

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

VINICIUS MEDINA LOPES

**Hipovitaminose D em mulheres inférteis e sua relação com o fator da
infertilidade: estudo transversal com grupo controle**

**Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde da Universidade de Brasília**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto Casulari Roxo da Motta

Brasília-DF

2015

VINICIUS MEDINA LOPES

Aprovada em 24/07/2015

BANCA EXAMINADORA

Alberto Carlos Moreno Zaconeta
Angélica Amorim Amato
Paulo Sérgio França (suplente)

PRESIDENTE

Prof. Dr. Luiz Augusto Casulari Roxo da Motta

Dedico este trabalho

à Maria das Dores (Dorinha), minha mãe,
ao Joaquim Roberto meu pai,
à Ana Luiza e à Alice, minhas filhas,
à Tatiana Coêlho Café, minha esposa,
à Venância e ao Silvio, meus irmãos,
aos demais familiares e amigos do peito,
e à todos os casais inférteis.

AGRADECIMENTOS

À minha esposa, Tatiana Coêlho Café, por estar ao meu lado, tentando compreender as mudanças necessárias em nossa rotina durante o período de realização deste sonho.

À minha mãe, minha fonte inspiradora, meu exemplo de cientista.

Ao meu pai, por me fornecer de forma cotidiana, a estrutura necessária para me tornar o profissional que sou.

Aos meus professores da pós-graduação, em especial à Dra. Maria Clotilde Tavares, exemplo de dedicação acadêmica que, no início do meu curso, me forneceu conhecimento para a elaboração deste e de outros trabalhos científicos.

Ao meu orientador, Luiz Augusto Casulari Roxo da Motta, peça fundamental, que sempre esteve disponível para me auxiliar na produção deste trabalho.

À Dra. Lucília Casulari e à Dra. Miriam da Silva Wanderley e, em especial, ao Dr. Paulo Sérgio França, que desde a residência médica me incentivaram a fazer esta pós-graduação.

Aos Drs. Alberto Carlos Moreno Zaconeta e Benedito Fernandes Pinto, exemplos de médicos que sabem ouvir e tratar os pacientes de modo carinhoso e humano, transmitindo este modelo aos alunos e residentes do Hospital Universitário de Brasília.

Aos colegas e amigos do Instituto VERHUM, que me auxiliaram na coleta e avaliação dos dados para o trabalho, em especial, à Ingrid Oliveira.

Ao meu sócio-irmão Jean Pierre Brasileiro, pelo incentivo.

Às Dras. Janete Vaz e Sandra Costa e em especial à ex-diretora Vanusa Sá, em nome do laboratório Sabin, parceiro na realização dos exames.

Aos funcionários da secretaria de pós-graduação, em especial à Edigrês de Sousa, pela presteza em nos ajudar.

Às minhas filhas, alegria do meu viver.

RESUMO

Introdução. A literatura médica é escassa no que se refere à avaliação da prevalência de hipovitaminose D no Brasil. Esta vitamina apresenta importante função em diversos processos metabólicos e lhe foi atribuída uma possível influência no processo reprodutivo e, em especial, na fisiologia reprodutiva da mulher. Não está esclarecido, entretanto, se existe associação entre concentrações séricas baixas de vitamina D e infertilidade feminina. **Objetivos.** Avaliar a prevalência de hipovitaminose D em mulheres inférteis e a relação da concentração sérica da vitamina D com os fatores de infertilidade. **Métodos.** Este é um estudo transversal de caso-controle. Os resultados das dosagens de vitamina D, realizadas entre primeiro de janeiro de 2012 e quinze de maio de 2012, foram o objeto desse estudo. A dosagem da vitamina D foi solicitada na primeira consulta para todas as pacientes inférteis em investigação, em um centro privado de reprodução assistida em Brasília, DF, Brasil. O grupo controle foi formado por mulheres atendidas nesta mesma clínica, sem queixas de infertilidade. Foi considerada deficiência de vitamina D quando a concentração da mesma estava abaixo de 20 ng/mL e insuficiência entre 20 e 30 ng/mL. Para analisar a influência da idade sobre a comparação entre as médias da concentração de vitamina D nos grupos foi realizado regressão logística de multivariáveis. **Resultados.** Entre as 369 mulheres avaliadas em idade fértil, 81,1% apresentaram algum grau de hipovitaminose D e, 32%, deficiência da vitamina. Não foi encontrada diferença entre a prevalência de deficiência de vitamina D nas pacientes inférteis (30,2%) e no grupo controle (35%) ($p=0,33$). Não se observaram diferenças significativas entre as médias das concentrações da vitamina D entre os grupos de inférteis ($24,3 \pm 7,9$ ng/mL) e controles ($23,8 \pm 8,7$ ng/mL) ($p = 0,51$). Não houve influência da idade nesse resultado. Não foi encontrada diferença estatística, quando se comparou as médias das concentrações de vitamina D de pacientes inférteis, de acordo com o fator de infertilidade, ou quando estas médias foram comparadas com o grupo controle. **Conclusão.** Concluímos que existe alta prevalência de hipovitaminose D nas mulheres inférteis consultadas. Não houve diferença na média das concentrações séricas entre as mulheres inférteis avaliadas e das mulheres sem esta queixa. Nenhum fator de infertilidade se associou a maior risco para que a mulher apresentasse concentrações mais baixas de vitamina D.

Palavras- chave. “Vitamina D”; infertilidade; prevalência; “deficiência de vitamina D”; “síndrome dos ovários policísticos”.

ABSTRACT

Introduction. Publications about the prevalence of vitamin D deficiency in Brazilian population are rare. Vitamin D plays an important role in several metabolic processes, including a possible influence on women's reproductive physiology. Therefore, it is expected that the inadequate serum concentration of vitamin D might be involved with infertility factors. **Objective.** The aim of this study was to determine the prevalence of hypovitaminosis D in infertile patients that were examined at a clinic specialized in assisted reproduction in Brasilia, DF, Brazil. Our secondary objectives were to verify if serum concentrations of vitamin D in infertile women differ from those without infertility and to assess whether vitamin D serum concentration is influenced by the infertility factor. **Methods.** This is a cross-sectional case-control study. Vitamin D was measured from 01/01/2012 to 05/05/2012 in infertile women and in those without this complaint, who served as the control group. Subjects came from a private center of assisted reproduction, in Brasília-DF. Levels of vitamin D below 20 ng/mL were considered as deficiency, between 21 and 30 ng/mL as insufficiency, and normal when it was over 30 ng/mL. To analyze the vitamin D levels between controls and infertile women, adjusted by age, multivariate logistic regression was obtained. **Results.** Among the 369 women evaluated, 81.1% of them shown hypovitaminosis D and 32%, deficiency. There was no difference between the prevalence of vitamin D deficiency in infertile patients (30.2%) and in the control group (35%) ($p = 0.33$). The same occurred relatively to the mean vitamin D concentrations in infertile women (24.3 ± 7.9 ng/mL) and in the control group (23.8 ± 8.7 ng/mL) ($p = 0.51$), even when adjusted by age. Besides, there were no statistical differences in the mean vitamin D concentrations in infertile women when infertility factors were compared among them and also between each infertility factor group and the control group. **Conclusions.** It was observed a high proportion of infertile women with vitamin D deficiency. There was no difference between the prevalence of vitamin D deficiency in infertile patients and in the control group. There wasn't an infertility factor associated to lower levels of vitamin D.

Keywords. "Vitamin D"; infertility; prevalence; "vitamin D deficiency"; "polycystic ovary syndrome".

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frequências dos fatores de infertilidade presentes de forma isolada ou associada a outros fatores, em 116 casais que completaram toda a investigação.....39

Tabela 2. Distribuição da amostra de acordo com a concentração sérica de vitamina D (ng/mL).....40

Tabela 3. Comparação das médias das concentrações séricas de vitamina D (ng/mL) entre os fatores de infertilidade nos casos em que havia apenas um fator de infertilidade presente, dentre os casais com investigação completa.....41

Tabela 4. Comparação da média da concentração sérica de vitamina D de mulheres inférteis com investigação completa de acordo com o fator da infertilidade com aquela do grupo controle.....42

Tabela 5. Comparação entre a média da concentração sérica de vitamina D(ng/mL) de mulheres inférteis com cada fator da infertilidade e aquelas sem aquele fator.....43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25(OH) D - Vitamina D

1,25(OH)₂D - Calcitriol

CSF2 - Fator estimulador colonial 2

DBP - Proteína carreadora da vitamina D

FIV - Fertilização *in vitro*

HCG - Gonadotrofina coriônica humana

HOMA-IR - Modelo de avaliação da Homeostase, pela estimativa da resistência à insulina (do inglês, *Homeostatic model assessment for insulin resistance*)

IFN-g - Interferon gama

IGFBP-1 - Proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1

IL - Interleucina

IMC - Índice de massa corpórea

LH - Hormônio luteinizante

NK - Células *natural killer*

PTH - Paratormônio

RXR-VDR - Complexo heterodimérico formado pelo receptor do ácido retinóico e receptor da vitamina D ligado ao calcitriol

