alguma orientação sobre a prática de atividades físicas durante a gestação?** | 1 [ ] sim<br>0 [ ] não<br>__ [ ] cod | **42** | *Se sim,* **quem a orientou?** | _____ |
| **43** | **Que orientação você recebeu?** | | | | |

**Data:___/___/____**

| ANTROPOMETRIA | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **"Agora vamos realizar algumas medidas, saber sobre sua gestação atual e conversar um pouco sobre seu peso também."** | | | | | |
| ☞ *Realizar a PRIMEIRA medida de pressão arterial* | | | | | |
| **1** | **Qual a data da sua última menstruação?** | __ __ / __ __ / __ __ __ __ | **2** | *Semana gestacional DUM:* | ___ ___ semanas **DUM** |
| **A Sra. fez Ultrassonografia?**<br>**0**[ ] Não → *Pular para 4.*<br>**1**[ ] Sim → *Consulte ou pergunte a semana gestacional da data em que realizou o exame:*<br>*__ __ semanas e _ dias no dia __ __ /__ __/ __ __ __ __* | | | **3** | *Semana gestacional pela USG (ajustada para data desta entrevista)* | ___ ___ semanas **USG** |
| ☞ *Medidas antropométricas:* | | | | | |
| **4** | Estatura: | **4.1** ___ ___ ___ **,** ___ cm<br>**4.2** ___ ___ ___ **,** ___ cm | **5** | Estatura MÉDIA: | ___ ___ ___ **,** ___ cm |
| **6** | Peso pré-gestacional RELATADO: | ___ ___ ___, ___ kg | **7** | Peso pré-gestacional AFERIDO: | ___ ___ ___, ___ kg |
| **8** | IMC pré-gestacional (peso AFERIDO): | ___ ___ , ___ kg/m² | **9** | Categoria IMC pré-gestacional: | 1 [ ] baixo peso (< 18,5)<br>2 [ ] normal (18,5 a 24,9)<br>3 [ ] sobrepeso (≥25 e <29,9)<br>4 [ ] obesidade (≥ 30)<br>__ [ ] codificação |
| ☞ *Passar medidas para o CARTÃO DA GESTANTE* ☺ | | | | | |
| **10** | Data aferição *(pressão arterial)*: | __ __ / __ __ / __ __ __ __ | **11** | Pressão arterial 1 (PA1): | Sistólica: __ __ __ mmHg<br>Diástólica: __ __ __ mmHg<br>Batimentos cardíacos: __ __ __ min |
| ☞ *Realizar a SEGUNDA medida de pressão arterial* | | | | | |
| **12** | Pressão arterial 2 (PA2): | Sistólica: __ __ __ mmHg<br>Diástólica: __ __ __ mmHg<br>Batimentos cardíacos: __ __ __ min | | | |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| **2ª Medida da pressão arterial – Dia do questionário geral** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **14** | Data aferição *(pressão arterial)*: | __ __ / __ __ / __ __ __ __ | **15** | Pressão arterial 1 (PA1): | Sistólica: __ __ __ mmHg<br>Diástólica: __ __ __ mmHg<br>Batimentos cardíacos: __ __ __ min |
| ☞ *Realizar a SEGUNDA medida de pressão arterial* | | | | | |
| **16** | Pressão arterial 2 (PA2): | Sistólica: __ __ __ mmHg<br>Diástólica: __ __ __ mmHg<br>Batimentos cardíacos: __ __ __ min | | | |

1 2 3 4 5 6 7 8 9 0

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Nutrição Josué de Castro

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Nome:** | | | | |
| **Número do questionário** | __ __ __ | | | |
| **Entrevistador: [__ __ ]** | | | | **Data: __ __ / __ __ / __ __ __ __** |
| **Hora inicio __ __ h __ __ min** | **Hora final __ __ h __ __ min** | | | **Local:** |

| REVISOR | DIG 1 | DATA DE DIGITAÇÃO 1 | DIG 2 | DATA DE DIGITAÇÃO 2 |
|---|---|---|---|---|
| ___ ___ | ___ ___ | ___ ___ / ___ ___ / ___ ___ ___ ___ | ___ ___ | ___ ___ / ___ ___ / ___ ___ ___ ___ |

Questionário alimentar – 3º trimestre

**"Hoje vamos conversar sobre a sua alimentação durante a gestação, pense na sua alimentação desde o 4º mês de gestação até agora."**

**1. Em uma semana normal, com que freqüência você tem realizado as seguintes refeições?**

| | Todos os dias | 5-6 X semana | 3-4 X semana | 1-2 X semana | Nunca/Quase Nunca |
|---|---|---|---|---|---|
| **Café da manhã?** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Come algo no meio da manhã?** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Lanche no lugar de almoço?** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Almoço?** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Lanche da tarde?** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Lanche no lugar de jantar?** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Jantar?** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Come algo mais tarde ou antes de dormir?** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |

**2. Em que local você geralmente realiza as refeições?**

| | Não realiza | Casa | No trabalho, mas leva de casa | Fornecida pelo trabalho | Lanchonete, bar, restaurante | Outros |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Café da manhã?** | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Almoço?** | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Lanche da tarde** | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **Jantar** | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

- **Agora vamos fazer algumas perguntas em relação à sua alimentação, iniciando com um questionário que contém uma lista de alimentos.**

**- Queremos saber se você consumiu cada um destes alimentos DESDE O 4º MÊS de gestação.**

**- Para cada alimento que eu perguntar, responda SE VOCÊ CONSUMIU OU NÃO ESTE ALIMENTO DURANTE ESSE PERÍODO, de acordo com a seguinte escala de freqüência *(MOSTRAR ESCALA).***

**- Caso você não tenha consumido o alimento que eu lhe perguntei, a Sra. responda "NUNCA ou QUASE NUNCA".**

**- Para os alimentos que VOCÊ CONSUMIU, vou perguntar a QUANTIDADE ou TAMANHO DA PORÇÃO que você USUALMENTE consome desse alimento.**

**OK? Vamos começar! ☺**

| ***VOCÊ CONSUMIU ...NOS ÚLTIMOS 6 MESES OU DURANTE A GESTAÇÃO*** | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ***QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?*** | | | | **Freqüência** | | | | | | | |
| | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Arroz | 1-2 C Sopa | 1 colher de servir<br>3-4 CSopa | 2 colh servir ou +<br>5 CSopa ou + | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Miojo ***ou*** Macarrão | 1 pegador | 2 pegadores | 3 pegadores ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Farinha de mandioca ***ou*** farofa | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Polenta ***ou*** Angu | 1 pedaço | 2 pedaços | 3 pedaços ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Batata Cozida ***ou*** Purê | 1 unidade ou 1 colher de sopa | 2 unidades<br>2 C Sopa | 3 unidades<br>3 C Sopa ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |

