

Comparison of Serum Levels of Vitamin D in Pregnant Women with Preeclampsia or Eclampsia Syndrome with Healthy Subjects

Mansour Karajibani^{1*}, Fatemeh Esmaili Ranjbar², Hadi Eslahi³, Farzaneh Montazerifar⁴, Alireza Dashipoor⁵

1. Professor, Department of Nutrition, Health Promotion Research Center, School of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.
2. General medicine, Department of Nutrition, School of Medicine. Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.
3. MSc, Department of Nutrition, School of Medicine. Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.
4. Professor, Department of Nutrition, Pregnancy Health Research Center, School of medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.
5. Associate Professor, Department of Food Science, Cellular and Molecular Research Center, School of medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

Received: 2021/05/28

Accepted: 2021/10/06

Abstract

Introduction: Preeclampsia and eclampsia are pregnancy specific syndromes. Vitamin D is one of the pathological factors of this syndrome. The aim of this study was to compare the serum levels of vitamin D in pregnant women with preeclampsia or eclampsia with healthy pregnant women.

Materials and Methods: In a cross-sectional, descriptive and analytical study, 50 pregnant women with preeclampsia or eclampsia and 50 healthy individuals were selected based on inclusion and exclusion criteria, and after taking blood sampling, serum vitamin D levels were measured using a commercial kit and ELISA. Statistical analysis was done by SPSS: 20. $P < 0.05$ was considered as significant difference.

Results: The mean serum vitamin D in pregnant women with preeclampsia or eclampsia was lower than the healthy group ($P = 0.002$). Also, 38% and 2% of pregnant women with preeclampsia or eclampsia and healthy had severe vitamin D deficiency. Vitamin D deficiency was more common in pregnant women over 30 years of age and BMI over 25, education less than a diploma, a housewife, and a gestational age of less than 34 weeks.

Conclusion: The results indicate that most pregnant women with preeclampsia and eclampsia syndrome are deficient in vitamin D, which affect in the development of preeclampsia or eclampsia. Therefore, timely screening and treatment of vitamin D deficiency can probably prevent preeclampsia or eclampsia and promote the quality of pregnancy.

***Corresponding Author:** Mansour karajibani

Address: Department of Nutrition, Medical school, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

Tel: 0915 341 4358

E-mail: mkarajibani@yahoo.com

Keywords: Eclampsia, preeclampsia, Pregnancy, vitamin D

How to cite this article: Karajibani M., Esmaili Ranjbar F., Eslahi H., Montazerifar F., Dashipoor A. Comparison of Serum Levels of Vitamin D in Pregnant Women with Preeclampsia or Eclampsia Syndrome with Healthy Subjects, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2022; 29(3):393-405.

Introduction

Preeclampsia is a multi-factor pregnancy disorder which is represented as edema, hypertension and Proteinuria and has an important role in mother, embryo and infant mortality. This syndrome is observed in 1.5 to 5% of pregnancies. Most pregnant women had some histories of Pre-eclampsia, although in some cases Eclampsia appears without risk factors. On the other hand, pathogenesis of Preeclampsia has not been well specified. The factors which may increase Preeclampsia prevalence include obesity, diabetes, renal chronic diseases, chronic hypertension before pregnancy, immune disorders, family Preeclampsia history, and twin or multiple pregnancy and Preeclampsia personal history. Preeclampsia is along with high risk of Premature birth, intrauterine growth restriction, Placental abruption and prenatal mortality along with mother's morbidity and mortality. Occurrence of seizures in pregnant women with Preeclampsia without known reasons is identified as eclampsia. Vitamin D is an important nutrient for human health which has been effective in calcium balance and bone metabolism, immune system balance and also adjusting mechanisms of inflammatory response of pregnant woman which is important in stability of natural pregnancy.

Sufficient concentration of vitamin D in pregnancy is required for obviating the increasing need of calcium by embryo during its growth. Several studies have considered vitamin D deficiency as the reason of Preeclampsia so that by progress of pregnancy, the need of vitamin D is increases.

Meta-analyses and systematic studies indicate that reduction of 25-hydroxy vitamin D serum level of pregnant women is accompanied with the risk of Preeclampsia. Presumably, vitamin D deficiency may be discussed as the risk factor of Preeclampsia incidence. Some studies confirmed that high vitamin D serum level in early pregnancy has a protective effect against Preeclampsia, while other studies showed that this protective effectiveness is performed in mid or late pregnancy. Some studies reported the possible changes of vitamin D in pregnant women with Preeclampsia while other studies couldn't show such relation and there is a challenge in the findings and Preeclampsia being multi-factorial. For example, receiving vitamin D supplement was accompanied with increase of serum vitamin D level and infant's birth weight, but the rate of Preeclampsia incidence didn't have a considerable change. In contrast, in another study, vitamin D deficiency was prevalent in a group of pregnant women with Preeclampsia but its hasn't been dangerous in the above period regarding undesirable consequences. Regarding the findings inconsistency, at present there is no agreement for consuming vitamin D supplement in pregnancy for preventing Preeclampsia. Considering the above

points, this study was designed with the aim of comparing vitamin D serum level in pregnant women with Preeclampsia or Eclampsia with healthy women referring Ali Ebn Abitaleb Hospital in Zahedan City.

Materials and Methods

In a cross-sectional, descriptive –analytical study in 2019, 50 pregnant women with Preeclampsia or Preeclampsia syndrome and also 50 healthy pregnant women referring Obstetrics and Gynecology Clinic of Ali Ebn Abitaleb Hospital were selected with convenient accessible method to complete the sample content in two groups of experimental and control among people referring to Obstetrics and Gynecology Clinic of the hospital based on the specialist's physician diagnosis.

The sample content was calculated based on the results of Ghomian et.al study using sample content formula for comparing the averages which was reported regarding the average and standard deviation of vitamin D in pregnant women with Preeclampsia equal to 3.32 ± 5.5 and in the control group 8.02 ± 4.81 (mg/dL) and the study confidence of 95% and type 1 error of 95% equal to at least 48 people in each group and was totally estimated 95 which was selected for preventing possible loss, the sample content in each group was selected 50 persons.

Regarding the research objectives and gaining informed consent of the selected samples, participation in the study by the pregnant women was voluntary and there was no force for cooperation. If the studied samples didn't tend to continue cooperation, they exited the study. Moreover, a specialist physician had continuously supervised the process of study. Meanwhile, all data was extracted and analyzed as coded and inclusive.

The inclusion criteria included age less than 35, single pregnancy, age of pregnancy more than 26 weeks, with increased systolic blood pressure ≥ 160 or diastolic ≥ 110 millimeter of mercury, protein exertion in urine $\geq +2$ or 24-hour protein more than 2 g, serum creatinine more than 1.2 mg/dL. The exclusion criteria included multiple pregnancy, chronic hypertension, diabetes before pregnancy, renal disease, Lupus, consuming vitamin D supplements, suffering malabsorption and hypoparathyroidism and age more than 40.