SHBG - Globulina ligadora de hormônios sexuais

SOP - Síndrome dos ovários policísticos

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa

UVB - Raios ultravioleta B

VDR - Receptor da vitamina D

VDSP - Programa de padronização da vitamina D

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 O QUE É VITAMINA D?.....	13
1.2 METABOLISMO DA VITAMINA D.....	13
1.3 AÇÃO DA VITAMINA D EM DIVERSOS SISTEMAS.....	15
1.4 AÇÃO DA VITAMINA D NO SISTEMA REPRODUTIVO MASCULINO.....	16
1.5 AÇÃO DA VITAMINA D NO SISTEMA REPRODUTIVO FEMININO.....	17
1.6 PATOLOGIAS REPRODUTIVAS ASSOCIADAS AO METABOLISMO DA VITAMINA D.....	19
1.6.1 ENDOMETRIOSE.....	19
1.6.2 SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS.....	20
1.6.3 ABORTAMENTO ESPONTÂNEO RECORRENTE.....	22
1.7 INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA D NOS RESULTADOS DA FERTILIZAÇÃO <i>IN VITRO</i> (FIV).....	23
1.8 PREVALÊNCIA DE HIPOVITAMINOSE D NO MUNDO.....	25
1.9 PREVALÊNCIA DE HIPOVITAMINOSE D NO BRASIL.....	27
1.10 PREVALÊNCIA DE HIPOVITAMINOSE D EM MULHERES EM IDADE FÉRTIL.....	28
1.11 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	29
2 OBJETIVOS.....	30
2.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....	30
2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	30
3 MÉTODOS.....	31
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	31
3.2 ASPECTOS ÉTICOS.....	31
3.3 SUJEITOS.....	31
3.4 PROCEDIMENTO.....	32
3.4.1 REALIZAÇÃO DA DOSAGEM DA VITAMINA D.....	32
3.4.2 DOSAGEM DA VITAMINA D.....	32
3.5 DEFINIÇÕES DAS VARIÁVEIS.....	33
3.5.1 FATOR DE INFERTILIDADE.....	33
3.5.1.1 FATOR MASCULINO.....	33

3.5.1.2 BAIXA RESERVA OVARIANA.....	33
3.5.1.3 SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS.....	33
3.5.1.4 FATOR TUBO-PERITONEAL.....	34
3.5.1.5 ENDOMETRIOSE.....	34
3.5.1.6 MÚLTIPLOS.....	34
3.5.1.7 INFERTILIDADE SEM CAUSA APARENTE (ISCA).....	34
3.5.2 DEFINIÇÕES DE HIPOVITAMINOSE D.....	35
3.5.3 CÁLCULO DA PREVALÊNCIA DOS FATORES DE INFERTILIDADE.....	35
3.6 COLETA DOS DADOS.....	35
3.7 ANÁLISES DOS DADOS.....	35
3.7.1 VARIÁVEIS DE INTERESSE.....	36
3.7.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	36
3.7.2.1 COMPARAÇÃO ENTRE A MÉDIA DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE VITAMINA D DO GRUPO DE MULHERES INFÉRTEIS E DO GRUPO CONTROLE.....	36
3.7.2.2 COMPARAÇÃO ENTRE A PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D DENTRE O GRUPO DE INFÉRTEIS E O GRUPO CONTROLE.....	36
3.7.2.3 ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE VITAMINA D E A IDADE.....	37
3.7.2.4 COMPARAÇÕES ENTRE AS MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE VITAMINA D NAS PACIENTES INFÉRTEIS, DE ACORDO COM O FATOR DE INFERTILIDADE.....	37
3.7.2.5 COMPARAÇÃO ENTRE A MÉDIA DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE VITAMINA D DAS PACIENTES INFÉRTEIS COM INVESTIGAÇÃO COMPLETA DE ACORDO COM O FATOR DE INFERTILIDADE EM RELAÇÃO AO GRUPO CONTROLE.....	37
3.7.2.6 COMPARAÇÃO ENTRE A MÉDIA DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE VITAMINA D, QUANDO PRESENTE UM DETERMINADO FATOR DE INFERTILIDADE, EM RELAÇÃO AO GRUPO INFÉRTIL	37
3.7.2.7 COMPARAÇÃO ENTRE A MÉDIA DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE VITAMINA D, NAS PACIENTES COM OU SEM ENDOMETRIOSE.....	38
4 RESULTADOS.....	39
5 DISCUSSÃO.....	44
6 CONCLUSÃO.....	50

REFERÊNCIAS.....	51
ANEXO (PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA).....	63

1 INTRODUÇÃO

A vitamina D, também conhecida como calcitriol, apresenta importante função em diversos processos metabólicos e foi-lhe atribuída uma possível influência no processo reprodutivo, em especial, na fisiologia reprodutiva da mulher (1). Tendo em vista que a vitamina D apresenta receptores e enzimas envolvidas em seu metabolismo em todo o sistema reprodutor feminino, é de se esperar que a concentração sérica inadequada de vitamina D possa estar relacionada com fatores de infertilidade, como a anovulação crônica e a endometriose (1). Vários estudos mostram taxas de gestação mais altas em mulheres com concentrações normais de vitamina D, comparadas com aquelas que apresentavam concentrações baixas (2,3,4).

Não se conhece a prevalência de hipovitaminose D nas pacientes inférteis na população brasileira e tampouco sabe-se se os fatores de infertilidade estão associados à maior ou menor concentração de vitamina D.

1.1 O QUE É VITAMINA D?

A vitamina D é um secoesteroide, ou seja, uma molécula semelhante a dos esteroides, porém com um anel de carbono “quebrado”. Além de sua estrutura assemelhar-se àquela dos esteroides, o seu mecanismo de ação também é parecido, ou seja, atua mediante ligação com seu receptor (VDR, do inglês, *vitamin D receptor*) no núcleo das células (5).

Nosso organismo absorve as vitaminas através da alimentação, porém a vitamina D difere das outras pela capacidade do organismo em sintetizá-la.

1.2 METABOLISMO DA VITAMINA D

O status da vitamina D em nosso organismo resulta da combinação da

biossíntese na pele pela exposição à luz solar e da ingestão das duas formas de vitamina D: ergocalciferol (vitamina D2) e colecalciferol (vitamina D3) (6).

Nos fibroblastos da derme ou ceratinócitos da epiderme, o 7-deidrocolesterol é convertido pelos raios ultravioletas B em colecalciferol, também conhecida como vitamina D3 (7). Um mecanismo regulatório induz à degradação da pré-vitamina D3 e da vitamina D3 em produtos inativos na presença de excesso de luz solar (7).

A vitamina D2 proveniente da dieta, após ser absorvida pelo sistema digestório, e a vitamina D3, após sua síntese, entram na corrente sanguínea e se ligam à sua proteína carreadora (DBP, do inglês, *vitamin D binding protein*). Transportadas até o fígado, sofrem a primeira hidroxilação, por meio da 25-hidroxilase, formando a 25(OH) D, ou 25 hidroxicoalciferol, metabólito utilizado para avaliar o status de vitamina D do indivíduo (8).

No rim, a 25(OH) D sofre nova hidroxilação pela enzima 1 α -hidroxilase, gerando a 1,25 dihidroxivitamin D, também conhecida como 1,25(OH)₂D ou calcitriol - forma ativa hormonal (9). A ação desta enzima é estimulada pelo paratormônio (PTH) e suprimida pelo cálcio, fósforo e pelo próprio calcitriol. O PTH, por sua vez, estimula a formação de calcitriol pelo rim e este reduz a secreção de PTH pelas paratireóides por mecanismos diretos e indiretos, tais como o aumento de absorção de cálcio (9).

Nas células alvo, a vitamina D se liga ao seu receptor (VDR) no núcleo (5). Este complexo se liga ao receptor do ácido retinoico formando um complexo heterodimérico (RXR-VDR) antes de se ligar ao DNA nuclear. O catabolismo do 25(OH) D ou do 1,25(OH)₂D ocorre pela hidroxilação do carbono 24, seguido por sua excreção na bile (10).

O envelhecimento reduz a capacidade da pele de sintetizar pró-vitamina D e esta diminuição não pode ser explicada apenas por uma redução na massa total da epiderme. Provavelmente existem outros fatores associados, como a redução da ação intestinal da 1,25(OH)₂D com o avanço da idade (9).

Variações nos genes envolvidos na codificação da 25 hidroxilase (rs10741657) e da proteína ligadora da vitamina D (rs4588), podem modificar a concentração sérica da vitamina D após exposição aos raios ultravioleta B (UVB) ou ingestão de alimentos suplementados com a vitamina (11).

1.3 AÇÃO DA VITAMINA D EM DIVERSOS SISTEMAS

As ações da vitamina D são mediadas pelos seus receptores, presentes praticamente em todos os tecidos como cérebro, pâncreas, ossos, músculos esqueléticos, rins, intestino, pele, paratireoide, hipófise e órgãos reprodutivos (1).

As principais ações do calcitriol são contribuir para a homeostase do cálcio e do fósforo e promover a remineralização óssea (10). Entretanto, sua ação mais conhecida é a estimulação do transporte ativo do cálcio da luz do duodeno para o sangue. Na manutenção da massa óssea, permite a mineralização óssea normal e mobiliza cálcio e fósforo do tecido ósseo para a circulação. Além desses aspectos, age sinergicamente com o PTH na ativação e maturação das células osteoclásticas (9).

A vitamina D também age no tecido muscular, e sua deficiência em idosos está associada a maior risco de quedas, enquanto a suplementação nestes casos reduz tais riscos (12).

Os valores de 25(OH)D suficiente, insuficiente e deficiente equivalem a, respectivamente, ≥ 30 ng/mL ou ≥ 75 nmol/L, 20-29 ng/mL ou 50 a 72 nmol/L e < 20 ng/mL ou < 50 nmol/L (13). O valor mínimo desejável de 25(OH) D é de 20 ng/mL (50 nmol/L), de acordo com o Instituto Nacional de Saúde Americano (NIH) e de 30 ng/mL (75 nmol/L), segundo a Sociedade Americana de Endocrinologia (14,15).

Para a preservação da saúde óssea, o valor recomendado é de pelo menos 20 ng/mL (14). Abaixo deste parâmetro, ocorre aumento da concentração do paratormônio e perda óssea (9). No entanto, para outros autores, o valor mínimo para correção do hiperparatireoidismo secundário, redução do risco de quedas e fraturas e a máxima absorção de cálcio, seria de 30 ng/mL (15).

Estudos sugerem que algumas patologias estão associadas à deficiência de vitamina D, como doenças cardiovasculares, dislipidemia, distúrbios do metabolismo da glicose, obesidade, diminuição da função cognitiva, doenças infecciosas, esclerose múltipla e distúrbios do humor (16).