| ***ONSUMIU ... nos últimos 6 meses OU durante a gestação?*** | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mandioca, Aipim ***ou*** Inhame | 1 pedaço | 2 pedaços | 3 pedaços ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Lasanha, Nhoque ***ou*** Ravióli | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Feijão | ½ concha | 1 concha | 2 conchas ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| ***1. Você costuma comer: 1 [ ] grão e caldo, ou somente o 2 [ ] caldo? 8 [ ] não come feijão*** | | | | | | | | | | | |
| Lentilha, Ervilha ***ou*** Grão de bico | 1-2 colh Sopa | 3-4 colh Sopa ou ½ concha | 3 colheres ou +<br>1 concha ou + | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Bolo | 1 fatia | 2 fatias | 3 fatias ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| *VOCÊ CONSUMIU ...NOS ÚLTIMOS 6 MESES OU DURANTE A GESTAÇÃO* | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | | Freqüência | | | | | | | | |
| | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Biscoito recheado | 1-2 unidades | 3-5 unidades | 6 unidades ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Biscoito doce, maizena, maria | 1-2 unidades | 3-5 unidades | 6 unidades ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Biscoito salgado, cream cracker | 1-2 unidades | 3-5 unidades | 6 unidades ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Pão, pão francês ***ou*** pão de forma | 1unidade<br>2 fatias | 1 ½ - 2 unidades<br>3-4 fatias | 3 unidades ou +<br>5 fatias ou + | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Margarina | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Manteiga ***(Qual a marca?)*** | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Queijo | 1 fatia | 2 fatias | 3 fatias ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Requeijão | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Leite ***(em pó ou café com leite, pingado)*** | 1 copo<br>2 CS pó | 2 copos ou +<br>3-4 CS pó ou + | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| ***Se Café com leite ou Pingado: ANOTE AQUI a QUATIDADE de leite por xícara, TAMANHO da xíc. e a FREQ.:*** | | | | | | | | | | | |
| ***2. Que tipo de leite você toma? 1[ ] integral; 2[ ] semi-desnatado; 3[ ] desnatado; 8[ ]não toma leite*** | | | | | | | | | | | |
| Iogurte | 1 pote médio ou<br>2 danoninhos | 2 potes | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Alface | 1-2 folhas | 3-4 folhas | 5 folhas ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Couve | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Repolho | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Couve-flor ***OU*** Brócolis | 1 ramo | 2 ramos | 3 ramos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Tomate | ½ unidade<br>5 rodelas | 1-2 unidades<br>5-10 rodelas | 3 unidades ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| *VOCÊ CONSUMIU ...NOS ÚLTIMOS 6 MESES OU DURANTE A GESTAÇÃO* | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | | Freqüência | | | | | | | | |
| | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Pepino cru ***(não enlatado)*** | 1-2 fatias 1 colher | 3-4 fatias 2 colheres | 5 fatias ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Chuchu | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Abobrinha verde | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Abóbora | 1 pedaço | 2 pedaços | 3 pedaços ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Cenoura | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Beterraba | 1-2 fatias | 3-4 fatias | 5 fatias ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Quiabo | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Vagem | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| ***"Agora vou perguntar sobre consumo de frutas, mas não considere aqui suco de frutas, pois irei perguntar depois sobre sucos".*** | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Laranja ou tangerina | 1 média | 2 médias | 3 méd. ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Banana | 1 média | 2 médias | 3 méd. ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Mamão | 1 fatia ou ½ papaia | 2 fatias ou 1 papaia ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Maçã | 1 unidade | 2 unidades ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Melancia ou Melão | 1 fatia | 2 fatias | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Abacaxi | 1 fatia | 2 fatias | 3 fatias ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Manga | 1 unidade | 2 unidades ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Uva | 1/2 cacho | 1 cacho | 2 cachos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Pimentão | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Alho | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Cebola | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| *VOCÊ CONSUMIU ...NOS ÚLTIMOS 6 MESES OU DURANTE A GESTAÇÃO* | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | | Freqüência | | | | | | | |
| | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Ovos | 1 ovo | 2 ovos | 3 ovos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Peixe (fresco, não enlatado) | 1 filé ou posta | | 2 filés ou 2 postas ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| ***3. Como você geralmente consome o peixe? 1[ ] frito/empanado; 2 [ ] grelhado; 3[ ] ensopado/cozido; 4[ ] assado; 8[ ] não come peixe*** | | | | | | | | | | | |
| ***4. Qual o tipo de peixe (nome) que você costuma consumir (circule o mais o +freqüente)?*** | | | | | | | | | | | |
| Carne de porco, carré | 1 pedaço | 2 pedaços ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Frango | 1 pedaço | 2 pedaços ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Carne vermelha, bife, carne ensopada ou moída | 1 bife ou 1 pedaço médio, 5 colheres de sopa de carne ensopada ou de carne moída | 2 bifes ou 2 pedaços médio, 6 colheres de sopa de carne ensopada ou de carne moída | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Carne de hambúrguer | 1 hambúrguer | 2 hambúrgueres ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Sardinha ou Atum **em lata** | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Bucho, fígado, moela, coração | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| ***Observe ATENTAMENTE a freqüência de consumo semanal das carnes listadas acima; observe se há consumo super ou subrelato.*** | | | | | | | | | | | |
| Salsicha *ou* Salsichão | 1 unidade média | 2 unidades médias | 3 unidades médias ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Lingüiça | 1 unidade média | 2 unidades médias | 3 unidades médias ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Mortadela, Presunto, Apresuntado, Salame | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Bacon, toucinho ou torresmo | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Churrasco de carne vermelha *(NÃO FGO* | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Carne seca ou bacalhau | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| *VOCÊ CONSUMIU ...NOS ÚLTIMOS 6 MESES OU DURANTE A GESTAÇÃO* | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | | Freqüência | | | | | | | |
| | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Banha de porco para cozinhar, temperar ou fritar? | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Pizza | 1 pedaço | 2 ou mais pedaços | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Batata frita, Chips ***ou*** Palha | 1 pacote pequeno de chips ou 1 porção pequena do McDonald's | 2 pacotes pequenos de chips ou 1 porção média do McDonald's | 1 pacote grande de chips ou equivalente a 1 porção grande do McDonald's | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Salgadinhos tipo Cheetos, Fofura, Torcida | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Pipoca *(doce/salg, arroz, milho)* | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Salgados tipo risoli, coxinha, pastel, kibe | 1 unidade média | 2 unidades médias ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Amendoim *(saco)* | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Alimentos enlatados: ervilha, azeitona, palmito, picles, etc. | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Maionese | 1 colher de chá ou sopa | 2 colheres sopa ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Sorvete | 1 bola | 2 bolas ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Balas | **Marque só a freqüência** | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Chocolate em pó ou Nescau | 1 colher | 2 colheres | 3 colheres ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Chocolate barra ou Bombom | 1 unidade (30g) | 2 unidades (30g) | 3 unidades (30g) ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Doce à base de leite, como pudim, doce leite, ou outros | 1 pedaço | 2 pedaços | 3 pedaços ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Doce à base de fruta, como goiabada, bananada, ou outros | 1 pedaço | 2 pedaços | 3 pedaços ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| *VOCÊ CONSUMIU ...NOS ÚLTIMOS 6 MESES OU DURANTE A GESTAÇÃO* | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | | Freqüência | | | | | | | |
| | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Açúcar para adoçar | 1 colher de sobremesa | 2 colheres de sobremesa ou mais | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Café *(solúvel ou pó; puro ou leite)* | 1 xíc peq/ 1 C chá pó | 1 xíc média 2-3 C chá pó | 1 xíc grande 2 xícaras ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| Chá ***OU*** Mate | 1 copo | 2 copos | 3 copos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Refrigerantes à base de cola, como coca-cola ou pepsi-cola | 1 copo | 2 copos | 3 copos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Outros refrigerantes como guaraná, fanta ***ou*** Guaravita | 1 copo | 2 copos | 3 copos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Se freqüência for ***diária ou semanal para ambos tipos de refrigerante***, revisar com gestante para não supraestimar este consumo. | | | | | | | | | | | |
| Suco da fruta ou da polpa ***(Não pó)*** | 1 copo | 2 copos | 3 copos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Vinho | 1 copo | 2 copos | 3 copos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Cerveja | 1-2 copos | 3-4 copos | 5 copos ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Outras bebidas alcoólicas | 1 dose | 2 doses | 3 doses ou mais | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| ***Tem algum alimento que você consumiu ao longo da gestação que eu não tenha perguntado?*** ***Tem algum alimento que você passou a consumir em grande quantidade em algum momento na gestação?*** | | | | | | | | | | | |
| | Porção usual: | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | Porção usual: | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | Porção usual: | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | Porção usual: | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| *VOCÊ CONSUMIU ...NOS ÚLTIMOS 6 MESES OU DURANTE A GESTAÇÃO* | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *QUANDO COMEU, QUAL FOI A QUANTIDADE POR REFEIÇÃO (OU A CADA VEZ)?* | | | Freqüência | | | | | | | |
| | | | **+ 3X dia** | **2 a 3X por dia** | **1 X por dia** | **5 a 6 X por semana** | **2 a 4 X por semana** | **1 X por semana** | **1 a 3 X por mês** | **Nunca ou quase nunca** |
| | Porção usual: | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |

***Em algum momento na gestação, você teve desejo de comer algum alimento? Ou vontade de comer alguma coisa que não fosse alimento, como terra, sabonete, tijolo?***

*(Apenas cite) :*

| ***Alimentos que ENJOOU na gestação?*** | ***Circule o mês da gestação em que enjoou?*** | | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 |
|---|---|---|---|
| | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 | | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 |
| | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 | | 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 |

***"Agora, vou fazer algumas perguntas sobre o consumo de ÓLEO na sua casa."***

**3. Qual o tipo de óleo ou gordura USUALMENTE vocês utilizam para cozinhar OU temperar os alimentos?**

**1** [ ] óleo de **soja; 2** [ ] óleo de **arroz; 3** [ ] óleo de **milho; 4** [ ] óleo de **girassol 5**[ ] óleo de **canola 6**. [ ] azeite de **oliva; 7** [ ] banha de **porco; 8** [ ] não usa óleo

**4. E para fritura?** *[se for o mesmo, remarque no quadro abaixo]*

**1** [ ] óleo de **soja; 2** [ ] óleo de **arroz; 3** [ ] óleo de **milho; 4** [ ] óleo de **girassol** ; **5** [ ] óleo de **canola**

**6** [ ] azeite de **oliva; 7** [ ] banha de **porco; 8** [ ] margarina; **9** [ ] manteiga; **10** [ ] **Não faz frituras**

**Quanto tempo dura 1 garrafa ou lata de óleo após aberta?**

*[óleo cozinhar]* __ __ dias OU __ __ semanas OU __ __ meses

*[outro óleo ou azeite de oliva marcado no quadro]* __ __ dias OU __ __ semanas OU __ __ meses

**NORMALMENTE, no dias de semana, ou seja, de segunda a sexta-feira, quantas pessoas realizam o ALMOÇO em sua casa?** __ __ pessoas [total] **Quantas são crianças < 5 anos? __ __ ; Demais (adultos/idosos ou adolescentes): __ __**

**Você está incluída? 0** [ ] Não **1** [ ] Sim

**E o JANTAR?** __ __ pessoas no JANTAR [total]

**Quantas são crianças < 5 anos? __ __ ; Demais (adultos/idosos ou adolescentes): __ __**

**Você está incluída? 0** [ ] Não **1**[ ] Sim

**E nos sábados?** __ __ pessoas no ALMOÇO [total]

**Quantas são crianças < 5 anos? __ __ ; Demais (adultos/idosos ou adolescentes): __ __**

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

| |
|---|
| **Você está incluída? 0** [ ] Não **1**[ ] Sim |
| **E no jantar do sábado:** __ __ pessoas JANTAR [total]<br><br>**Quantas são crianças < 5 anos? __ __ ; Demais (adultos/idosos ou adolescentes): __ __**<br><br>**Você está incluída? 0** [ ] Não **1**[ ] Sim |
| **E nos domingos?** __ __ pessoas no ALMOÇO [total]<br><br>**Quantas são crianças < 5 anos? __ __ ; Demais (adultos/idosos ou adolescentes): __ __**<br><br>**Você está incluída? 0** [ ] Não **1**[ ] Sim |
| **E no jantar do domingo:** __ __ pessoas JANTAR [total]<br><br>**Quantas são crianças < 5 anos? __ __ ; Demais (adultos/idosos ou adolescentes: __ __**<br><br>**Você está incluída? 0** [ ] Não **1**[ ] Sim |

**"Agora vamos conversar sobre o uso de suplementos, como de vitaminas e ferro."**

**19. A Sra. fez uso de algum suplemento durante da gestação?**

**0** [ ] Não, *Se não, agradeça e encerre a entrevista* **1** [ ] Sim

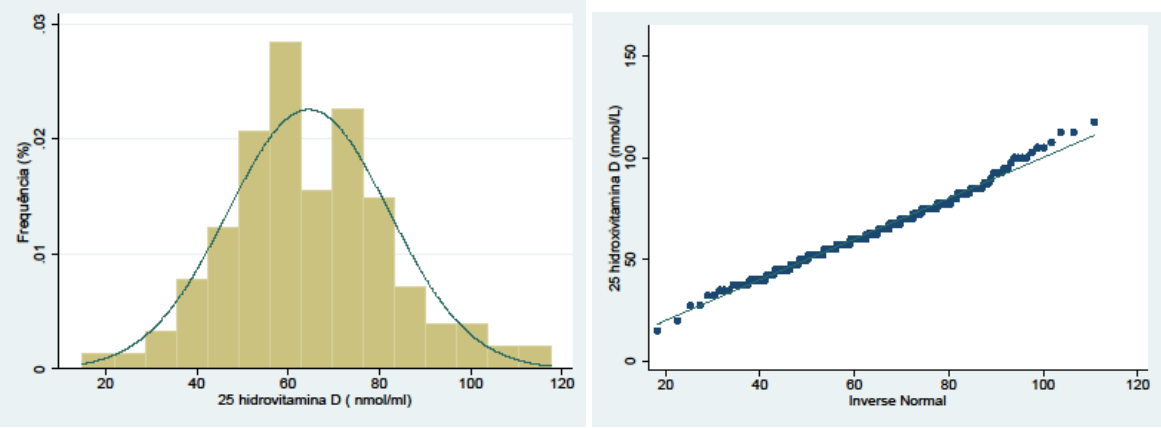
| **Ácido fólico?** | **Mês da gestação e qtos dias usou?** | **Quantos comprimidos/dia?** | **Sulfato ferroso?** | **Mês da gestação e qtos dias usou?** | **Quantos comprimidos/dia?** |
|---|---|---|---|---|---|
| **0 [ ]** Não<br>**1 [ ]** Sim<br>__ **[ ]** IGN | 1º Mês: __ __ dias<br>2º Mês: __ __ dias<br>3º Mês: __ __ dias<br>4º Mês: __ __ dias<br>5º Mês: __ __ dias<br>6º Mês: __ __ dias<br>7º Mês: __ __ dias<br>8º Mês: __ __ dias<br>9º Mês: __ __ dias | __ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia | **0 [ ]** Não<br>**1 [ ]** Sim<br>__ **[ ]** IGN | 1º Mês: __ __ dias<br>2º Mês: __ __ dias<br>3º Mês: __ __ dias<br>4º Mês: __ __ dias<br>5º Mês: __ __ dias<br>6º Mês: __ __ dias<br>7º Mês: __ __ dias<br>8º Mês: __ __ dias<br>9º Mês: __ __ dias | __ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia<br>__ __ compr./dia |
| **Foi dado no posto?**<br>**0 [ ]**Não;<br>**1 [ ]** Sim<br>__ **[ ]**cod. | | | **Foi dado no posto?**<br>**0 [ ]**Não;<br>**1 [ ]** Sim<br>__ **[ ]**cod. | | |
| **Multivitamínico/ multimineral? 0 [ ]** Não<br>**1 [ ]** Sim<br>**9 [ ]** IGN | **Foi dado no posto?**<br>**0 [ ]**Não;<br>**1 [ ]** Sim<br>__ **[ ]**cod. | 1º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia<br>2º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia<br>3º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia<br>4º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia<br>5º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia | | 6º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia<br>7º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia<br>8º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia<br>9º Mês: __ __ dias __ __ compr./dia | |