Based on the study's objectives, sampling of the studied subjects was performed simultaneously after homogenization in respect of gestational age in two groups. Pregnant women of Preeclampsia and Eclampsia group were selected from the patients hospitalized in the obstetrics and gynecology department. The control group was selected among pregnant women referring obstetrics and gynecology

clinic who were followed up till the end of pregnancy and if any evidence of Preeclampsia and Eclampsia were observed in them based on the physician's diagnosis, they were excluded from the study. Meanwhile, a questionnaire was registered for each individual in two groups based on demographic information including age, occupation, educational level, BMI, gestational age and the number of pregnancies in the studied groups. Then, in equal conditions in both groups, 3 ml fasting blood was taken of them and after centrifuge their serum was separated and was kept in coded micro-tubes for performing tests and was maintained for a limited term in refrigerator in -20 degrees. Serum vitamin D was measured with commercial kit (Mon Band Company Kit, USA) and was performed with ELISA

method. This study was approved in the ethics committee of Zahedan University of Medical Sciences with code IR.ZAUMS.REC.1398.045. Data analysis was done using SPSS: 22 software as descriptive statistics of percentage, mean and standard deviation and variables range of variations and for investigation of the intergroup difference t-test was used and the relation between various qualitative variables was performed using chi square test and for quantitative variables Pearson correlation test was used. The statistical significance level of $P < 0.05$ was considered.

Findings

General features of the studied groups are shown in table 1.

Table 1. Mean and standard deviation of age, BMI and gestational age in the studied groups

variable	groups	number	mean	standard deviation	P-value
age (year)	Preeclampsia and Eclampsia	50	26.92	5.287	0.658
	healthy	50	27.40	5.303	
BMI (Kg/m ²)	Preeclampsia and Eclampsia	50	26.17	3.886	0.089
	healthy	50	24.84	3.863	
gestational age (week)	Preeclampsia and Eclampsia	50	32.34	2.987	0.759
	healthy	50	32.62	3.194	

As it is seen, based on general indicators of age, BMI and gestational age, no significant difference was observed between two groups ($P < 0.05$).

Also, based on other features of the studied subjects like level of education, mean of number of

pregnancies and deliveries no significant statistical difference was observed in two groups ($P > 0.05$) (it is not presented).

Table 2. Frequency distribution of various levels of serum vitamin D (ng/ml) in the studied groups

groups serum vitamin D (ng/ml)	Preeclampsia and Eclampsia	healthy	total	P-value	
<20 deficiency	No.	19	1	20	$P < 0.001$
	percent	38%	2%	20%	
20-30 insufficient	No.	22	39	61	
	percent	44%	78%	61%	
>30 normal	No.	9	10	19	
	percent	18%	20%	19%	
total	No.	50	50	50	
	percent	100%	100%	100%	

As observed in the above table, the frequency of severe vitamin D deficiency in the pregnant women with Preeclampsia and Eclampsia is significantly

more than the healthy group 19(38%) versus 1(2%) ($P < 0.001$). (Table 2)

Table 3. Mean and standard deviation of serum vitamin D (ng/ml) in the studied groups

variable	groups	mean	standard deviation	P-value
<20 deficiency	Preeclampsia and Eclampsia	8.42	5.39	<0.001
	healthy	15.40	2.58	
20-30 insufficient	Preeclampsia and Eclampsia	22.65	2.10	0.18
	healthy	24.08	2.99	
>30 normal	Preeclampsia and Eclampsia	48.61	50.67	0.8
	healthy	32.6	30.90	
total	Preeclampsia and Eclampsia	2.8	1.7	
	healthy	2.6	1.6	

As it is seen, there was a significant difference in two groups of pregnant women with Preeclampsia and Eclampsia and healthy pregnant women who had vitamin D deficiency ($P < 0.001$), but this difference was not significant in the vitamin D levels of insufficient and normal between two groups ($P > 0.05$) (table 3)

Also, the frequency distribution of various serum vitamin D rates is shown as normal, relative and severe deficiency in two groups of pregnant women with Preeclampsia and Eclampsia and health women (figure 1)

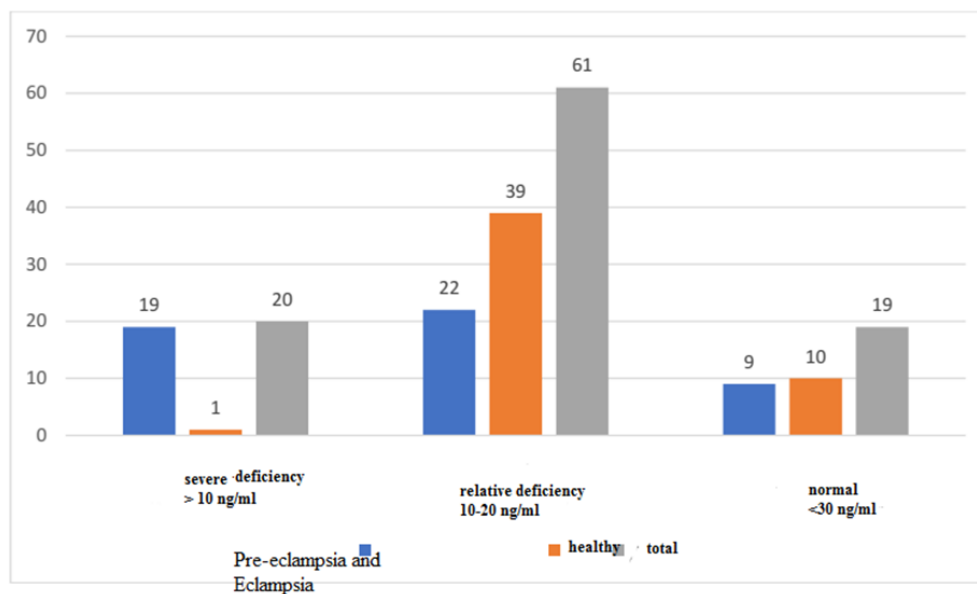


Figure 1. Frequency diagram of various levels of serum vitamin D (ng/ml) in the studied groups

Frequency of vitamin D deficiency based on the above categorization in the group of women with Preeclampsia and Eclampsia was significantly more than healthy group ($P < 0.001$).