Segundo uma metanálise de estudos observacionais, a baixa concentração sérica de vitamina D está associada ao aumento de 35% no risco de morte por doença cardiovascular, 14% de câncer e 35% de mortalidade geral. Por outro lado, a suplementação com vitamina D3 reduziu o risco de mortalidade geral; o mesmo não

ocorreu quando a suplementação se fez com a vitamina D2 (17).

Porém, autores concluem que a suplementação com vitamina D, de modo indiscriminado, para múltiplos fins é infundada. Haveria necessidade de mais estudos prospectivos, randomizados, para confirmar seus benefícios (17,18). Alguns sugerem que a solicitação da dosagem de vitamina D deve ser evitada a não ser em casos em que se suspeita de doenças relacionadas a condições ósseas, como retardo do crescimento, raquitismo, osteomalácia, hiperparatiroidismo secundário, osteopenia e osteoporose (19).

1.4 AÇÃO DA VITAMINA D NO SISTEMA REPRODUTIVO MASCULINO

Estudos em humanos detectaram a presença de receptores de vitamina D nos testículos e próstata, epidídimo e vesícula seminal, assim como na cabeça e peça intermediária dos espermatozoides (20-22). As enzimas envolvidas no metabolismo da vitamina D também estão presentes em espermátides, epidídimo, vesícula seminal e próstata (21).

O calcitriol sintetizado no próprio espermatozoide, ao se ligar em seu receptor, induz ao aumento do cálcio intracelular e da motilidade espermática, além da atividade da acrosina e da atividade de lipase. Estes são importantes passos para a fecundação oocitária (23).

Em estudo com 300 pacientes, foi observada uma correlação positiva entre a concentração sanguínea de 25(OH)D e a motilidade espermática. Neste mesmo estudo, a adição “in vitro” da vitamina D induziu à elevação da concentração de cálcio, da motilidade espermática e à reação acrossômica (24). Todavia, em outro trabalho, não houve correlação entre a concentração sanguínea de 25(OH)D e parâmetros seminais em 307 pacientes (25).

Um artigo de revisão sobre a vitamina D e a capacidade reprodutiva masculina concluiu que não há correlação da concentração de vitamina D com a concentração espermática, e que existe correlação positiva com a motilidade e morfologia espermática (26).

Apesar da controvérsia, a suplementação da dieta com a vitamina D pode ter efeitos benéficos sobre a qualidade seminal, concentrações de testosterona e

fertilidade masculina (27).

1.5 AÇÃO DA VITAMINA D NO SISTEMA REPRODUTIVO FEMININO

Em modelos animais, sabe-se que a vitamina D influencia nos processos de foliculogênese, esteroidogênese, implantação embrionária e gestação (28).

Em humanos, vários autores constataram a presença de receptores e enzimas envolvidas no metabolismo da vitamina D em diversos tecidos do sistema reprodutor feminino. Estudos demonstram que 1 α -hidroxilase se expressa no tecido cervical e uterino, enquanto que os receptores da vitamina D estão presentes nos epitélios vaginal e cervical, nas células endometriais e epiteliais das trompas assim como nos ovários (29-35). A hipófise também apresenta receptores da vitamina D, sugerindo que poderia haver algum tipo de regulação da glândula por ela (36).

Suspeita-se que o calcitriol regule a expressão do gene CYP19 que, após codificado, resulta na formação da aromatase, enzima essencial para produção estrogênica. Em um estudo em camundongos, a ausência de receptores de vitamina D levou à hipoplasia uterina e à redução da esteroidogênese, secundária à redução da expressão gênica da aromatase. A suplementação com cálcio corrigiu parcialmente a atividade da aromatase e do hipogonadismo, sugerindo que outros mecanismos de ação da vitamina D podem estar envolvidos no processo, além da homeostase do cálcio (37).

Em humanos, um estudo “in vitro” demonstrou atividades regulatórias da vitamina D nos ovários. Ela age aumentando a produção de progesterona, estradiol e estrona. Age de forma sinérgica com a insulina, estimulando a produção de estrógenos e inibindo a produção da proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGFBP-1) (35).

O calcitriol tem efeito anti-proliferativo e imunossupressivo (38). Esse efeito, em parte deve-se ao fato de que a maioria das células do sistema imunológico apresenta receptores da vitamina D (39). Considerando que o calcitriol é um imunoregulador, o mesmo poderia ser essencial para a resposta imune no desenvolvimento de uma gestação normal. Um aumento das concentrações do calcitriol foi notado em pacientes submetidas a tratamento com estrogênio e

progesterona, assim como em gestantes (40). Sabe-se também que o gene homeobox (HOXA 10), identificado no sítio da implantação embrionária e nela envolvido, é vitamina D dependente (41).

Vigano e colaboradores também avaliaram a relação do calcitriol com a fisiologia uterina, de modo a estudar a expressão, a regulação e a localização da 1 α -hidroxilase endometrial no ciclo menstrual e na gravidez inicial. Os resultados mostraram que o gene da 1 α -hidroxilase expressava-se da mesma forma durante todo o ciclo menstrual nas células estromais do endométrio humano; no entanto, houve aumento significativo na gravidez inicial (42). Dessa forma, acredita-se que a vitamina D tenha um papel no estabelecimento da gravidez e/ou na manutenção desta.

Considerando os aspectos citados acima, não surpreende a presença da associação de hipovitaminose D com diversas patologias ginecológicas e obstétricas descritas na literatura, como a síndrome pré-menstrual, miomatose uterina e dismenorreia (43-45).

A influência da vitamina D no sistema ginecológico segue controversa. Os mesmos autores que encontraram em uma primeira publicação, correlação entre hipovitaminose D e síndrome pré-menstrual, em outra mais recente, já encontraram ausência de correlação (43,46). Porém, em estudo randomizado, a administração de vitamina D injetável, foi capaz de reduzir a dismenorreia em relação ao placebo (45).

Com relação ao aumento do risco de câncer de mama, a maioria das publicações demonstra não haver mais dúvidas quanto a associação desta enfermidade com deficiência de vitamina D (47).

O fato da vitamina D ter ação imunomoduladora e anti-inflamatória e de estar presente com seu receptor no tecido placentário sugere a possibilidade de participar da etiologia da pré-eclâmpsia e de outras patologias da gestação. Em uma metanálise, foi encontrada uma associação da hipovitaminose D com diabetes gestacional, pré-eclâmpsia e recém-nascidos com baixo peso para idade gestacional (48). Acrescenta-se ainda, o fato de que a concentração sérica de vitamina D materna se assemelha à do cordão umbilical, ou seja, do feto. Desta maneira, a baixa reserva materna da vitamina poderia impactar no desenvolvimento fetal e do recém-nascido (49). Portanto, o diagnóstico pré-concepcional da hipovitaminose D e seu tratamento poderiam contribuir para redução da morbimortalidade materno-fetal.

1.6 PATOLOGIAS REPRODUTIVAS ASSOCIADAS AO METABOLISMO DA VITAMINA D

Do ponto de vista reprodutivo, vários estudos avaliaram a importância da concentração sérica da vitamina D e sua correlação na infertilidade, também com resultados controversos.

A vitamina D apresenta importante função em diversos processos metabólicos e foi-lhe atribuída uma possível influência no processo reprodutivo e, em especial, na fisiologia reprodutiva da mulher (1). Dessa maneira, distúrbios do seu metabolismo poderiam interferir na fertilidade feminina, a exemplo das patologias como endometriose e síndrome dos ovários policísticos (SOP).

1.6.1 Endometriose

A endometriose é uma doença caracterizada pela presença de tecido endometrial fora da cavidade uterina. O mecanismo mais conhecido que associa a endometriose com a infertilidade deriva da reação inflamatória pélvica que induz à formação de aderências e à obstrução tubária (50). Porém, outros fatores, ainda que desconhecidos, devem justificar a infertilidade naquelas pacientes em que não há comprometimento tubário pela endometriose.

Suspeita-se que o metabolismo ou a ação da vitamina D no endométrio poderiam estar relacionados com a patogenia da endometriose. Em um estudo que comparou 78 pacientes com endometriose e 53 mulheres sem este diagnóstico após laparoscopia, observou-se no endométrio tópico exacerbada expressão da 1 α -hidroxilase e VDR nas pacientes com endometriose em relação a mulheres saudáveis, apesar de não haver diferença na dosagem sérica de 25 (OH) D. Não houve diferença quanto à expressão da 25 hidroxilase no endométrio (33).

Em outro estudo, em que a videolaparoscopia diagnosticou endometriose em 27 mulheres e a excluiu em outras 50, houve diferença estatística na expressão endometrial da enzima 1 α -hidroxilase, que ocorreu de maneira mais intensa naquelas com endometriose. Em tecido ectópico, também se verificou expressão da enzima (42).

Uma variação da resposta celular à vitamina D pode estar presente em mulheres com concentrações normais da vitamina, caso haja polimorfismo de seu receptor. Porém, a incidência de polimorfismo do VDR não variou entre grupo controle e mulheres com endometriose (51).

Sabe-se que os agonistas de VDR podem modular o sistema imunológico, como por exemplo, inibir o desenvolvimento das células Th1 e que as propriedades imunoregulatórias e anti-inflamatórias da vitamina D poderiam ter aplicações terapêuticas em doenças caracterizadas por inflamação crônica (13,52). Portanto, pacientes com endometriose, teoricamente, poderiam se beneficiar com a suplementação da vitamina.

Tendo em vista esta suposição, o efeito do elocalciferol, um agonista do VDR que possui propriedades anti-inflamatórias e antiproliferativas, foi avaliado em camundongos com endometriose induzida. Foi demonstrado nos animais tratados que o elocalciferol diminuiu a capacidade de adesão das células endometriais ao colágeno, assim como o processo inflamatório peritoneal, por meio da inibição do recrutamento de macrófagos e da secreção das citocinas inflamatórias (53).