666 – Não quis responder (NQR) 777= Missing 888 = Não se aplica (NSA) 999= Não sabe

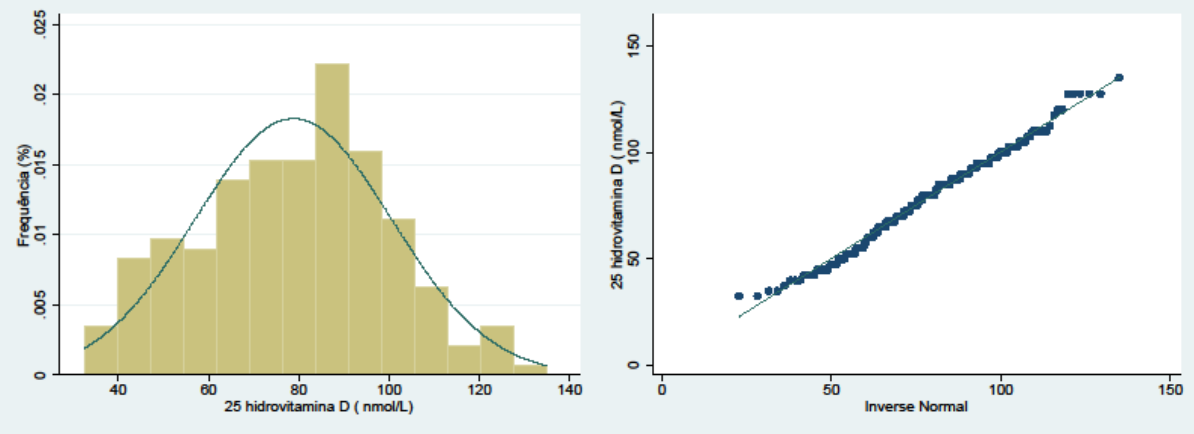
# ANEXO 4

ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS

**1° trimestre**




**2° Trimestre**




**3° Trimestre**

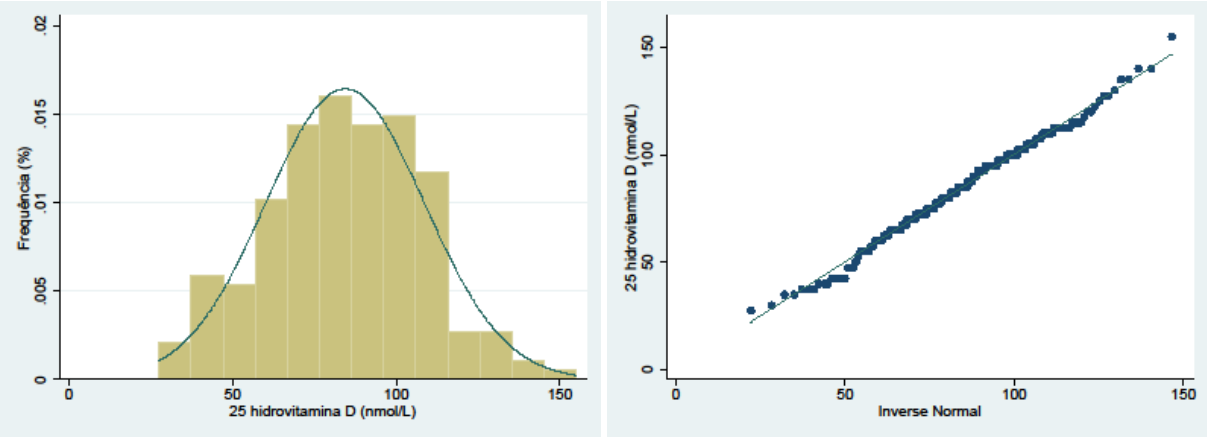
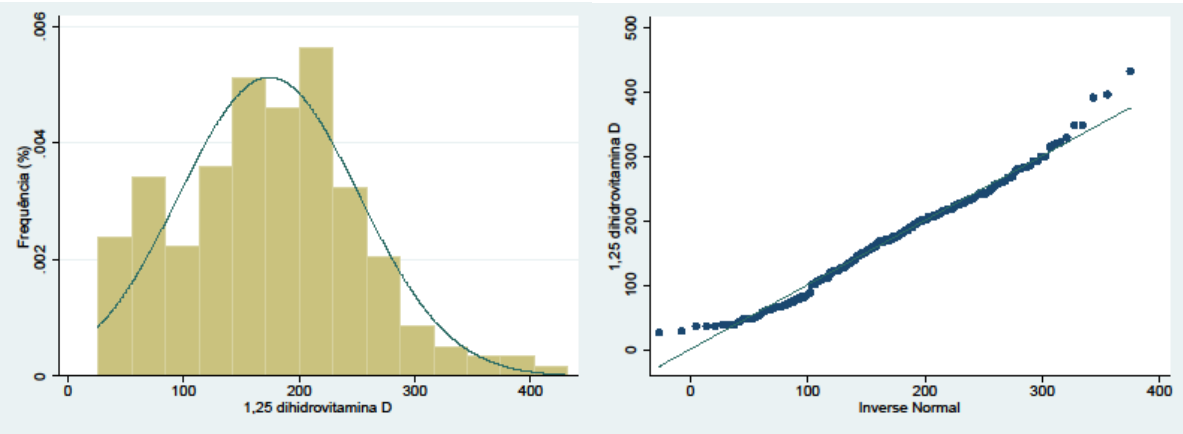
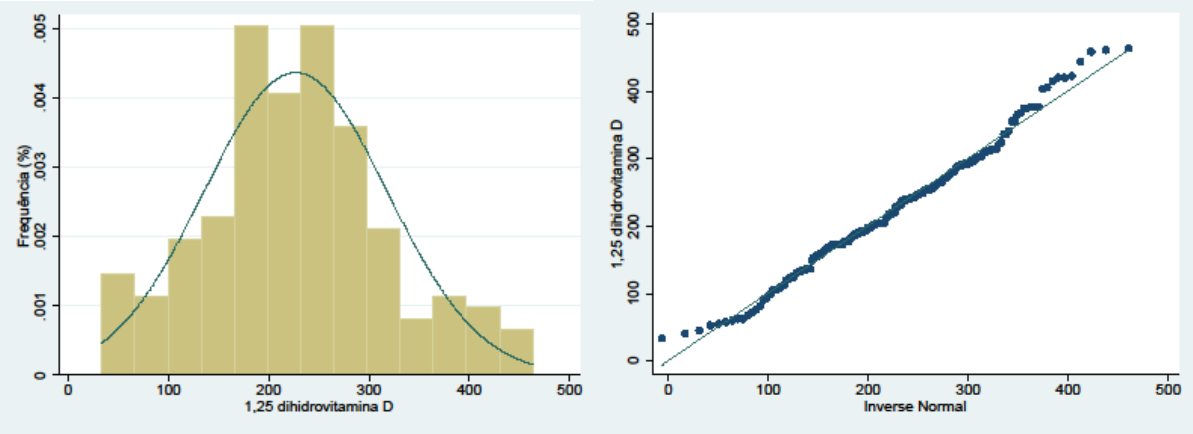