The study showed that there was a significant and positive correlation between BMI and serum vitamin D in healthy pregnant women ($r = 0.34$, $P = 0.01$)

Discussion

The present study's findings showed that vitamin D average level in people with Preeclampsia and Eclampsia was significantly less than healthy group so that severe deficiency of vitamin D in pregnant women with Preeclampsia and Eclampsia was significantly more than healthy women and this

reduction in pregnant women older than 30 years old, with education less than diploma, housewife and with BMI more than 25 kg/m² and without history of abortion and with gestational age less than 34 weeks was significantly higher. In Shahid S et.al study a significant relation was observed between vitamin D deficiency and Preeclampsia incidence which was consistent with the findings of the present study and no relation was observed between BMI and Preeclampsia incidence which was inconsistent with

our findings. Also, there was a reverse relation between the level of educations and Preeclampsia incidence which was consistent with the present study's findings.

On the other hand, regarding the region's conditions and food insecurity, a majority of susceptible groups in the studied population suffer vitamin D deficiency.

It seems that in such studies greater sample content is required for evaluations to determine more accurate levels of vitamin D. Also, it was reported that vitamin D deficiency in week 23-28 of pregnancy is accompanied with the risk of severe Preeclampsia. In the study of Rezaei et.al which was conducted with the aim of comparing vitamin D serum level in pregnant women with Preeclampsia and Eclampsia and healthy pregnant women, it was observed that there was a vitamin D deficiency in 80% of experimental group and 75% of healthy group. Also, vitamin D deficiency in older ages and in housewife women had a significant increase which was consistent with the findings of the present study. In another study, two groups of Preeclampsia or Eclampsia and healthy had a significant difference in vitamin D level mean and pregnant women with higher MBI and abortion history had a significant reduction in serum vitamin D and like the findings of the present study severe deficiency of vitamin D was significantly observed in the experimental group. Though the vitamin D level in the mentioned study was less than the present study, but the obtained findings was completely consistent with the findings of our study. But in a finding of this study where the problem of abortion was discussed, it was inconsistent with our findings since in our study, in the women with abortion history vitamin D levels still had a significant reduction, though this vitamin D reduction was insignificant in the group with abortion history. It seems that the reason of this difference in the above findings may be due to low content of the studied samples, difference in demographic indicators, inclusion and exclusion criteria, sampling method and difference in controlling the effecting of disturbing variables in the studied population and requires more study. On the other hand, in the present study the average number of abortions in pregnant women with Preeclampsia or Eclampsia was significantly more than healthy group: 0.3 ± 0.58 versus 0.1 ± 0.36 ($P < 0.02$).

Given the possibility of vitamin D deficiency effect in creating Pre-Eclampsia, the time of Preeclampsia creation may be affected by the gestational age, for example in a study the risk of

Preeclampsia incidence in weeks 12-18 and 24-26 of pregnancy due to vitamin D deficiency has been pointed out. Low levels of vitamin D (OH) 25 in the late second trimester of pregnancy has been related to the increasing risk of Preeclampsia so that a significant relation was observed between serum D level (OH) 25 mother plasma in the week 24-26 of pregnancy with the risk of creating Pre-Eclampsia, though this relation has not been significant in weeks 12-18 of pregnancy. Findings of the present study showed that in the gestational ages less than 34 weeks, the difference in vitamin D level in pregnant women with Preeclampsia comparing control group had a significant reduction. On the other hand, it was reported that vitamin D reduction in the middle pregnancy less than 50 nano mol/ Liter causes four times increase of the risk of severe Preeclampsia comparing control group. So based on the findings of the above study and the present research, vitamin D level deficiency in low gestational age is related to the risk of more Preeclampsia incidence in women. Though in the present study both age groups younger and older than 30 years had serum vitamin D rates less than healthy people but comparing to standard have had an acceptable rate, also it has been reported that vitamin D level in the first trimester of pregnancy is not related to Preeclampsia.

Yet, it has been reported that the rate of Preeclampsia incidence in pregnant women with sufficient vitamin D rate in the first and third trimesters was considerably less which indicates their non-susceptibility against the above syndrome, though it requires other clinical, physiologic and nutritional evaluations.

Findings of the present study showed that vitamin D mean level in people with Preeclampsia and gestational age less than 34 weeks was significantly less than healthy group which requires more study. But vitamin D prescription may be probably emphasized in perverting Pre-eclampsia, regarding that in the state protocol receiving 500 mg Calcitriol (vitamin D3) is daily recommended in all susceptible groups.

Conclusion

The results indicate that most pregnant women with Preeclampsia and Eclampsia syndrome had vitamin D deficiency which is effective in incidence of Preeclampsia or Eclampsia in pregnancy. It seems that effective screening and timely treatment of vitamin D efficiency may prevent Preeclampsia and Eclampsia to some extent and increase the pregnancy quality. Also, other demographic features of pregnant

women like high ages, less education, high BMI and gestational age relating to reduction of serum vitamin D should be noticed. Limitations of this study include reduction of samples content, increasing of tests costs, non-monitoring of vitamin D serum level in various months of pregnancy which requires complementary monitoring and evaluations.

Acknowledgement

This study was approved with financial support of vice-chancellor for research and technology of Zahedan University of Medical Sciences with research plan No. 9246 dated 05.05.2019. The authors

of this paper appreciate the vice-chancellor for research and technology of Zahedan University and gynecologists' team and all healthy and ill pregnant women who voluntarily cooperated in implementation of this research.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

مقایسه سطح سرمی ویتامین D در خانم‌های باردار مبتلا به پره اکلامپسی و اکلامپسی با زنان باردار سالم

منصور کرجی بانی^{۱*}، فاطمه اسماعیلی رنجبر^۲، هادی اصلاحی^۳، فرزانه منتظری^۴، علیرضا دانشی پور^۵

۱. استاد، گروه تغذیه، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران
۲. پزشک عمومی، گروه تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران
۳. کارشناسی ارشد، گروه تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران
۴. استاد، گروه تغذیه، مرکز تحقیقات بارداری دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران
۵. دانشیار، گروه صنایع غذایی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۷

چکیده

زمینه و هدف: پره اکلامپسی و اکلامپسی، سندرم اختصاصی بارداری است. ویتامین D به‌عنوان یکی از عوامل آسیب‌شناسی این سندرم می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف مقایسه سطح سرمی ویتامین D در خانم‌های باردار مبتلا به پره اکلامپسی یا اکلامپسی با زنان باردار سالم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه مقطعی، توصیفی و تحلیلی ۵۰ خانم باردار مبتلا به پره اکلامپسی یا اکلامپسی و ۵۰ فرد سالم براساس معیارهای ورود و خروج مطالعه انتخاب و پس از اخذ خون مقدار ویتامین D سرم با استفاده از کیت تجاری و به روش ایزا اندازه‌گیری شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS ۲۰ استفاده شد و $P < 0.05$ تفاوت معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میانگین ویتامین D سرم در خانم‌های باردار پره اکلامپسی یا اکلامپسی کمتر از گروه سالم بود ($P=0/002$). همچنین ۳۸ درصد و ۲ درصد زنان باردار مبتلا به پره اکلامپسی یا اکلامپسی و سالم دارای کمبود شدید مقدار ویتامین D بودند. کمبود ویتامین D در خانم‌های باردار با سن بیشتر از ۳۰ و BMI بیشتر از ۲۵، تحصیلات کمتر از دیپلم، خانه دار و سن بارداری کمتر از ۳۴ هفته بیشتر وجود داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از آن است بیشتر خانم‌های باردار مبتلا به سندرم پره اکلامپسی و اکلامپسی کمبود ویتامین D داشته که در بروز پره اکلامپسی یا اکلامپسی تأثیرگذار می‌باشد. از این رو غربالگری و درمان به‌موقع کمبود ویتامین D می‌تواند احتمالاً از بروز پره اکلامپسی یا اکلامپسی پیشگیری کند و کیفیت بارداری را افزایش دهد.