Um artigo de revisão sobre a importância da vitamina D no desenvolvimento da endometriose, concluiu que a vitamina D, devido a seu papel imunomodulador e anti-inflamatório, pode estar envolvida na patogênese da doença e que ainda há necessidade de trabalhos que demonstrem esta relação de causa e efeito (54).

1.6.2 Síndrome dos ovários policísticos

Vários estudos tentam relacionar o metabolismo da vitamina D com a etiopatogenia da síndrome de ovários policísticos. Alguns sugerem que a vitamina D influencia o metabolismo e secreção da insulina (55,56). Outros associam os polimorfismos dos receptores de vitamina D aos parâmetros endócrinos e metabólicos em mulheres com síndrome dos ovários policísticos (57).

A vitamina D regula a transcrição de vários genes distribuídos em todo corpo, desta maneira, variações em seu receptor poderiam ter diversas consequências. Um estudo que avaliou a variação do genótipo do receptor da vitamina D, encontrou uma associação da variação VDR TaqI CC com maiores concentrações séricas de

hormônio luteinizante (LH) em mulheres com SOP (58). Ainda mais, em outro estudo, com mulheres iranianas, aquelas que apresentavam SOP tinham uma prevalência significativamente maior desta mesma variação do VDR em comparação ao grupo controle (59). Em outros estudos os polimorfismos dos receptores da vitamina D (TaqI, BsmI, FokI, ApaI and Cdx2) foram associados ao aumento da concentração sérica do LH e da globulina ligadora dos hormônios sexuais (SHBG), testosterona, insulina e resistência à insulina (57,58,60).

Sabe-se que uma das ações da vitamina D é regular a ação da aromatase, enzima que converte a androstenodiona e testosterona em estrona e estradiol, respectivamente. Coincidentemente, em folículos de mulheres com SOP, a expressão gênica da aromatase encontra-se reduzida em comparação aos folículos de mulheres sem este diagnóstico (61). Desta forma, a deficiência de vitamina D em mulheres com SOP poderia exacerbar os sintomas hiperandrogênicos da doença.

Diversos estudos realizados em mulheres com SOP concluíram que as concentrações de vitamina D estavam negativamente correlacionadas ao índice de massa corpórea (IMC) e à resistência à insulina (1). De forma contraditória, em um estudo que avaliou 291 mulheres com SOP e 109 controles, não houve diferença entre os grupos quanto a 25(OH)D e 1,25(OH)2D3 e a resistência à insulina não se associou com deficiência de vitamina D naquelas com SOP (62). O aumento de peso estava associado de forma significativa a menores concentrações de vitamina D em ambos os grupos.

Os efeitos da suplementação dietética com vitamina D em mulheres com SOP evidenciaram benefícios na normalização do ciclo menstrual e padrão ovulatório quando associado ao cálcio, e quando ambos estavam associados à metformina (63,64).

Em outro estudo com 57 mulheres com SOP, a suplementação prolongada foi capaz de restituir não só a melhora dos ciclos menstruais como a diminuição da glicemia em jejum, tolerância à glicose e concentração do peptídeo C (65). Em outro trabalho, foi observado a melhora na resistência à insulina, avaliada pelo HOMA-IR após 3 semanas da administração oral em dose única de 300.000UI (66).

Diferente dos estudos anteriores, que não apresentavam grupo controle, Ardabili e colaboradores realizaram um estudo placebo controlado com 50 mulheres com SOP (67). Após dois meses de suplementação com vitamina D, apesar de haver maior secreção de insulina, não houve diferença na melhora na sensibilidade

à insulina. Ressalta-se que, neste estudo, a suplementação foi insuficiente, já que a média da concentração da vitamina D ainda encontrava-se deficiente ao fim do estudo, apesar de seu aumento significativo, de 6,9 para $23,4 \pm 6,1$ ng/mL.

Concluindo, em pacientes com síndrome de ovários policísticos, as baixas concentrações séricas de vitamina D estão associadas à obesidade, distúrbios endócrinos e metabólicos (58,68). A correção deste quadro pela suplementação com vitamina D pode melhorar a frequência menstrual e os parâmetros metabólicos (65).

Não se sabe ao certo se existem outros mecanismos de ação da vitamina D que poderiam estar associados à etiopatogenia da SOP, além da influência sobre o metabolismo da insulina. Ainda há necessidade de estudos controlados para avaliar o real efeito da suplementação com vitamina D em pacientes com SOP, individualizando cada grupo de acordo com a associação de variáveis intervenientes como obesidade e resistência insulínica.

1.6.3 Abortamento espontâneo recorrente

As ações da vitamina D no endométrio durante a implantação embrionária incluem a regulação da expressão e secreção da gonadotrofina coriônica humana (HCG) pelo sincitiotrofoblasto e o aumento da produção de esteroides placentários (69,70). Além disso, o próprio embrião, em estado de blastocisto, induz a produção endometrial de vitamina D por meio da secreção de interleucina 1B (IL-1B) (42). A vitamina D ainda está envolvida na regulação da expressão do HOXA 10, dentre outros genes envolvidos na implantação embrionária (41).

Quanto ao aspecto imunológico da implantação, a vitamina D tem importância na ativação da imunidade inata e na redução da síntese de citocinas, fator estimulador colonial 2 (CSF2), IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) pelas células *natural killer* (NK) (39,42).

Desse modo, os distúrbios do metabolismo da vitamina D poderiam estar associados à falha de implantação embrionária e ao abortamento. Para testar essa hipótese, foram avaliadas 133 mulheres com abortamento espontâneo recorrente (71). Destas, 47,4% tinham concentração sérica de vitamina D abaixo de 30 ng/ml. A prevalência de anticorpos antifosfolípidos (39,7%) estava aumentada de forma

significativa entre aquelas com baixas concentrações da vitamina em relação ao grupo com concentrações normais (22,9%). As prevalências de anticorpo antinuclear (OR 2.81), anti-ss DNA (OR 3.76) e antiperoxidase (OR 2.68) também se encontravam elevadas em relação ao grupo com concentração normal da vitamina D (71).

Além da imunidade humoral, a imunidade celular avaliada pela atividade das células NK também se mostrava desfavorável à implantação naquelas com baixas concentrações da vitamina. Neste mesmo estudo, a adição de vitamina D *in vitro*, foi capaz de reduzir de forma significativa a citotoxicidade das células NK. A secreção de interferon gama (IFN-g) e TNF- α das células NK diminuíram e as de IL-10, IL-1 β , fator de crescimento endotelial vascular, cresceram de forma significativa quando foi adicionada vitamina D em relação ao grupo controle. O autor concluiu que mulheres com abortamentos espontâneos recorrentes têm elevada ocorrência de deficiência de vitamina D e elevado risco de anormalidades no sistema auto e aloimune. Ademais, verificou-se que, “*in vitro*”, a vitamina D possui propriedades imunomoduladoras associadas a um processo de implantação embrionária favorável (71).

1.7 INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA D NOS RESULTADOS DA FERTILIZAÇÃO *IN VITRO* (FIV)

Considerando os diversos mecanismos em que a vitamina D pode influenciar no processo reprodutivo, incluindo a implantação embrionária, a relação entre a concentração de vitamina D e os resultados de fertilização *in vitro* (FIV) foi estudada em diversos trabalhos.

O primeiro trabalho, prospectivo, tentou correlacionar a concentração folicular de vitamina D com a qualidade embrionária e a taxa de gestação após 86 transferências embrionárias. Foram observados piores resultados quando a vitamina D encontrava-se acima de 30 ng/mL (72).

Em outro estudo prospectivo, 84 pacientes submetidas à fertilização *in vitro* tiveram a concentração de vitamina D no soro folicular correlacionada com a taxa de gestação e implantação embrionária. O resultado evidenciou melhor prognóstico em

pacientes com maiores concentrações da vitamina D (2). Por outro lado, no Iran, Aleyasin e colaboradores, estudaram 82 pacientes, assim como Firouzabadi e colaboradores, avaliaram 221 mulheres e em ambos os trabalhos não houve diferenças significativas quando os mesmos parâmetros foram avaliados (73,74).

Rudick e colaboradores, em 2012, publicaram o primeiro trabalho em que foi considerada a etnia das 188 mulheres estudadas nos Estados Unidos. Nos casos de mulheres brancas não hispânicas, quanto maior a concentração sérica da vitamina D, mais elevada foi a taxa de nascidos vivos. Nos casos de asiáticas, observou-se o inverso: a taxa de nascidos vivos caiu progressivamente com o aumento da vitamina D. Para mulheres brancas hispânicas, não houve correlação positiva ou negativa (3). Esses mesmos autores avaliaram o resultado de 99 pacientes submetidas a transferência embrionária com oócitos de doadora e encontrou maior taxa de gestação clínica e nascimento naquelas com maior concentração de vitamina D (4).

Recentemente, foi realizado na Itália um trabalho com 335 mulheres entre 18 e 42 anos e com índice de massa corpórea e reserva ovariana normais. A taxa de gravidez para mulheres com vitamina D abaixo de 20 ng/mL foi 20% e, para aquelas com vitamina D acima deste valor, foi 31%. O *odds ratio* ajustado foi 2.15 (95% CI: 1.23–3.77) (75).

O trabalho envolvendo o maior número de pacientes (n = 368) foi publicado em 2014 (76). Seu objetivo principal foi correlacionar a concentração sérica de vitamina D com taxa de gestação e taxa de nascidos vivos. Diferente dos outros trabalhos, a análise regressiva avaliou a interferência de fatores intervenientes como idade, número de tentativas anteriores de FIV, fator de infertilidade, protocolo de estímulo (agonista ou antagonista de GnRH), tipo e dose de gonadotrofina utilizada, dosagem de estradiol e de progesterona no dia do hCG, número de oócitos captados, tipo de procedimento (IVF ou ICSI), número e qualidade dos embriões transferidos, espessura endometrial e sazonalidade. Houve maior taxa de gestação e de nascidos vivos para ambas as variáveis nos casos em que a vitamina D estava acima de 20 ng/mL.