**Figura 6.** Histograma e gráfico de dispersão da variável 25(OH)D.

**1° Trimestre**




**2° Trimestre**




**3° Trimestre**

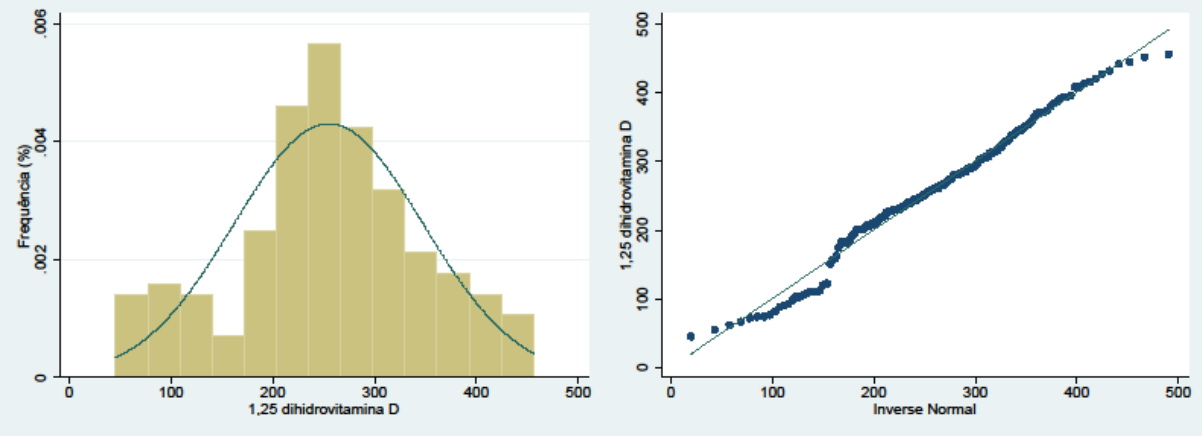
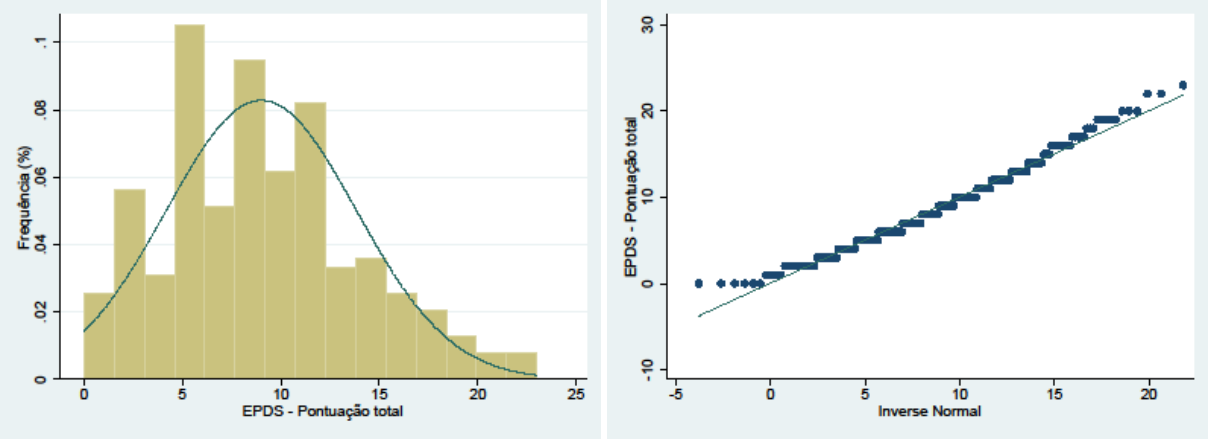
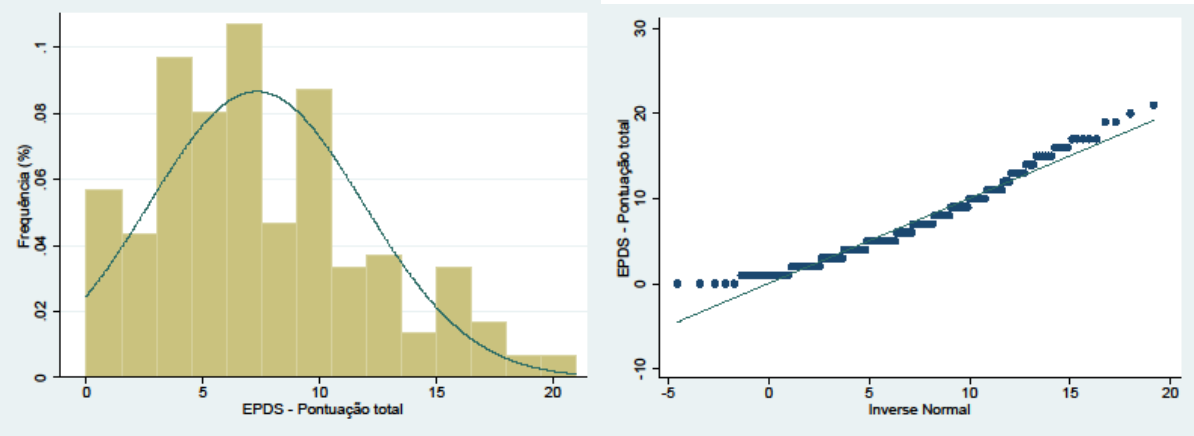



**Figura 7.** Histograma e gráfico de dispersão da variável 1,25$(OH)_2$D.

**1° trimestre**




**2° Trimestre**




**3° Trimestre**

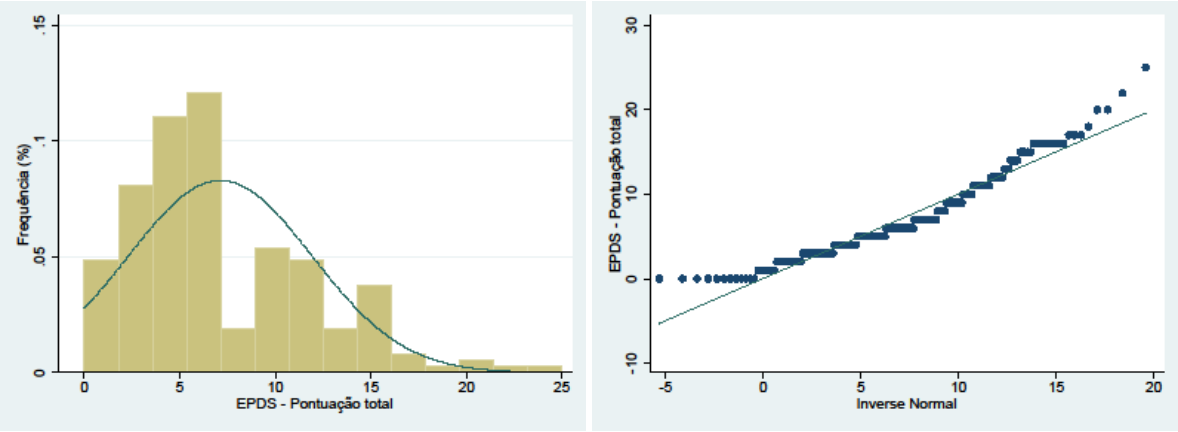



**Figura 8.** Histograma e gráfico de dispersão da variável sintomas depressivos.

# ANEXO 5

SINTAXES

**ARTIGO 1**

*****************SOFTWARE STATA*****************

**TABELA 1**

*Variáveis continuas

```
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & vitdquesttab_cat~=.
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==2 & vitdquesttab_cat~=.
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==3 & vitdquesttab_cat~=.
sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & vitdquesttab_cat~=.
sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==2 & vitdquesttab_cat~=.
sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==3 & vitdquesttab_cat~=.
sum idade if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & vitdquesttab_cat~=.
sum renda_percapta if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & vitdquesttab_cat~=.
sum Intake_vitD_IU3Tfixo if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & vitdquesttab_cat~=.
sum CALCIUM_fixo3tri if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & vitdquesttab_cat~=.
```