* نویسنده مسئول: منصور

کرجی بانی

نشانی: مرکز تحقیقات ارتقای سلامت دانشگاه علوم پزشکی زاهدان و مرکز تحقیقات بارداری دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
تلفن: ۰۹۱۵۳۴۱۴۳۵۸

رایانامه: mkarajibani@yahoo.com

شناسه ORCID:

0000-0002-9032-9330

شناسه ORCID نویسنده اول:

0000-0002-9032-9330

کلیدواژه‌ها:

بارداری، پره اکلامپسی، اکلامپسی، ویتامین D

۱. مقدمه

دارای سوابقی مبنی بر ابتلا به پره اکلامپسی بوده‌اند اگرچه در برخی موارد اکلامپسی بدون نشانه‌های خطر بروز می‌کند. از سویی پاتوژنز پره اکلامپسی به‌خوبی مشخص نشده است [۳]. عواملی که ممکن است وقوع پره اکلامپسی را افزایش دهند شامل چاقی، دیابت، بیماری‌های مزمن کلیه، فشار خون مزمن قبل از بارداری، اختلالات ایمنی، سابقه خانوادگی پره اکلامپسی، بارداری دوقلو یا

پره اکلامپسی یک اختلال بارداری چند عاملی می‌باشد که به شکل تورم، فشار خون بالا و پروتئینوری نمایان می‌شود و نقش مهمی در مرگ‌ومیر مادر، جنین و نوزاد دارد [۱]. این سندرم در ۱/۵ تا ۵ درصد از بارداری‌ها مشاهده می‌شود [۲]. بیشتر خانم‌های باردار

۲. مواد و روش

در یک مطالعه مقطعی، توصیفی-تحلیلی در سال ۱۳۹۸ تعداد ۵۰ خانم های باردار مبتلا به سندرم پره اکلیمپسی یا اکلیمپسی و همچنین ۵۰ خانم باردار سالم مراجعه کننده به کلینیک زنان و زایمان بیمارستان علی ابن ابی طالب (ع) به شکل در دسترس آسان تا کامل شدن حجم نمونه در دو گروه مورد و شاهد از بین افراد مراجعه کننده به بخش زنان و زایمان بیمارستان براساس تشخیص پزشک متخصص انتخاب شدند.

حجم نمونه براساس نتایج مطالعه قمیان و همکاران [۱۷] با استفاده از فرمول حجم نمونه برای مقایسه میانگین ها محاسبه شد که با توجه به میانگین و انحراف معیار ویتامین دی در خانم های باردار مبتلا به پره اکلیمپسی برابر $3/32 \pm 5/5$ و در گروه شاهد $4/81 \pm 8/02$ (میلی گرم بر دسی لیتر) گزارش شده بود و توان مطالعه ۹۵ درصد و خطای نوع یک ۹۵ درصد برابر با حداقل ۴۸ نفر در هر گروه و در مجموع ۹۶ نفر برآورد شد که به منظور پیشگیری از افت احتمالی، حجم نمونه در هر گروه ۵۰ نفر انتخاب شدند.

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 (S_1^2 + S_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

با توجه به اهداف تحقیق و جلب رضایت آگاهانه نمونه های انتخابی، شرکت در تحقیق از سوی خانم های باردار به شکل اختیاری بوده و هیچ گونه اجباری برای همکاری وجود نداشته است. چنانچه نمونه های مورد مطالعه هرگاه تمایل به ادامه همکاری نداشته باشند می توانند از مطالعه خارج شوند. پزشک متخصص نیز همواره بر اجرای روند مطالعه نظارت مستمر داشت. همچنین کلیه داده ها به شکل کددار و سرجمع استخراج و تجزیه و تحلیل شد.

معیارهای ورود به مطالعه شامل سن کمتر از ۳۵ سال، حاملگی تکقلویی، سن بارداری بیشتر از ۲۶ هفته که با افزایش فشارخون سیستولی بیشتر مساوی ۱۶۰ یا دیاستولی بیشتر مساوی ۱۱۰ میلی متر جیوه، دفع پروتئین از طریق ادرار بیشتر یا مساوی ۲+ یا پروتئین ۲۴ ساعته بیشتر از ۲ گرم، دفع کراتینین سرم بیشتر از ۱/۲ میلی گرم بر دسی لیتر بوده است. معیارهای خروج از مطالعه شامل حاملگی چندقلویی، هیپرتانسیون مزمن، دیابت قبل از بارداری، بیماری کلیوی، لوپوس، مصرف مکمل های ویتامین D، ابتلا به سوء جذب و هیپوپاراتیروئیدسم و سن بالاتر از ۴۰ سال بود.

براساس اهداف تحقیق، افراد مورد مطالعه به طور هم زمان پس از هم سان سازی از نظر سن بارداری نمونه گیری در دو گروه انجام

چندقلو و سابقه شخصی پره اکلیمپسی می باشند [۴]. پره اکلیمپسی با خطرات بالای زایمان زودرس، محدودیت رشد داخل رحمی، جدا شدن جفت و مرگ و میر پری ناتال همراه با بیماری و مرگ مادر همراه است [۸-۵].

وقوع حملات تشنج در زنان باردار مبتلا به پره اکلیمپسی بدون علت شناخته شده به عنوان اکلیمپسی شناخته می شود [۹]. ویتامین D یک ماده مغذی مهم برای سلامت انسان می باشد که در تعادل کلسیم و متابولیسم استخوان، تعادل سیستم ایمنی و همچنین تنظیم مکانیسم های پاسخ التهابی زن باردار تأثیر گذار می باشد که در ثبات بارداری طبیعی مهم است [۱۲-۱۰].

غلظت ویتامین D کافی در دوران بارداری برای رفع نیاز روزافزون به کلسیم توسط جنین در طول رشد و نمو آن لازم است [۱۳]. مطالعات متعدد یکی از علل بروز پره اکلیمپسی را کمبود ویتامین D برشمرده اند به نحوی که با پیشرفت بارداری نیاز به ویتامین D افزایش می باید [۱۴، ۱۵].