Com o intuito de investigar se a espessura endometrial era influenciada pela concentração sérica de vitamina D, estudamos 193 pacientes submetidas à hiperestimulação ovariana controlada para FIV. Coletamos a amostra para dosagem da vitamina D no dia da captação dos óvulos. Não houve diferença na espessura

endometrial entre os grupos com essa vitamina abaixo de 20 ng/mL, entre 20-30 ng/mL e acima de 30ng/mL (77).

1.8 PREVALÊNCIA DE HIPOVITAMINOSE D NO MUNDO

Durante a última década, observa-se uma epidemia global de deficiência de vitamina D. Em publicação que revisou 195 trabalhos sobre o status da vitamina D em mais de 168.000 participantes, em 44 países, foi observada a prevalência de deficiência de vitamina D (abaixo de 20 ng/mL) em 37,3% dos casos (78).

Foi observada uma diferença entre os valores de vitamina D encontrados nos Estados Unidos e na Europa. Uma das justificativas apontadas seria a rotineira fortificação de diversos alimentos com vitamina D, conferindo àquela população menor risco de deficiência da vitamina (78). Aliás, os Estados Unidos são o país com a menor ocorrência de deficiência de vitamina D (78). Neste país foi feito um estudo sobre a relação entre obesidade e hipovitaminose D. Foi justificada a deficiência de vitamina D na população obesa por sua propriedade de lipossolubilidade, que leva à diminuição da sua biodisponibilidade (79).

Enquanto isto, na Espanha, em uma pesquisa envolvendo 1.262 participantes de 20 a 83 anos, constatou-se que 33,9% da população apresentavam baixos níveis de vitamina D no organismo (80).

Embora a exposição regular à luz solar seja medida profilática contra a deficiência de vitamina D, alguns estudos mostram maior prevalência da hipovitaminose D em países de baixa latitude e tropicais do que em regiões com menor radiação solar (81). Fatores como hábitos culturais, hábitos alimentares, obesidade, envelhecimento e cor da pele podem explicar este fato (9).

Estudos epidemiológicos que avaliam o status da vitamina em diversos países europeus frequentemente encontram menor incidência da hipovitaminose em países escandinavos em relação aos do sul europeu. Nestes, mais ensolarados, a hipovitaminose D pode estar relacionada à dieta pobre em vitamina D (82). Naqueles, a menor incidência de hipovitaminose pode ser explicada pela costumeira dieta rica em peixes e óleo de bacalhau, e pelo hábito da utilização de suplemento de vitamina D pela população em geral (83).

Destaca-se ainda, outro fator importante para maior concentração sérica de vitamina D na população nórdica em relação à população do sul europeu: a diferença na pigmentação da pele (83). Outros autores afirmam que a maior concentração de melanina pode atuar como um filtro para a radiação UVB (79). A propósito, foi relatado que no meio-leste e norte da África a prevalência de deficiência de vitamina D varia de 30 a 90% (84). Outra pesquisa comparou mulheres idosas da Grécia, região com exposição solar regular, com as da Noruega, região com exposição solar insuficiente. Observou-se que 83% das gregas apresentaram deficiência de vitamina D (concentrações <12 ng/mL) *versus* 18% das mulheres norueguesas, diferença provavelmente explicada pelo hábito alimentar (85).

A etnia também pode explicar a diferença da prevalência de hipovitaminose entre os países. Em um estudo na Nova Zelândia com objetivo de avaliar a importância da etnia sobre a concentração de vitamina D, 503 voluntários de quatro continentes foram estudados. A etnia teve maior associação com a concentração sérica de vitamina D do que a cor da pele ou a exposição solar (86).

A sazonalidade em países europeus possui importante papel nos valores encontrados na dosagem da vitamina D e, conseqüentemente, no diagnóstico de deficiência da vitamina. Na Alemanha, enquanto no verão a prevalência de deficiência de vitamina D foi de 9,8% para homens entre 18 e 79 anos, no inverno, aumentou para 21,4% (87). Estudos realizados na Inglaterra e Dinamarca demonstram o mesmo efeito da sazonalidade sobre os níveis da vitamina D (88,89).

Em um estudo na Áustria com 1.002 indivíduos de ambos os sexos e agrupados em diferentes faixas etárias, observou-se pior status da vitamina D com o senescer. A menor taxa de deficiência de vitamina D encontrada foi de 28,2%, em mulheres de 18 a 64 anos, e a maior, de 44,4%, em homens de 65 a 80 anos (90).

Independente do país, existem grupos que são classificados como de risco para apresentar hipovitaminose. São eles: mulheres grávidas, nutrizes, crianças abaixo de 5 anos, idade maior ou igual a 65 anos, pessoas que não se expõem ao sol e aquelas com pele escura (91). Dentre os subgrupos de risco, os recém-nascidos e os idosos institucionalizados são os mais susceptíveis a apresentar esta deficiência (92).

A prevalência de hipovitaminose D também pode variar conforme o tipo de vestes comumente utilizadas por uma determinada população ou ao uso de protetor

solar (93). Estudos realizados em regiões de baixa latitude como no Oriente Médio demonstraram alta ocorrência de hipovitaminose D, variando de 50 a 97% da população. Estes dados estão relacionados ao hábito cultural do uso de roupas cobrindo todo o corpo (94).

Apesar da valiosa contribuição dos estudos acima citados para a determinação dos fatores que influenciam os níveis de vitamina D nas diversas populações, é importante destacar que não havia uniformidade na utilização de técnicas de aferição da dosagem de vitamina D entre estes pesquisadores. Isto prejudica a precisão da comparação dos achados. Deveria ser considerada como padrão-ouro a cromatografia líquida com espectrômetro de massa (95). Em 2010 foi criado o “Vitamin D Standardization Program” (VDSP), um programa que reuniu entidades de vários países com intuito de homogeneizar os parâmetros para análise e interpretação da dosagem da vitamina D (95).

1.9 PREVALÊNCIA DE HIPOVITAMINOSE D NO BRASIL

A literatura médica é escassa quanto à ocorrência de hipovitaminose D em populações de baixo risco no Brasil (96). Todavia, há estudos que ilustram as taxas de vitamina D na população de alguns estados brasileiros.

No estado de São Paulo, em 2007, Maeda e colaboradores analisaram 121 jovens voluntários de 17 a 33 anos e encontraram a média de $31,2 \pm 13,2$ ng/mL de vitamina D nesta amostra (97). Em outra publicação, em 2010, reportou em 99 praticantes de exercícios físicos ao ar livre, com idade média de 67 anos, a taxa de $31,6 \pm 12,4$ ng/mL de vitamina D (98). Saraiva e colaboradores, documentaram a ocorrência de hipovitaminose D em 71,2% de pacientes idosos internados e de 43,8% nos pacientes ambulatoriais, sendo que as mulheres apresentaram valores de vitamina D consideravelmente mais baixos que os homens (99). Lopes e colaboradores estudaram mulheres na pós-menopausa com e sem fraturas. As médias de idade daquelas sem e com fratura foram respectivamente de $72,1 \pm 4,4$ e $74,6 \pm 5,8$ anos. As médias de vitamina D foram $20,7 \pm 10,7$ e $16,9 \pm 8,2$ e a ocorrência de hipovitaminose D (menor do que 30 ng/mL) foi 82,3% e 93,65% para aquelas sem e com fratura (100).

No estado da Paraíba, em João Pessoa, um estudo com 91 idosos, em que a média de idade foi 69 ± 7 anos, apenas 4% apresentaram vitamina D abaixo de 20 ng/mL e 33% abaixo de 30 ng/mL (101).

Em Curitiba, Paraná, região sul do Brasil, um estudo avaliou 234 garotas de sete a dezoito anos. Desses, 90,6 % apresentaram vitamina D abaixo de 30 ng/mL e 63,7% abaixo de 20 ng/mL (102).

Em Recife, Pernambuco, região nordeste do Brasil, na análise de 284 homens com média de idade de 69,4 anos, observou-se a média de vitamina D de 28,0 ng/mL. A vitamina D em 31,5 % dos casos apresentava-se abaixo de 20 ng/mL e, em 66,7%, sua taxa encontrava-se abaixo de 30 ng/mL (103).

Em um artigo de revisão, o autor, após realizar uma compilação de estudos brasileiros sobre a prevalência de hipovitaminose D, concluiu que os fatores que parecem favorecer a presença de concentrações séricas mais baixas em nossa população seriam idade mais avançada, restrição a ambientes fechados, sedentarismo, ausência de suplementação oral de vitamina D, estação do ano (inverno e outono), residência em cidades distantes do litoral e em latitudes mais altas (96).

1.10 PREVALÊNCIA DE HIPOVITAMINOSE D EM MULHERES EM IDADE FÉRTIL

A ocorrência de hipovitaminose D exclusivamente no grupo de mulheres em idade reprodutiva foi pouco estudada.

Na Mongólia, foi reportada prevalência de 98,8% de deficiência de vitamina D na primavera em 420 mulheres entre 18 e 44 anos (104).

Nos Estados Unidos, foram observados em pacientes submetidas à FIV os seguintes resultados: 21% (39/188) das pacientes com deficiência de vitamina D, 37% (70/188) das pacientes com insuficiência de vitamina D e 42% das pacientes com concentração normal de vitamina D (3).

1.11 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Como a vitamina D participa de inúmeros processos dentro da complexa cadeia reprodutiva, é necessário averiguar se mulheres em idade fértil fazem parte de grupo de risco para hipovitaminose D; ainda mais se os fatores de infertilidade estariam associados à deficiência de vitamina D, presente ou não relação de causa-efeito.

A inclusão da dosagem sérica da vitamina D em protocolos de investigação e manejo da infertilidade poderia ser sugerida caso existisse uma proporção elevada de mulheres inférteis com deficiência de vitamina D. Se, por um lado, o real papel desta hipovitaminose como cofator de infertilidade feminina ainda não está esclarecido, por outro, existe consenso de que, nos casos de deficiência, seja prescrito suplementação medicamentosa e sejam feitas outras recomendações para prevenção de osteoporose.