**- Teste ANOVA**

**** Categoria Sociedade Americana de Endocrinologia**

```
oneway vitdquest2 vitdquesttab_cat if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitdquesttab_cat: sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway vitdquest2 vitdquesttab_cat_1tri if trimestre==2 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitdquesttab_cat_1tri: sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==2, d

oneway vitdquest2 vitdquesttab_cat_1tri if trimestre==3 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitdquesttab_cat_1tri: sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==3, d

oneway vitdativaquest2 vitdquesttab_cat if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitdquesttab_cat: sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway vitdativaquest2 vitdquesttab_cat_1tri if trimestre==2 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitdquesttab_cat_1tri: sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==2, d

oneway vitdativaquest2 vitdquesttab_cat_1tri if trimestre==3 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitdquesttab_cat_1tri: sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==3, d

oneway idade vitdquesttab_cat if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
bysort vitdquesttab_cat: sum idade if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway renda_percapta vitdquesttab_cat if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
bysort vitdquesttab_cat: sum renda_percapta if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway paridade vitdquesttab_cat if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitdquesttab_cat: sum paridade if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway Intake_vitD_IU3Tfixo vitdquesttab_cat if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
bysort vitdquesttab_cat: sum Intake_vitD_IU3Tfixo if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway  CALCIUM_fixo3tri vitdquesttab_cat if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
bysort vitdquesttab_cat: sum CALCIUM_fixo3tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d
```

****categorias IOM****

```
oneway vitdquest2 vitd_catIOM_1tri if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1, bon
```

```
bysort vitd_catIOM_1tri: sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway vitdquest2 vitd_catIOM_1tri if trimestre==2 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitd_catIOM_1tri: sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==2, d

oneway vitdquest2 vitd_catIOM_1tri if trimestre==3 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitd_catIOM_1tri: sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==3, d

oneway vitdativaquest2 vitd_catIOM if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitd_catIOM: sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway vitdativaquest2 vitd_catIOM_1tri if trimestre==2 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitd_catIOM_1tri: sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==2, d

oneway vitdativaquest2 vitd_catIOM_1tri if trimestre==3 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitd_catIOM_1tri: sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==3, d

oneway idade vitd_catIOM if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1, bon
bysort vitd_catIOM: sum idade if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway renda_percapta vitdquesttab_cat if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
bysort vitdquesttab_cat: sum renda_percapta if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway Intake_vitD_IU3Tfixo vitd_catIOM_1tri if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
bysort vitd_catIOM_1tri: sum Intake_vitD_IU3Tfixo if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d

oneway CALCIUM_fixo3tri vitd_catIOM_1tri if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
bysort vitd_catIOM_1tri: sum CALCIUM_fixo3tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1, d
```

***variáveis categóricas***

```
tab estacaoano1 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1
tab new_imcpre_2cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1
tab consome_alcool_sim_nao if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1
tab fumo_atual if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1
tab escol_cat2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1
tab Branco_Outr_Negros if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1
tab faz_ativ_lazer_antes if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1
tab paridadecat2 if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1
```

**** Categorias Sociedade Americana de Endocrinologia**

```
tab estacaoano1trim_2cat vitdquesttab_cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab new_imcpre_2cat vitdquesttab_cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab consome_alcool_sim_nao vitdquesttab_cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab fumo_atual vitdquesttab_cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab escol_cat2 vitdquesttab_cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab Branco_Outr_Negros vitdquesttab_cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab faz_ativ_lazer_antes vitdquesttab_cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab paridadecat2 vitdquesttab_cat if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
```

****categorias IOM****

```
tab  estacaoano1trim_2cat vitd_catIOM_1tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab new_imcpre_2cat vitd_catIOM_1tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab consome_alcool_sim_nao vitd_catIOM_1tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab fumo_atual vitd_catIOM_1tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab Branco_Outr_Negros vitd_catIOM_1tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab faz_ativ_lazer_antes vitd_catIOM_1tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
tab paridadecat2 vitd_catIOM_1tri if sg_padrao~=. & status==1 & trim~=4 & trim==1,row col chi2
```

**FIGURA 1**
**- Sociedade americana de endocrinologia**
```
tab vitdquesttab_cat EstAno if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
tab vitdquesttab_cat EstAno if trimestre==2 & sg_padrao~=. & status==1
tab vitdquesttab_cat EstAnoif trimestre==3 & sg_padrao~=. & status==1
```

**- IOM**
```
tab vitd_catIOM_1tri EstAno if trimestre==1 & sg_padrao~=. & status==1
tab vitd_catIOM_1tri EstAno if trimestre==2 & sg_padrao~=. & status==1
tab vitd_catIOM_1tri EstAno if trimestre==3 & sg_padrao~=. & status==1
```

**FIGURA 2**
**-A**
```
xtmixed vitdquest2 sg_padrao if status==1 & trimestre~=4,|| id: sg_padrao , covariance(uns) variance
predict fitted_quest2
twoway (scatter vitdquest2 sg_padrao if status==1 & trimestre~=4)(line fitted_quest2 sg_padrao if status==1 &
trimestre~=4) , xtitle(Gestational age (weeks)) ytitle(25(OH)D concentrations (nmol/L))
```
**-B**
```
xtmixed vitdativaquest2 sg_padrao if status==1 & trimestre~=4,|| id: sg_padrao , covariance(uns) variance
predict fitted_ativaquest2
twoway (scatter vitdativaquest2 sg_padrao if status==1 & trimestre~=4)(line fitted_ativaquest2 sg_padrao if
status==1 & trimestre~=4) , xtitle(Gestational age (weeks)) ytitle(1,25(OH)2D concentrations (pmol/L))
```

**FIGURE 3**
```
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & id_inver==1
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==2 & id_inver==1
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==3 & id_inver==1

sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & id_primav==1
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==2 & id_primav==1
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==3 & id_primav==1

sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & id_out==1
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==2 & id_out==1
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==3 & id_out==1

sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==1 & id_verao==1
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==2 & id_verao==1
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & status==1 & trimestre==3 & id_verao==1
```

**FIGURA 4/ Tabela suplementar 1**
```
m1<-fit<-lmer(vitdquest2~sg_padrao* EstAno_1Trimestre+(1+sg_padrao|id), data=dados, REML=FALSE)
summary(m1)
fit
efeito<- effect("sg_padrao*EstAno_1Trimestre", fit)
plot(efeito, ylab="25(OH)D concentrations (nmol/L)", xlab="Gestional age (weeks)")
```

**FIGURA 5/ Tabela suplementar 1**
```
m1<-fit<-lmer(vitdativaquest2~sg_padrao*vitdquest2_adequacao+(1+sg_padrao|id), data=dados,
REML=FALSE)
summary(m1)
fit
efeito<- effect("sg_padrao*vitdquest2_adequacao", fit)
plot(efeito, ylab="1,25(OH)D concentrations (pmol/L)", xlab="Gestional age (weeks)"
```