مطالعات متاآنالیز و بررسی های سیستماتیک حاکی از آن است که کاهش سطح سرمی ۲۵-هیدروکسی ویتامین D سرم خانم های باردار با افزایش خطر ابتلا به پره اکلیمپسی همراه است. احتمالاً کمبود ویتامین D می تواند به عنوان عامل خطر برای بروز پره اکلیمپسی مطرح شود [۱۶، ۱۷]. برخی از مطالعات تأیید کردند که سطح سرمی بالای ویتامین D در اوایل بارداری در مقابل پره اکلیمپسی اثر محافظتی دارد. در حالی که مطالعات دیگر نشان داد این اثر بخشی محافظتی در اواسط یا اواخر بارداری انجام می شود [۱۸، ۱۹]. برخی از مطالعات حاکی از تغییرات احتمالی ویتامین D در خون زنان باردار مبتلا را گزارش کرده اند، در حالی که پژوهش های دیگر نتوانسته اند چنین ارتباطی را نشان دهند و معضلی در یافته ها و مولتی فاکتوریال بودن پره اکلیمپسی وجود دارد. برای مثال دریافت مکمل ویتامین D با افزایش سطح ویتامین D سرمی و وزن هنگام تولد نوزاد همراه بود اما میزان بروز پره اکلیمپسی تغییر قابل توجهی نداشت، بالعکس در مطالعه دیگر، کمبود ویتامین D در گروهی از زنان باردار مبتلا به پره اکلیمپسی شایع بود اما خطر ساز به دلیل پیامد نامطلوب در دوران فوق نبود [۲۰، ۲۱]. با توجه به متناقض بودن یافته ها، در حال حاضر توافقی برای مصرف مکمل ویتامین D در دوران بارداری در زمینه پیشگیری از پره اکلیمپسی وجود ندارد [۲۲]. با توجه به نکات فوق، این پژوهش با هدف مقایسه سطح سرمی ویتامین D در خانم های باردار مبتلا به پره اکلیمپسی یا اکلیمپسی با زنان باردار سالم مراجعه کننده به بیمارستان علی ابن ابیطالب (ع) در شهر زاهدان طراحی شد.

شد. زنان باردار گروه پره اکلامپسی یا اکلامپسی از بیماران بستری در بخش زنان و زایمان بیمارستان انتخاب شدند. گروه شاهد نیز از خانم‌های باردار مراجعه‌کننده به کلینیک زنان بیمارستان انتخاب شدند که تا پایان بارداری پیگیری شدند و در صورتی که شواهدی مبنی بر پره اکلامپسی یا اکلامپسی در آنها براساس تشخیص پزشک مشاهده می‌گردید از مطالعه حذف می‌شدند. همچنین پرسش‌نامه برای هر فرد در دو گروه به تفکیک اطلاعات دموگرافیک شامل سن، شغل، سطح تحصیلات، شاخص توده بدن (BMI)، سن بارداری و تعداد بارداری در گروه‌های مورد مطالعه ثبت گردید. سپس در شرایط یکسان در هر دو گروه ۳ میلی‌لیتر خون به صورت ناشتا از آنان اخذ و پس از سانتریفیوژ کردن، سرم آنها جدا گردید و برای انجام آزمایش‌ها در لوله‌های میکروتیوب به شکل کددار نگهداری و در فریزر ۲۰- درجه برای مدت محدود نگهداری شد. اندازه‌گیری ویتامین D سرم با کیت تجاری (Mono Band)

Company Kit, USA. و به روش ELISA انجام شد. این تحقیق در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به کد IR.ZAUMS.REC.1398.045 مصوب گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS: 22 به شکل آمار توصیفی از درصد، میانگین و انحراف معیار و دامنه تغییرات متغیرها استفاده شد و به منظور بررسی تفاوت بین گروهی از آزمون t-test و بررسی ارتباط بین متغیرهای کیفی مختلف از آزمون کای دو و متغیرهای کمی از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معنی‌داری آماری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

۳. یافته‌ها

ویژگی‌های عمومی گروه‌های مورد بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار سن، BMI و سن بارداری در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	گروه‌ها	تعداد	میانگین	انحراف معیار	P-value
سن (سال)	پره اکلامپسی و اکلامپسی	۵۰	۲۶.۹۲	۵.۲۸۷	۰.۶۵۸
	سالم	۵۰	۲۷.۴۰	۵.۳۰۳	
BMI (Kg/m ²)	پره اکلامپسی و اکلامپسی	۵۰	۲۶.۱۷	۳.۸۸۶	۰.۰۸۹
	سالم	۵۰	۲۴.۸۴	۳.۸۶۳	
سن بارداری (هفته)	پره اکلامپسی و اکلامپسی	۵۰	۳۲.۳۴	۲.۹۸۷	۰.۷۵۹
	سالم	۵۰	۳۲.۶۲	۳.۱۹۴	

همچنین براساس سایر ویژگی‌های افراد مورد مطالعه مانند سطح تحصیلات، میانگین تعداد بارداری‌ها و زایمان در دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (نمایش داده نشده است).

همان‌طوری که مشاهده می‌شود براساس شاخص‌های عمومی سن، BMI و سن بارداری بین دو گروه، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

جدول ۲. توزیع فراوانی سطوح مختلف ویتامین D سرم (ng/ml) در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	پره اکلامپسی و اکلامپسی	سالم	کل	P-value
ویتامین D سرم (ng/ml)				
< ۲۰	تعداد ۱۹	۱	۲۰	$P < 0.001$
کمبود	درصد ۳۸٪	۲٪	۲۰٪	
۲۰- ۳۰	تعداد ۲۲	۳۹	۶۱	ناکافی
	درصد ۴۴٪	۷۸٪	۶۱٪	
> ۳۰	تعداد ۹	۱۰	۱۹	طبیعی
	درصد ۱۸٪	۲۰٪	۱۹٪	
کل	تعداد ۵۰	۵۰	۱۰۰	درصد
	درصد ۱۰۰٪	۱۰۰٪	۱۰۰٪	