Enquanto especialistas concordam que a concentração de vitamina D deve estar acima de 20 ng/mL para adequada saúde óssea, não está estabelecido parâmetro “ótimo” para saúde reprodutiva.

Tendo em vista que a vitamina D é um hormônio extremamente importante não apenas para o metabolismo ósseo, mas para diversos sistemas, e que as condições da vida moderna estão associadas ao aumento progressivo na prevalência da hipovitaminose, é necessário conhecer a prevalência da hipovitaminose D em cada região (105). Da mesma forma, deve-se identificar grupos de risco para deficiência da vitamina D.

Não encontramos, no Brasil, dados sobre a prevalência de hipovitaminose D em pacientes em idade fértil e nas mulheres diagnosticadas com infertilidade. Também não reconhecemos na literatura dados sobre o status da vitamina D na cidade de Brasília, Distrito Federal, Centro-Oeste Brasileiro.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar a frequência de hipovitaminose D em mulheres inférteis atendidas em uma clínica privada de reprodução assistida na cidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil.

2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Avaliar se a concentração sérica de vitamina D nas pacientes inférteis difere daquelas das mulheres sem queixas de infertilidade, como grupo controle;

Avaliar se a concentração sérica de vitamina D varia de acordo com o fator de infertilidade.

3 MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

O presente estudo é analítico, transversal, caso-controle, realizado com a coleta dos dados registrados entre primeiro de janeiro de 2012 a quinze de maio de 2012.

3.2 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo não conta com qualquer patrocínio, inclusive de laboratórios; portanto não há conflitos de interesse.

Os resultados da dosagem da vitamina D, assim como os dados do prontuário das pacientes, foram acessados somente pelo pesquisador e pela pesquisadora assistente. Este processo foi devidamente protocolado junto à plataforma Brasil e ao CEP. A tabela em documento Excel foi enviada para o orientador e estatístico responsável pela análise dos dados, utilizando código alfanumérico para preservar a identidade das pacientes.

Foi dispensado o termo de consentimento livre esclarecido, devido ao tipo de estudo: retrospectivo. O estudo foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição e do CEP do Hospital das Forças Armadas de Brasília (HFA), número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) - 37274714.5.0000.0025 (Anexo)

3.3 SUJEITOS

Foram incluídas no estudo todas as pacientes inférteis consultadas no Centro de Medicina Reprodutiva Instituto VERHUM que realizaram a dosagem de vitamina

D em um mesmo laboratório no período entre primeiro de janeiro de 2012 e quinze de maio de 2012, e que constituíram o grupo infértil.

O grupo controle foi formado por mulheres entre 30 e 45 anos atendidas nesta mesma clínica sem queixas de infertilidade e que realizaram o exame nesse mesmo período, no mesmo laboratório. Trata-se de mulheres que consultaram uma profissional que de forma rotineira solicita a dosagem de vitamina D para todas as suas pacientes.

Foram excluídas do estudo as mulheres que estavam repondo vitamina D ou utilizando medicamentos que pudessem interferir na absorção/excreção ou dosagem da mesma.

3.4 PROCEDIMENTO

3.4.1 Realização da dosagem da vitamina D

A dosagem da vitamina D foi realizada logo após a primeira consulta para todas as pacientes inférteis em investigação ou antes de iniciar o tratamento de inseminação intrauterina ou fertilização *in vitro* no centro privado de reprodução assistida em Brasília-DF.

3.4.2 Técnica da medição da vitamina D

A medição da 25(OH) D foi realizada no equipamento LIAISON® por metodologia de quimioluminescência. Tem intervalo de medição entre 4,0 e 150 ng/mL. As amostras com valores abaixo de 4,0 ng/mL foram liberadas como menor de 4,0 ng/mL e as amostras acima de 150 ng/mL foram diluídas e no laudo colocou-se a observação que a amostra foi diluída.

3.5 DEFINIÇÕES DAS VARIÁVEIS

3.5.1 Fator de Infertilidade

Considerou-se infértil o casal que não obteve gestação após o período de um ano de relações sexuais desprotegidas, com frequência regular. Considerou-se infertilidade primária se nunca concebeu ou secundária no caso em que já houve gestação.

A classificação da etiologia da infertilidade foi baseada nos critérios seguintes:

3.5.1.1 Fator masculino

Considerou-se infertilidade por fator masculino aqueles casos em que a análise seminal apresentou padrão anormal em pelo menos duas ocasiões (106).

3.5.1.2 Baixa reserva ovariana

Quando a contagem de folículos antrais resultou, após a soma dos dois ovários, em número menor que 11 na ultrassonografia transvaginal realizada na própria clínica entre o segundo e quinto dia do ciclo menstrual (107).

3.5.1.3 Síndrome dos ovários policísticos

Para diagnosticar SOP segundo o consenso de Rotterdam, revisão 2012 (108,109), teria a presença de pelo menos dois dos seguintes critérios: oligo/anovulação; sinais clínicos e/ou bioquímicos de hiperandrogenismo; ovários

policísticos na ultrassonografia com a presença de 12 ou mais folículos em pelo menos um ovário, medindo de 2-9 mm de diâmetro e/ou aumento do volume ovariano ($>10 \text{ cm}^3$).

3.5.1.4 Fator tubo-peritoneal

Foram consideradas possuidoras deste fator aquelas mulheres com história de laqueadura tubária ou histerossalpingografia ou videolaparoscopia evidenciando obstrução tubária ou aderências tubo-peritoneais.

3.5.1.5 Endometriose

Pacientes com diagnóstico de endometriose confirmado por vídeo-laparoscopia e/ou com pelo menos duas ecografias transvaginais, com intervalo maior que 30 dias entre elas, apresentando imagem de cisto ovariano contendo debrís, sugestivo de endometrioma. Foram consideradas mulheres sem endometriose aquelas em que a vídeo-laparoscopia não evidenciou a presença da patologia.

3.5.1.6 Múltiplos

Quando o casal apresentou mais de um fator de infertilidade.

3.5.1.7 Infertilidade sem causa aparente (ISCA)

Os casais que completaram toda a investigação para diagnóstico de

infertilidade e não apresentaram evidência de quaisquer dos fatores acima.

3.5.2 Definições das concentrações da vitamina D

Foi considerada deficiência de vitamina D quando a dosagem da mesma encontrava-se abaixo de 20 ng/mL, insuficiência entre 20 e 30 ng/mL e concentração normal quando maior que 30 ng/mL (95).

3.5.3 Cálculo da prevalência dos fatores de infertilidade

Foi calculada a prevalência de cada fator de infertilidade, de forma isolada e associada a outros fatores, apenas nos casos de investigação completa.

3.6 COLETA DOS DADOS

O prontuário eletrônico das pacientes foi utilizado como base para a coleta de dados do estudo. Foram analisados os dados da anamnese, exame físico e exames complementares em busca da etiologia da infertilidade. Os dados foram introduzidos na tabela do Excel e armazenados com identificação alfanumérica resguardando a identidade dos indivíduos.

3.7 ANÁLISES DOS DADOS

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software STATA, Statacorp para Windows.

3.7.1 Variáveis de interesse

As variáveis de interesse estudadas foram: idade, fator de infertilidade e concentração sérica de vitamina D.

3.7.2 Análise estatística dos dados

As variáveis contínuas foram avaliadas com suas médias e desvio-padrão.

3.7.2.1 Comparação entre as médias das concentrações séricas de vitamina D do grupo de mulheres inférteis e do grupo controle

Foi utilizada a média da concentração sérica da vitamina D de todas as pacientes inférteis, independente se tinham investigação completa ou não, comparada com o grupo controle. Aplicou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

3.7.2.2 Comparação entre a prevalência de deficiência de vitamina D dentre o grupo de inférteis e o grupo controle

Foram analisadas todas as pacientes inférteis, independente se tinham investigação completa ou não, comparada com o grupo controle. Foi utilizado o teste de qui quadrado.

3.7.2.3 Estudo da associação entre as concentrações de vitamina D e a idade

Foi utilizado teste de regressão logística de multivariáveis e calculado o *odds ratios* (OR) e o intervalo de confiança de 95%. Tanto a vitamina D quanto a idade foram considerados variáveis quantitativas contínuas.

3.7.2.4 Comparação entre a média da concentração sérica de vitamina D das pacientes inférteis de acordo com o fator de infertilidade

Foram utilizadas apenas as médias das concentrações séricas da vitamina D das pacientes que tinham a investigação completa e que tinham apenas um fator de infertilidade presente. Foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal Wallis.

3.7.2.5 Comparação entre a média da concentração sérica de vitamina D das pacientes inférteis com investigação completa de acordo com o fator de infertilidade em relação ao grupo controle

Foram avaliadas em relação ao grupo controle, as médias das concentrações séricas de vitamina D das pacientes inférteis com investigação completa, mesmo que presentes múltiplos fatores de infertilidade. Aplicou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

3.7.2.6 Comparação entre a média da concentração sérica de vitamina D, quando presente um determinado fator de infertilidade, em relação ao grupo infértil

Nessa análise, somente foram utilizados os casos em que a investigação tinha sido completa, independente se o fator de infertilidade em questão estivesse

associado a outros. Aplicou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para análise dos dados.

3.7.2.7 Comparação entre a média das concentrações séricas de vitamina D nas pacientes com ou sem endometriose

Para esta análise, todas as pacientes submetidas à vídeo-laparoscopia foram incluídas, mesmo quando não havia investigação completa. Aplicou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para análise dos dados.

4 RESULTADOS

Foram avaliadas 369 mulheres em idade fértil, de 21 a 47 anos. Essas mulheres foram divididas em dois grupos: 232 mulheres inférteis e 137 mulheres sem queixas de infertilidade (grupo controle). As médias de idade das 232 mulheres inférteis ($35,5 \pm 4,6$ anos) e do grupo controle ($36,5 \pm 4,3$ anos) foram semelhantes ($p = 0,10$).