**FIGURA SUPLEMENTAR 2**
```
pwcorr vitdativaquest2 vitdquest2 if trimestre==1 & status==1, sig
pwcorr vitdativaquest2 vitdquest2 if trimestre==2 & status==1, sig
pwcorr vitdativaquest2 vitdquest2 if trimestre==3 & status==1, sig
```

**ARTIGO 2**
*****************SOFTWARE STATA*****************

**TABELA 1**

***variáveis continuas**

```
sum vitdquest2 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

sum vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

sum pontos_epds if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

sum idade if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

sum renda_percapta if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

Sum Intake_vitD_IU3Tfixo if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

sum CALCIUM_fixo3tri if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.
```

**-Students t test**

```
ttest vitdquest2 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., by (epds13cat)

ttest vitdativaquest2 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., by (epds13cat)

ttest pontos_epds if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., by (epds13cat)

ttest idade if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., by (epds13cat)

ttest renda_percapta if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., by (epds13cat)

ttest Intake_vitD_IU3Tfixo if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., by (epds13cat)

ttest CALCIUM_fixo3tri if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1
```

& status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., by (epds13cat)

*Variáveis categóricas
tab m6hist_depre if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab consome_alcool if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab fumo_atual if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab escolaridade_2cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab new_sitconj_cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab Imc_obes if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab faz_ativ_lazer_antes if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab paridade_2cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab desejo_engravidar2cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab Branco_Outr_Negros if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab vitd_cat75 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab vitd_cat50 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab vitd_cat30 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

**-Teste quiquadrado**
tab m6hist_depre if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab consome_alcool if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab escolaridade_2cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab new_sitconj_cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab Imc_obes if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab faz_ativ_lazer_antes if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab paridade_2cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab desejo_engravidar2cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab Branco_Outr_Negros if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

tab vitd_cat75 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row chi2

**-Teste exato de fischer**

tab fumo_atual if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row exact

tab vitd_cat50 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row exact

tab vitd_cat30 if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=., row exact

**FIGURA SUPLEMENTAR 1**

tab epds13cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab epds13cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==2 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

tab epds13cat if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==3 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.

**Cálculo do intervalo de confiança da figura 1**

cii numero total número de observação encontrada, level(95)
cii 179 36, level(95)
cii 156 23, level(95)
cii 128 10, level(95)

**- test de Mcnemar**
tab epds13cat_1tri epds13cat_2tri if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.
mcci 111 13 22 11

tab epds13cat_1tri epds13cat_3tri if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.
mcci 123 7 20 11

tab epds13cat_2tri epds13cat_3tri if sg_padrao~=. & epds13cat~=. & Imc_obes~=. & new_cor_referida_cat~=. & anos_escolaridade~=. & fumo_atual~=. & consome_alcool~=. & idade~=. & m6hist_depre~=. & trimestre==1 & status==1 & m5tratamento_depre~=1 & filtro_ensaio~=. & vitdquest_1tri~=.
mcci 120 8 13 10

**********SOFTWARE R**********
```
dados <- read.dta("banco_completo_longSEMabortos_VitD_hormonios_27-01-16.dta",convert.factors=F)

dim(dados)
head(dados)
names(dados)

###colocando os filtros###
dados<-dados[dados$trimestre!=4,]
dim(dados)
dados<-dados[dados$status==1,]
dim(dados)
dados<-dados[dados$tratdepre_r==2,]
dim(dados)
dados<-dados[!is.na(dados$filtro_ensaio),]
dim(dados)
dados<-dados[!is.na(dados$idade),]
dim(dados)
dados<-dados[!is.na(dados$Imc_obes),]
dim(dados)
dados<-dados[!is.na(dados$new_cor_referida_cat),]
dim(dados)
dados<-dados[!is.na(dados$fumo_atual),]
dim(dados)
dados<-dados[!is.na(dados$consome_alcool),]
dim(dados)
dados<-dados[!is.na(dados$m6hist_depre),]
dim(dados)
dados<-dados[!is.na(dados$ anos_escolaridade),]
dim(dados)
```

```
####colocando as variáveis categóricas#####
dados$epds13cat<-as.factor(dados$epds13cat)
dados$new_cor_referida_cat<-as.factor(dados$new_cor_referida_cat)
dados$consome_alcool<-as.factor(dados$consome_alcool)
dados$fumo_atual<-as.factor(dados$fumo_atual)
dados$m6hist_depre<-as.factor(dados$m6hist_depre)
dados$m6hist_depre<-as.factor(dados$ new_idade_cat1)
```

**TABELA 1**

```
modelo1<-glm(epds13cat~vitdquest_1tri+sg_padrao, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo1)

modelo2<glm(epds13cat~vitdquest_1tri+sg_padrao+new_cor_referida_cat+fumo_atual+consome_alcool+m6his
t_depre+Imc_obes+new_idade_cat1+anos_escolaridade, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo2)

modelo3<-glm(epds13cat~vitdativaquest_1tri+ sg_padrao,, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo3)

modelo4<glm(epds13cat~vitdativaquest_1tri+sg_padrao+new_cor_referida_cat+fumo_atual+consome_alcool+
m6hist_depre+Imc_obes+new_idade_cat1+anos_escolaridade, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo4)
```

**TABELA 2**

```
Modelo5<-glm(epds13cat~vitdquest2 +sg_padrao, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo5)

modelo6<glm(epds13cat~vitdquest2+sg_padrao+new_cor_referida_cat+fumo_atual+consome_alcool+m6hist_d
epre+Imc_obes+new_idade_cat1+anos_escolaridade, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo6)

modelo7<-glm(epds13cat~ vitdativaquest2+ sg_padrao,, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo7)

modelo8<glm(epds13cat~vitdativaquest2+sg_padrao+new_cor_referida_cat+fumo_atual+consome_alcool+m6h
ist_depre+Imc_obes+new_idade_cat1+anos_escolaridade, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo8)
```

**FIGURE 1**

```
Modelo9<-glm(epds13cat~sg_padrao, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo9)
visreg (modelo9, "sg_padrao", scale = "response",
 xlab = "Gestational age (weeks)", ylab = "Probability depressive symptoms")
```

**FIGURE 2**

```
Modelo10<glm(epds13cat~vitdquest_1tri+sg_padrao+new_cor_referida_cat+fumo_atual+consome_alcool+m6h
ist_depre+Imc_obes+new_idade_cat1+anos_escolaridade, data = dados, family = 'binomial')
summary(modelo10)

visreg (modelo10, "vitdquest_1tri", scale = "response",
xlab = "25(OH)D concentrations", ylab = "Probability (depressive symptoms)")
```

**ANEXO 6**

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

RIO PREFEITURA

Comitê de Ética em Pesquisa

Parecer nº 168A/2009

Rio de Janeiro, 10 de agosto de 2009.