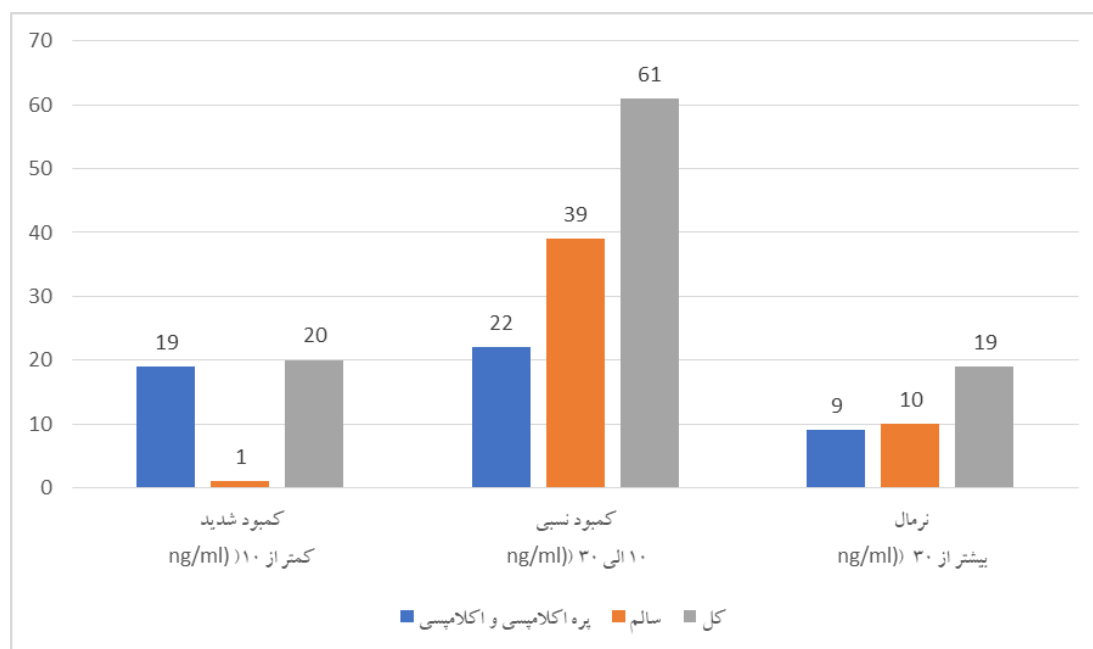
همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود فراوانی کمبود شدید ویتامین D در گروه زنان باردار مبتلا به پره اکلامپسی یا اکلامپسی به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه سالم می‌باشد (۳۸ درصد) ۱۹ در مقابل (۲ درصد) ۱ ($P < 0.001$).

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار ویتامین D سرم (ng/ml) در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	گروه‌ها	میانگین	انحراف معیار	P-value
کمبود <20 ng/ml	پره اکلامپسی و اکلامپسی	۸/۴۲	۵/۳۹	< ۰/۰۰۱.
	سالم	۱۵/۴۰	۲/۵۸	
ناکافی 20-30 ng/ml	پره اکلامپسی و اکلامپسی	۲۲/۶۵	۲/۱۰	۰/۱۸
	سالم	۲۴/۰۸	۲/۹۹	
طبیعی >30 ng/ml	پره اکلامپسی و اکلامپسی	۴۸/۶۱	۵۰/۶۷	۰/۸
	سالم	۳۲/۶	۳۰/۹۰	
جمع	پره اکلامپسی و اکلامپسی	۲/۸	۱/۷	
	سالم	۲/۶	۱/۶	

معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$) (جدول ۳). همچنین توزیع فراوانی مقادیر مختلف ویتامین D سرم به شکل طبیعی، کمبود نسبی و شدید در دو گروه زنان باردار مبتلا به پره اکلامپسی یا اکلامپسی و سالم در نمودار ۱ نشان داده شده است.

همان‌طوری که مشاهده می‌شود در دو گروه زنان باردار پره اکلامپسی یا اکلامپسی و باردار سالم که کمبود ویتامین D داشتند تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P < ۰/۰۰۱$) اما این تفاوت در سطوح مقادیر ناکافی و طبیعی ویتامین D بین دو گروه



نمودار ۱. فراوانی سطوح مختلف ویتامین D سرم (ng/ml) در گروه‌های مورد مطالعه

تحقیق نشان داد صرفاً بین شاخص توده بدن با ویتامین D سرم در گروه خانم‌های باردار سالم، همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت ($r = 0/34, P = 0/01$).

فراوانی کمبود ویتامین D براساس طبقه‌بندی فوق در گروه زنان باردار مبتلا به پره اکلامپسی یا اکلامپسی به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه سالم بوده است ($P < 0.001$).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که میانگین سطح ویتامین D در افرادی که پره‌اکلامپسی یا اکلامپسی داشتند به صورت معنی‌داری کمتر از گروه سالم بود به طوری که کمبود شدید ویتامین D در گروه زنان باردار مبتلا به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه سالم مشاهده شد که این کاهش در زنان باردار با سن بیشتر از ۳۰ سال، دارای تحصیلات کمتر از دیپلم، خانه‌دار و دارای BMI بیشتر از ۲۵ کیلوگرم بر مترمربع و بدون سابقه سقط و دارای سن بارداری کمتر از ۳۴ هفته به شکل معنی‌داری بیشتر مشاهده شد. در مطالعه Shahid S و همکاران ارتباط معنی‌داری بین کمبود ویتامین D و بروز پره‌اکلامپسی مشاهده شد که هم‌سو با یافته‌های تحقیق حاضر بود وجود داشت و هیچ ارتباطی بین BMI با بروز پره‌اکلامپسی مشاهده نشد که مخالف یافته‌های مطالعه ما بود. همچنین رابطه‌ای معکوس بین سطح تحصیلات با بروز پره‌اکلامپسی وجود داشت که هم‌سو با یافته‌های مطالعه حاضر بود [۲۵]. از سویی با توجه به شرایط منطقه و ناامنی غذایی، بیشتر گروه‌های آسیب‌پذیر در جامعه مورد مطالعه کمبود ویتامین D دارند [۲۳].

به نظر می‌رسد در چنین مطالعاتی، حجم نمونه بیشتری برای ارزیابی‌ها در راستای تعیین سطوح دقیق‌تر ویتامین D نیازمند می‌باشد. همچنین گزارش شده کمبود ویتامین D در هفته ۲۳-۲۸ بارداری با افزایش خطر ابتلا به پره‌اکلامپسی شدید همراه می‌باشد [۲۶]. در مطالعه رضایی و همکاران که با هدف مقایسه سطح سرمی ویتامین D در زنان باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی با زنان باردار سالم انجام گرفت مشاهده شد که کمبود ویتامین D در ۸۰ درصد از افراد گروه مورد و ۷۵ درصد افراد گروه سالم وجود داشت. همچنین کمبود ویتامین D در سنین بالاتر و در افراد خانه‌دار، افزایش معنی‌داری داشت که هم‌سو با یافته‌های مطالعه حاضر می‌باشد [۲۷]. در مطالعه‌ای دیگر دو گروه پره‌اکلامپسی یا اکلامپسی و سالم از نظر میانگین میزان ویتامین D تفاوت آماری معنی‌داری داشتند و زنان باردار با BMI بالاتر و دارای سابقه سقط کاهش معنی‌داری در خصوص ویتامین D سرم داشتند و همانند یافته‌های مطالعه حاضر، کمبود شدید ویتامین D در گروه مورد به شکل معنی‌داری مشاهده شد. هرچند سطح ویتامین D در مطالعه مذکور، به مراتب کمتر از مطالعه حاضر بوده است اما یافته‌های به‌دست‌آمده کاملاً هم‌سو با یافته‌های مطالعه ما می‌باشد. اما در یافته‌های از این مطالعه که مشکل سقط جنین مطرح شده بود مخالف یافته‌های مطالعه ما بود؛ زیرا در مطالعه ما در افرادی که سابقه سقط جنین نداشتند همچنان سطوح ویتامین D کاهش