Das 232 mulheres inférteis, 116 (50%) e o respectivo companheiro realizaram a avaliação completa. As frequências dos fatores de infertilidade presentes de forma isolada ou associada a outros, nesses casais com investigação completa, encontram-se na tabela 1. Observa-se que o fator mais frequente como causa isolada foi o fator masculino (12,6%). Contudo, quando presentes outros fatores associados, as frequências são semelhantes para fator masculino (30,2%), tubo-peritoneal (28,5%) e diminuição da reserva ovariana (27,6%). Não foi encontrada a causa de infertilidade em 22,4% dos casais. Em 35 casais (30,2%) havia a associação de fatores masculino e feminino.

Tabela 1 - Frequências dos fatores de infertilidade presentes de forma isolada ou associada a outros fatores, em 116 casais que completaram toda a investigação

Fatores	Isolado n (%)	Associado n (%)
Masculino	15 (12,6)	35 (30,2)
Tubo-peritoneal	12 (10,1)	33 (28,5)
Baixa reserva ovariana	11 (9,2)	32 (27,6)
Síndrome dos ovários policísticos	12 (10,1)	21 (18,1)
Endometriose	3 (2,5)	11 (9,2)
Infertilidade sem causa aparente	26 (22,4)	----

A distribuição das mulheres de acordo com a concentração sérica de vitamina D encontra-se na tabela 2. As avaliações das concentrações de 25 (OH) D nas 369 mulheres mostraram que 81,1% delas apresentaram algum grau de hipovitaminose D. Dentre as 232 mulheres inférteis, 192 (81,9%) apresentaram algum grau de hipovitaminose D. Os valores variaram de 9,8 a 55 ng/mL.

No grupo controle, observou-se que 79,6% delas apresentaram algum grau

de hipovitaminose D. Os valores variaram de 7,7 a 48 ng/mL.

Tabela 2 - Distribuição da amostra de acordo com a concentração sérica de vitamina D

Amostra	Vitamina D (ng/mL)		
	< 20* n (%)	20-30 † n (%)	>30 ‡ n (%)
Grupo infértil (n=232)	70 (30,2%)	120 (51,7%)	42 (18,1%)
Grupo controle (n=137)	48 (35%)	61 (44,6%)	28 (20,4%)
Total (n=369)	118(32%)	181 (49,1%)	70 (18,9%)

n- número de mulheres. Teste de Chi-quadrado = 0.41 *Deficiência, †insuficiência e ‡concentração normal de vitamina D.

Não houve diferença entre a prevalência de deficiência de vitamina D nas pacientes inférteis e no grupo controle ($p = 0,33$). Não se observaram diferenças significativas ($p = 0,51$) entre as médias das concentrações da vitamina D entre os grupos de inférteis ($24,3 \pm 7,9$ ng/mL) e controles ($23,8 \pm 8,7$ ng/mL).

Não houve diferença nas concentrações séricas de vitamina D entre os grupos, após o ajuste de idades (OR=0,87; 95% CI 0,51-1,49).

As médias das concentrações séricas de vitamina D, de acordo com o fator de infertilidade, nos casos em que havia apenas um fator de infertilidade presente, dentre os 116 casais com investigação completa, encontram-se na tabela 3. Observa-se que não houve diferença nas médias das concentrações séricas de vitamina D, quando comparados os fatores de infertilidade entre si.

Tabela 3 - Comparação das médias das concentrações séricas de vitamina D (ng/mL), entre os fatores de infertilidade, nos casos em que havia apenas um fator de infertilidade presente, dentre os casais inférteis com investigação completa

Fatores de infertilidade	Vitamina D (ng/mL)		P [‡]
	Média ± DP* (n)	Média ± DP [†] (n)	
Masculino vs tubo-peritoneal	26,2 ± 9,2 (15)	22,0 ± 6,2 (12)	0,34
Masculino vs baixa reserva ovariana	26,2 ± 9,2 (15)	23,8 ± 8,6 (12)	0,46
Masculino vs SOP [§]	26,2 ± 9,2 (15)	23,3 ± 6,4 (13)	0,55
Masculino vs infertilidade sem causa aparente	26,2 ± 9,2 (15)	23,3 ± 8,6 (26)	0,37
Tubo-peritoneal vs baixa reserva ovariana	22,0 ± 6,2 (12)	23,8 ± 8,6 (12)	0,73
Tubo-peritoneal vs SOP [§]	22,0 ± 6,2 (12)	23,3 ± 6,4 (13)	0,77
Tubo-peritoneal vs infertilidade sem causa aparente	22,0 ± 6,2 (12)	23,3 ± 8,6 (26)	0,83
Baixa reserva ovariana vs SOP [§]	23,8 ± 8,6 (12)	23,3 ± 6,4 (13)	0,85
Baixa reserva ovariana vs infertilidade sem causa aparente	23,8 ± 8,6 (12)	23,3 ± 8,6 (26)	0,99
SOP [§] vs infertilidade sem causa aparente	23,3 ± 6,4 (13)	23,3 ± 8,6 (26)	0,92

n – número de pacientes. [§]SOP – síndrome dos ovários policísticos.

*Média e desvio-padrão (DP) da vitamina D daquelas que apresentavam o primeiro fator de infertilidade mencionado na primeira coluna; [†]Média e desvio-padrão da vitamina D daquelas que apresentavam o segundo fator de infertilidade mencionado na primeira coluna;

[‡]Valor p após aplicação do teste de Kruskal-Wallis.

Na tabela 4 são apresentadas as comparações da média da concentração da vitamina D do grupo controle com aquelas das mulheres inférteis, com investigação completa, de acordo com o fator envolvido. Observa-se que não ocorreram diferenças significativas.

Tabela 4 - Comparação da média da concentração sérica de vitamina D de mulheres inférteis com investigação completa de acordo com o fator da infertilidade com aquela do grupo controle

Fatores de infertilidade	n	Vitamina D (ng/mL)	
		Média ± DP	p*
Masculino	35	26,4±9,2	0,15
Tubo-peritoneal	33	23,9 ±7,3	0,75
Baixa reserva ovariana	32	24,7±7,5	0,48
Síndrome dos ovários policísticos	21	25,2±8,7	0,46
Infertilidade sem causa aparente	26	23,3±8,6	0,83
Endometriose	11	27,0±9,4	0,27
Controle	137	23,8±8,7	-

n – número de pacientes. DP – desvio-padrão.* Teste de Kruskal-Wallis

Na tabela 5, são apresentadas as comparações entre as médias de vitamina D de mulheres com cada um dos fatores de infertilidade e as outras mulheres inférteis que não são possuidoras daquele fator. Pode-se observar que não houve diferença significativa entre as concentrações de vitamina D com qualquer grupo examinado: fator masculino ($p = 0,21$), tubo-peritoneal ($p = 0,76$), baixa reserva ovariana ($p = 0,89$), síndrome dos ovários policísticos ($p = 0,67$), infertilidade sem causa aparente ($p = 0,43$).

Tabela 5 - Comparação entre a média da concentração sérica de vitamina D(ng/mL) de mulheres inférteis com cada fator da infertilidade e aquelas sem aquele fator

Fator da infertilidade	n	Vitamina D (ng/mL) Média ± DP	p *
Masculino			
Com	35	26,8 ± 8,6	0,21
Sem	81	23,7 ± 7,6	
Tubo-peritoneal			
Com	33	23,9 ± 7,3	0,76
Sem	83	24,6 ± 8,5	
Baixa reserva ovariana			
Com	32	24,7 ± 7,5	0,89
Sem	84	24,5 ± 8,5	
Síndrome dos ovários policísticos			
Com	21	25,2 ± 8,7	0,67
Sem	95	24,4 ± 8,1	
Infertilidade sem causa aparente			
Com	26	23,3 ± 8,6	0,43
Sem	90	24,9 ± 8,1	

DP – desvio-padrão. * Teste de Kruskal-Wallis

Não houve diferença ($p=0,81$) nas concentrações médias de vitamina D entre as 21 mulheres com ($25,2 \pm 7,9$ ng/mL) e 25 sem endometriose ($25,1 \pm 8,5$ ng/mL).

5 DISCUSSÃO

No presente estudo constatamos que somente 18,9% das mulheres apresentavam concentração sérica de vitamina D dentro da normalidade, ou seja, acima de 30 ng/mL. Quase um terço de todas as mulheres avaliadas (32%) apresentava concentração de vitamina D abaixo de 20 ng/mL. Observou-se, também, que não houve diferença significativa entre as médias da vitamina D das mulheres inférteis e aquelas controles ($p = 0,51$). Quando se comparou as médias das concentrações de vitamina D de pacientes inférteis com o grupo controle, estratificando por fatores de infertilidade, também não foi encontrada diferença estatística. A média de idade das mulheres inférteis foi semelhante ao do grupo controle. Não houve influência da idade quando comparadas as concentrações de vitamina D entre os grupos.

Em idosos, torna-se mais comum a hipovitaminose D pela ingesta pobre dessa vitamina, menor exposição solar, menor capacidade dérmica em formar a vitamina D e, em consequência, maior frequência de hiperparatireoidismo secundário à deficiência da vitamina D (110). No entanto, tendo em vista a pequena variação de idade em nosso estudo, ou seja, todas as mulheres estavam na menacme, não foi observada influência da idade sobre a concentração sérica de vitamina D nos grupos.