Sr(a) Pesquisador(a),

Informamos a V.Sa. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil - CEP SMSDC-RJ, constituído nos Termos da Resolução CNS nº 196/96 e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao Protocolo de Pesquisa, conforme abaixo discriminado:

**Coordenadora:**
Salésia Felipe de Oliveira

**Vice-Coordenadora:**
Suzana Alves da Silva

**Membros:**
Andréa Estevam de Amorim
Alice de C. A. Vinhaes
Bráulio dos Santos Júnior
Carlos Alberto Pereira de Oliveira
Elisete Casotti
José M. Salame
Jucema Fabrício Vieira
Márcia Constância P. A. Gomes
Maria Alice Gunzburger
Mônica Amorim de Oliveira
Nara Saraiva
Pedro Paulo Magalhães Chrispim
Rafael Aron Abitbol
Rondineli Mendes da Silva
Sandra Regina Victor

**Secretárias Executivas:**
Carla Costa Vianna
Renata Guedes Ferreira

**PROTOCOLO DE PESQUISA Nº 121/09**
**CAAE: 0139.0.314.000-09**

**TÍTULO:** Saúde mental e estado nutricional na gestação e no pós-parto: estudo prospectivo com ensaio clínico randomizado aninhado.

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Gilberto Kac.

**UNIDADE (S) ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA:** CMS Heitor Beltrão.

**DATA DA APRECIAÇÃO:** 13/08/2009.

**PARECER: APROVADO.**

Ressaltamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (*item VII. 13.d., da Resolução CNS/MS Nº 196/96).*

Esclarecemos, ainda, com relação aos Protocolos, que o CEP/SMSDC deverá ser informado de fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo, devendo o pesquisador apresentar justificativa, caso o projeto venha a ser interrompido e/ou os resultados não sejam publicados.

**Salésia Felipe de Oliveira**
**Coordenadora**
**Comitê de Ética em Pesquisa**

Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil
Rua Afonso Cavalcanti, 455 sala 715 – Cidade Nova – Rio de Janeiro
CEP: 20211-901
E-mail: cepsms@rio.rj.gov.br - Site: www.saude.rio.rj.gov.br/cep

FWA nº: 00010761
IRB nº: 00005577

# ANEXO 7

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE DO BRASIL
UFRJ

# TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAR DA PESQUISA

**"Estado nutricional e saúde mental na gestação e no pós-parto: Estudo prospectivo com ensaio clínico randomizado"**

Você está sendo convidada a fazer parte de uma pesquisa que tem por objetivo entender melhor a relação entre a alimentação e a ocorrência de problemas como a ansiedade e o estresse durante a gestação e após o parto. Neste estudo, também avaliaremos se o ômega-3 (um composto natural presente em vários alimentos, como peixes e alguns vegetais) protege as gestantes de tais problemas.

Você não é obrigada a participar e, mesmo aceitando fazer parte do estudo, poderá desistir e retirar o seu consentimento a qualquer momento. Sua recusa em participar do estudo não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador, com o seu médico ou com a maternidade; ou seja, você poderá seguir normalmente com o seu atendimento nesta unidade de saúde.

**Como irei participar?**

Você fará uma avaliação completa e detalhada sobre sua saúde. No total, você terá 4 consultas com nossa equipe: 4 durante o pré-natal (com **até 13 semanas**, na **24ª** e **36ª semanas**) e uma de **30 a 45 dias após o nascimento de seu filho**. **Todas estas consultas serão preferencialmente marcadas em dias em que você já tenha que vir ao hospital.** O tempo aproximado destas consultas é de 45 minutos.

Durante as consultas, você irá **responder a perguntas e preencher questionários** para obtermos informações como: sua identificação (endereço e telefone), dados demográficos (nome, estado civil, idade), situação social e econômica, história obstétrica, uso de álcool, fumo e outras drogas, violência familiar, estresse e ansiedade, atividade física e como você se alimenta. Em todas as 5 consultas iremos também avaliar seu peso e altura e coletar amostras de sangue para avaliarmos o açúcar, gorduras, colesterol e níveis de hormônios.

Além disso, em cada consulta, deixaremos com você dois aparelhos por um período de **24 horas (1 dia)**: um chamado de "frequencímetro polar" que mede a freqüência cardíaca (batimentos do coração) e o outro "pedômetro" que conta o número de passos que você dará durante este dia. No dia seguinte, um pesquisador do projeto irá até a sua casa recolher esses equipamentos, **não sendo necessário, portanto, que você retorne ao hospital apenas para devolvê-los**.

A partir da **18ª semana** de gestação, um grupo de mulheres que estiverem participando do estudo serão convidadas a integrar uma parte diferente do estudo e serão orientadas a fazer uso de um suplemento na forma de cápsulas, contendo **ômega-3.** Se você fizer parte deste grupo, você deverá fazer uso de **5-6 cápsulas por dia** junto das refeições (almoço), todos os dias **até 30 dias após o parto**. Você não precisará comprar ou pagar por este suplemento, ou seja, **você vai recebê-lo de graça**.

**É importante você saber que esta suplementação é composta unicamente de óleo de peixes marinhos,** porém sem qualquer sabor ou cheiro característico de peixe. Além do óleo, o outro ingrediente presente é uma pequena quantidade de vitamina E. **O uso desta suplementação durante a gestação não traz nenhum risco ou efeito colateral para a sua saúde e a do bebê.** No entanto, já foram relatados a **ocorrência passageira** de diarréia, regurgitação e refluxo. Consumir o óleo na forma de cápsula torna apenas mais prático.

Todas as informações que você fornecer serão mantidas em segredo e utilizadas apenas para a pesquisa. Nenhuma outra pessoa ou profissional terá acesso a suas informações, somente os pesquisadores que trabalham para esta pesquisa. Quando divulgarmos os resultados deste trabalho, **seu**

**nome em momento algum irá aparecer**, bem como qualquer outra informação fornecida, ou resultado de exame de sangue. Portanto, **não há riscos em participar desta pesquisa,** apenas a necessidade de coletar sangue e o tempo que você irá gastar com as avaliações durante as consultas. Por ocasião da coleta de sangue, você poderá observar a formação pequeno hematoma na região do braço onde ocorreu a picada da agulha. **Sempre usaremos materiais descartáveis**.

**Quais as vantagens?**

Ao participar deste estudo, você terá a **oportunidade de realizar uma avaliação mais completa e detalhada da sua saúde**. O acompanhamento de seus hábitos durante a gestação, como o seu ganho de peso e sua alimentação, são medidas importantes para garantir a saúde do seu bebê ao nascer. Este acompanhamento também é importante para que você tenha uma vida mais saudável, prevenindo problemas futuros como a obesidade, ansiedade e depressão. **Você terá acesso a todos os seus resultados se assim desejar**.

Este termo de consentimento é um documento importante e você irá receber uma cópia na qual consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, **podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento**.

**Meu consentimento:**

Minha participação é de livre e espontânea vontade, ou seja, não fui pressionada por ninguém para participar desta pesquisa. Tenho liberdade para continuar ou recusar, em qualquer momento, a participar da pesquisa. O meu atendimento e de meu(minha) filho(a), nesta maternidade não será, em momento algum, afetado pela minha recusa. Desta forma, concordo em participar deste estudo estando totalmente esclarecida dos objetivos, riscos e benefícios desta pesquisa, uma vez que tive em mãos este documento e a oportunidade de lê-lo antes de assinar.

_____ data

Nome e assinatura do pesquisador

_____

Nome do sujeito da pesquisa

_____ data

Assinatura do sujeito da pesquisa

**Contato do coordenador da pesquisa:**

**Professor Dr. Gilberto Kac**

**Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ**

**Telefones: 25626595 / 93152301**

**E-mail: kacetal@gmail.com**

**Juliana dos Santos Vaz**

**Nutricionista, doutoranda UFRJ**

**Telefones: 25626595 / 94012077**

**E-mail: juliana.vaz@gmail.com**

**Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil / Comitê de Ética em PesquisaRua Afonso Cavalcanti, 455 Bloco 1 - Sala 715**

**Email: cepsms@rio.rj.gov.br**