معنی‌داری داشت، هرچند این کاهش ویتامین D در گروهی که سابقه سقط داشتند به شکل غیرمعنی‌داری وجود داشت. به نظر می‌رسد این تفاوت در یافته فوق ممکن است ناشی از حجم کم نمونه‌های مورد مطالعه، تفاوت در شاخص‌های دموگرافیکی، معیارهای ورود و خروج از مطالعه، روش نمونه‌گیری و تفاوت در کنترل اثر متغیرهای مخدوش‌کننده در جامعه مورد مطالعه بیان کرد و نیازمند تحقیقات گسترده‌تر می‌باشد. از سویی در مطالعه حاضر میانگین تعداد سقط در زنان باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی یا اکلامپسی داشتند به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه سالم بوده است: $0/58 \pm 0/3$ در مقابل $0/36 \pm 0/1$ (P=0/02). در نهایت، مطالعه فوق، تجویز کافی ویتامین D در پیشگیری از ایجاد پره‌اکلامپسی را احتمالاً مؤثر برشمرده است [۱۷]. مطالعه‌ای دیگر نشان داد میانگین سرمی ویتامین D زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی در هنگام زایمان در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشته است؛ به طوری که احتمال ابتلا به پره‌اکلامپسی براساس رگرسیون لجستیک در مقادیر پایین ویتامین D سرم، بیشتر مشاهده می‌شد و همانند یافته‌های مطالعه حاضر با افزایش سن و BMI کاهش ویتامین D بیشتر وجود داشته است [۲۸].

مطالعه حاضر نشان داد حدود ۳۸ درصد و ۴۴ درصد خانم‌های باردار پره‌اکلامپسی و اکلامپسی دارای کمبود شدید و نسبی می‌باشند و صرفاً ۱۸ درصد دارای وضعیت طبیعی ویتامین D سرم می‌باشند. بنابراین براساس یافته فوق، طیف آسیب‌پذیری خانم‌های باردار مبتلا به این سندرم بیشتر ملموس می‌باشد.

با فرض احتمال تأثیر کمبود ویتامین D در ایجاد پره‌اکلامپسی، زمان ایجاد پره‌اکلامپسی نیز ممکن است تحت تأثیر سن حاملگی قرار گیرد؛ برای مثال در مطالعه‌ای به خطر بروز پره‌اکلامپسی در هفته‌های ۱۸-۱۲ و ۲۶-۲۴ بارداری به علت کمبود ویتامین D اشاره شده است. سطوح پایین D (OH) ۲۵ در اواخر سه ماهه دوم با افزایش خطر پره‌اکلامپسی مرتبط بوده است؛ به طوری که ارتباط معنی‌داری بین سطوح سرمی D (OH) ۲۵ پلاسمای مادر در ۲۶-۲۴ هفته بارداری با خطر ایجاد پره‌اکلامپسی مشاهده شده است، هر چند که این ارتباط در هفته‌های ۱۲-۱۸ بارداری معنی‌دار نبوده است [۲۹]. یافته‌های مطالعه حاضر نیز نشان داد که در سنین بارداری کمتر از ۳۴ هفته، اختلاف در سطح ویتامین D در زنان باردار مبتلا در مقایسه با کنترل، کاهش معنی‌داری داشت. از سویی گزارش شده است که کاهش ویتامین D در میانه بارداری کمتر از ۵۰ نانومول بر لیتر با افزایش تقریبی چهار برابر خطر ابتلا به پره‌اکلامپسی شدید در مقایسه با گروه کنترل را موجب می‌گردد [۳۰]. بنابراین براساس یافته‌های مطالعه فوق و تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که کمبود سطح ویتامین D

(ویتامین D₃) به شکل روزانه در همه گروه‌های آسیب‌پذیر توصیه شده است.

نتایج، حاکی از آن است که بیشتر خانم‌های باردار مبتلا به سندرم پره اکلامپسی و اکلامپسی کمبود ویتامین D دارند که در بروز پره اکلامپسی یا اکلامپسی در دوران بارداری تأثیرگذار می‌باشد. به نظر می‌رسد که غربالگری مؤثر و درمان به‌موقع کمبود ویتامین D می‌تواند تا حدودی از بروز پره اکلامپسی و اکلامپسی پیشگیری کند و کیفیت بارداری را افزایش دهد. همچنین باید به سایر ویژگی‌های جمعیتی خانم‌های باردار مانند سنین بالا، تحصیلات کمتر و BMI بالا و سن بارداری در ارتباط با کاهش ویتامین D سرم توجه کرد. محدودیت‌های این مطالعه شامل کاهش حجم نمونه‌ها، افزایش هزینه آزمایش‌ها و پایش نکردن سطح سرمی ویتامین D در ماه‌های مختلف بارداری بود که مستلزم پایش و ارزیابی‌های تکمیلی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به شماره طرح تحقیقاتی ۹۲۴۶ به تاریخ ۱۳۹۸/۲/۱۵ مصوب گردید. نویسندگان مقاله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و نیز پزشک متخصص زنان و زایمان و کلیه خانم‌های باردار سالم و بیمار که در اجرای این تحقیق داوطلبانه همکاری داشته‌اند سپاسگزارند.

References

- [1]. LaMarca B, Cornelius DC, Harmon AC, Amaral LM, Cunningham MW, Faulkner JL, et al. Identifying immune mechanisms mediating the hypertension during preeclampsia. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2016;311(1):R1-9.
- [2]. Ananth CV, Keyes KM, Wapner RJ. Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: age-period-cohort analysis. *Bmj*. 2013; 347.
- [3]. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2011;25(4):391-403.
- [4]. Zakiyah N, Postma MJ, Baker PN, van Asselt AD. Pre-eclampsia diagnosis and treatment options: a review of published economic assessments. *Pharmacoeconomics*. 2015;33(10):1069-82.
- [5]. Zeisler H, Llorba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, et al. Predictive value of the sFlt-1: PlGF ratio in women with suspected preeclampsia. *N Engl J Med*. 2016;374:13-22.
- [6]. Kane SC, Dennis AT. Doppler assessment of uterine blood flow in pre-eclampsia: a review. *Hypertension in Pregnancy*. 2015;34(4):400-21.
- [7]. Rana S, Lemoine E, Granger JP, Karumanchi SA. Preeclampsia: pathophysiology, challenges, and perspectives. *Circulation research*. 2019;124(7):1094-112.
- [8]. McClure JH, Cooper GM, Clutton-Brock TH. Saving mothers' lives: review-ing maternal deaths to make motherhood safer: 2006-8: a review. *Br J Anaesth* 2011;107: 127-32.
- [9]. Bo QY, Zhao XH, Yang X, Wang SJ. Reversible posterior encephalopathy syndrome associated with late onset postpartum eclampsia: A case report. *Experimental and therapeutic medicine*. 2016;12(3):1885-8.
- [10]. Wagner CL, Hollis BW, Kotsa K, Fakhoury H, Karras SN. Vitamin D administration during pregnancy as prevention for pregnancy, neonatal and postnatal complications. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2017;18(3):307-22.
- [11]. Fereydoni M, Naghizadeh M, Derakhshani A, Mousavi M. The pleiotropic effects of vitamin D on health and disease. *JSUMS*. 2019; 26 (5): 641-50 (persian)
- [12]. Tamblin JA, Hewison M, Wagner CL, Bulmer JN, Kilby MD. Immunological role of vitamin D at the maternal-fetal interface. *Journal of Endocrinology*. 2015; 224(3):R107-21.
- [13]. Pérez-López FR, Pasupuleti V, Mezones-Holguin E, Benites-Zapata VA, Thota P, Deshpande A, Hernandez AV. Effect of vitamin D supplementation during pregnancy on maternal and neonatal outcomes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertility and sterility*. 2015; 103(5):1278-88.
- [14]. Wheeler BJ, Taylor BJ, De Lange M, Harper MJ, Jones S, Mekhail A, et al. A longitudinal study of 25-hydroxy vitamin

- D and parathyroid hormone status throughout pregnancy and exclusive lactation in new zealand mothers and their infants at 45 S. *Nutrients*. 2018;10(1):86.
- [15]. Heyden EL, Wimalawansa SJ. Vitamin D: Effects on human reproduction, pregnancy, and fetal well-being. *The journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2018;180:41-50.
- [16]. Tabesh M, Salehi-Abargouei A, Tabesh M, Esmailzadeh A. Maternal vitamin D status and risk of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2013;98(8):3165-73.
- [17]. Ghomian N, Lotfalizade M, Movahedian A. Comparative study of serum level of vitamin D in pregnant women with preeclampsia and normal pregnant women. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility*. 2015;18(140):1-6.
- [18]. Bärebring L, Bullarbo M, Glantz A, Leu Agelii M, Jagner Å, Ellis J, et al. Preeclampsia and blood pressure trajectory during pregnancy in relation to vitamin D status. *PLoS one*. 2016;11(3):e0152198.
- [19]. Mirzakhani H, Litonjua AA, McElrath TF, O'Connor G, Lee-Parritz A, Iverson R, et al. Early pregnancy vitamin D status and risk of preeclampsia. *The Journal of clinical investigation*. 2016;126(12):4702-15.
- [20]. Pérez-López FR, Pasupuleti V, Mezones-Holguin E, Benites-Zapata VA, Thota P, Deshpande A, et al. Effect of vitamin D supplementation during pregnancy on maternal and neonatal outcomes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertility and sterility*. 2015;103(5):1278-88.
- [21]. Shand AW, Nassar N, Von Dadelszen P, Innis SM, Green TJ. Maternal vitamin D status in pregnancy and adverse pregnancy outcomes in a group at high risk for pre-eclampsia. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2010;117(13):1593-8.
- [22]. Benachi A, Baptiste A, Taieb J, Tsatsaris V, Guibourdenche J, Senat MV, et al. Relationship between vitamin D status in pregnancy and the risk for preeclampsia: A nested case-control study. *Clinical nutrition*. 2020;39(2):440-6.
- [23]. Kaykhaei MA, Hashemi M, Narouie B, Shikhzadeh A, Rashidi H, Moulaei N, et al. High prevalence of vitamin D deficiency in Zahedan, southeast Iran. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2011;58(1):37-41.
- [24]. Hovsepian S, Amini M, Aminorroaya A, Amini P, Iraj B. Prevalence of vitamin D deficiency among adult population of Isfahan City, Iran. *Journal of health, population, and nutrition*. 2011;29(2):149-155.
- [25]. Shahid S, Ladak A, Fatima SS, Zaidi FA, Farhat S. Association of vitamin D levels with preeclampsia. *Journal of the Pakistan Medical Association*. 2020;70 (12):2390-2393
- [26]. Zhao X, Fang R, Yu R, Chen D, Zhao J, Xiao J. Maternal vitamin D status in the late second trimester and the risk of severe preeclampsia in southeastern China. *Nutrients*. 2017;9 (2):138.
- [27]. Rezaei M, Farhadifar F, Shahgheibi S, Hojati N. Comparison of serum vitamin D levels in pregnant women with preeclampsia with healthy pregnant women. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility*. 2014;17(113):1-6.
- [28]. Abedi P, Mohaghegh Z, Afshary P, Latifi M. The relationship of serum vitamin D with pre-eclampsia in the Iranian women. *Maternal & child nutrition*. 2014;10(2):206-12.
- [29]. Wei SQ, Audibert F, Hidiroglou N, Sarafin K, Julien P, Wu Y, et al. Longitudinal vitamin D status in pregnancy and the risk of pre-eclampsia. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2012;119(7):832-9.
- [30]. Baker AM, Haeri S, Camargo Jr CA, Stuebe AM, Boggess KA. First-trimester maternal vitamin D status and risk for gestational diabetes (GDM) a nested case-control study. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2012;28(2):164-8.
- [31]. Bomba-Opon DA, Brawura-Biskupski-Samaha R, Kozłowski S, Kosinski P, Bartoszewicz Z, Bednarczuk T, Wielgos M. First trimester maternal serum vitamin D and markers of preeclampsia. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2014; 27(10):1078-9.
- [32]. Yu CK, Ertl R, Skyfta E, Akolekar R, Nicolaides KH. Maternal serum vitamin D levels at 11-13 weeks of gestation in preeclampsia. *Journal of human hypertension*. 2013; 7(2):115-8.
- [33]. Rajdev S, Agarwal B, Nigoskar S. To Estimate Trace Elements, Oxidative Stress and Antioxidant during Preeclampsia and Eclampsia. 2020; 3(12): 250-254
- [34]. Azami M, Azadi T, Farhang S, Rahmati S, Pourtaghi K. The effects of multi mineral-vitamin D and vitamins (C+ E) supplementation in the prevention of preeclampsia: An RCT. *International Journal of Reproductive BioMedicine*. 2017; 15(5):273.