No presente estudo, a prevalência de mulheres com deficiência de vitamina D, em idade fértil, mas sem queixas de infertilidade foi 35,0%. Esse dado condiz com a prevalência de 36% de deficiência da vitamina D na população geral dos EUA (111). Também é semelhante àquela na cidade de Porto Alegre, sul do Brasil, onde reportaram, em 234 garotas de sete a oito anos, deficiência de vitamina D em 36,3% e insuficiência em 54,3% delas (102). Porém, é maior do que a de 22,7% no sul da Austrália (112). Contudo, nenhum desses estudos teve frequência maior que na Mongólia. Em pesquisa com 420 mulheres em idade reprodutiva (18 a 44 anos), realizada na primavera, 415 (98,8%) apresentavam concentrações de vitamina D menores de 20 ng/mL e apenas uma (0,2%) tinha concentração acima de 30 ng/mL. (104)

O Brasil é um país tropical, onde a localização favorece a exposição a luz solar, principal fator responsável pela homeostase da vitamina D. Era de se esperar,

portanto, que houvesse menor prevalência de hipovitaminose D. Porém, no Brasil, a dieta usualmente é pobre em vitamina D e a suplementação com preparos multivitamínicos é rara (103). Outros possíveis fatores responsáveis pela alta prevalência de deficiência de vitamina D no grupo estudado poderia ser a mudança do estilo de vida com redução da exposição solar ou uso de protetor solar (113). Contudo, a poluição ambiental, que é também descrita por esses últimos autores como causa de deficiência de vitamina D, provavelmente não é o caso no estudo atual porque em Brasília isso não é importante.

Vale ressaltar que a população brasileira é miscigenada, com a mistura de descendentes africanos, índios e europeus. Sabe-se que a melatonina presente na pele, age como protetor solar natural, absorvendo a radiação ultravioleta (UVB), e pessoas com pigmentação mais escura da pele necessitam de maior tempo de exposição ao sol para sintetizar a mesma quantidade de vitamina D do que pessoas mais claras (114). A importância da etnia na concentração de vitamina D foi avaliada em uma pesquisa com 2.972 mulheres em idade reprodutiva nos Estados Unidos. Foi detectado prevalência de deficiência de vitamina D em descendentes africanas de $42,4 \pm 3,1\%$ e em brancas de $4,2 \pm 0,7\%$ (115). No presente estudo, não foi possível avaliar esse fator, já que a etnia das mulheres não foi considerada como variável de interesse.

No grupo de mulheres inférteis, 70 pacientes (30,2%) apresentaram deficiência de vitamina D. Em estudos envolvendo pacientes submetidas à fertilização *in vitro*, a prevalência de deficiência de vitamina D apresenta grande variação, de 21% e 27% nos EUA, de 30,6% na Grécia, 45,9% na Itália, atingindo quase a totalidade no Iran 98,8% (2,3,72,73,75). O fato de mulheres inférteis apresentarem diferentes concentrações de vitamina D em países distintos é esperado, já que a etnia tem grande relevância tanto na ingestão, quanto no metabolismo desta vitamina (116).

As médias das concentrações séricas de vitamina D nas pacientes inférteis no atual trabalho foram semelhantes àsquelas do grupo controle, mas ambas estavam com concentrações abaixo de 30 ng/mL, que é o limite mínimo recomendado pelas sociedades de endocrinologia americana e brasileira (15,96). Para nosso conhecimento, não há publicação a respeito da prevalência de deficiência de vitamina D em pacientes inférteis em Brasília ou no Brasil.

Em estudo realizado em Pernambuco com 894 indivíduos acima de 18 anos,

em que a média de idade foi $58,1 \pm 12,0$ anos, a concentração média de vitamina D foi $26,0 \pm 10,3$ ng/mL e a prevalência de deficiência de vitamina D foi 28,5% (117). Em outro estudo, realizado em 121 indivíduos mais jovens na cidade de São Paulo, a média de idade e de concentração de vitamina D foram, respectivamente, de 24,7 anos e 31,5 ng/mL (97). Nessa mesma cidade, em grupo de idosos no inverno, a média de idade e da concentração de vitamina D foram, respectivamente, 79,1 anos e 11,6 ng/mL (118). Essas variações das concentrações de vitamina D poderiam ser justificadas pela diferença da idade entre os investigados em cada estudo e pela sazonalidade. No presente estudo, a sazonalidade não influenciou nos resultados, tendo em vista que o exame foi realizado durante o verão e outono.

Quando se compararam as concentrações de vitamina D entre as mulheres inférteis dos casais onde apenas um fator de infertilidade estava presente, não se observaram diferenças entre os fatores de infertilidade. Destaca-se que, dentre as causas de infertilidade, a maior concentração de vitamina D estava naquelas em que não havia nenhum indício de infertilidade feminina, ou seja, toda a investigação da mulher foi negativa e do esposo positiva ($26,2 \pm 9,2$ ng/mL). A maior diferença da concentração de vitamina D, de acordo com o fator de infertilidade, foi nos casos de fator tubo-peritoneal ($22,0 \pm 6,2$ ng/mL) e fator masculino ($26,2 \pm 9,2$ ng/mL), mas mesmo nesses casos, não houve diferença estatística (tabela 3).

Não temos conhecimento de publicações associando infertilidade por fator tubo-peritoneal, infertilidade sem causa aparente, ou redução da reserva ovariana com hipovitaminose D. Contudo, em relação à síndrome dos ovários policísticos e à endometriose, existem algumas características que merecem ser discutidas.

Existem resultados conflitantes com as dosagens de vitamina D nas mulheres com SOP. Em estudo com 192 mulheres escolares, entre 16 e 20 anos de idade, realizado no Iran, a média da concentração sérica foi $9,7 \pm 4,8$ ng/mL naquelas com SOP e $12,3 \pm 11,9$ ng/mL no grupo controle ($p = 0,04$) (119). Sabe-se que a prevalência de hipovitaminose D é elevada devido ao uso da indumentária característica das mulheres do islamismo. Não encontramos diferença na concentração sérica de vitamina D nas pacientes inférteis com esse diagnóstico, quando comparada às outras causas de infertilidade ou ao grupo controle. No entanto, vários trabalhos na literatura associam a hipovitaminose D à síndrome de ovários policísticos (1). Ressaltamos então, que a concentração de vitamina D encontrava-se baixa nas pacientes com síndrome de ovários policísticos ($25,2 \pm 8,7$

ng/mL).

Alguns autores sugerem que a associação de deficiência de vitamina D com a SOP ocorreria apenas nas mulheres obesas (120,121). No entanto, em outro estudo, a hipovitaminose D esteve associada à resistência insulínica, independente do índice de massa corpórea (68). No atual estudo, não foi possível avaliar a associação de obesidade nas mulheres com SOP com a hipovitaminose D, já que o índice de massa corpórea das pacientes não foi uma variável de interesse na avaliação.

Dados da literatura indicam que a reposição da vitamina D diminui a resistência insulínica e melhora a regularidade menstrual (65,66,122). Acrescenta-se o fato de que a deficiência de vitamina D pode estar associada a menor taxa de gestação e diminuição da resposta ovariana, em ciclos induzidos com citrato de clomifeno (123). Em outro estudo, envolvendo pacientes inférteis com síndrome de ovários policísticos, realizado no Iran, a concentração média de vitamina D foi $13,38 \pm 6,48$ ng/mL. A suplementação com cálcio e vitamina D em pacientes em uso de metformina, estava associada a maior perda de peso, melhora da maturação folicular, do padrão menstrual e do hiperandrogenismo, em relação àquelas que utilizaram apenas metformina (124). Esses dados mostram a importância da pesquisa e tratamento da hipovitaminose D nas mulheres inférteis com síndrome dos ovários policísticos.

As mulheres inférteis com diagnóstico de endometriose, nesta pesquisa, formavam um grupo pequeno, de vinte e uma pacientes. Dessas, onze completaram toda a investigação e apenas três não tiveram nenhum outro diagnóstico de infertilidade. Nessas mulheres com endometriose, em relação às outras causas de infertilidade e ao grupo controle, não ocorreram diferenças nas concentrações séricas da 25(OH) D. Esse dado está de acordo com outro trabalho, mas diverge daquele de Somigliana e colaboradores, que encontraram maior concentração de 25(OH) D em mulheres com endometriose, além da associação direta com a gravidade da doença (33,125). Nessa última pesquisa, houve maior concentração também de 1,25 (OH) D, mas sem diferença estatística. Já em outro estudo, encontrou-se maior concentração de 1,25(OH) D em mulheres com endometriose, sem diferença com relação a 25(OH) D, demonstrando a controvérsia sobre o assunto (126).

Quando comparadas as médias de vitamina D de mulheres com determinado

fator de infertilidade com as outras mulheres que não são possuidoras daquele fator, não houve diferença. Esse fato demonstra que, por ser possuidora de algum dos fatores de infertilidade investigado, não se encontra em risco para ter hipovitaminose D, em relação às outras mulheres inférteis.

Recomenda-se que as mulheres inférteis de 36 anos ou mais sejam referendadas a centros especializados (127). Essa recomendação está condizente com a idade média das pacientes inférteis investigadas nesta pesquisa ($35,5 \pm 4,6$ anos), no instituto VERHUM, centro de referência em infertilidade e reprodução assistida em Brasília.

Entre os casais investigados na presente casuística, apenas 50,2% fizeram investigação completa. Isso porque tiveram sua causa de infertilidade avaliada e tratada no início ou desistiram da investigação por algum motivo. Isso é comum como mostra estudo chinês, no qual oitenta casais jovens investigados em clínica de infertilidade, 73% das mulheres completaram a investigação e, entre os homens, este percentual foi 46% (128). Os resultados aqui apresentados em relação às causas de infertilidade têm semelhança com as causas encontradas nesse estudo chinês e em outro realizado na Inglaterra (129). Contudo, algumas poucas variações nos percentuais de cada causa foram encontradas. O fator tubáreo foi semelhante entre a atual casuística (28,5%) e a chinesa (27,6%), mas ambas foram um pouco maior que a inglesa (20%) (128,129). Contudo, a infertilidade sem causa aparente foi menor no estudo Chinês (17%) em relação à atual casuística (22,4%) e ao estudo inglês (25%). O fator masculino foi semelhante entre o atual estudo (30,2%) e o inglês (30%), mas um pouco inferior ao do trabalho chinês (37,8%). A síndrome dos ovários policísticos foi presente um pouco mais (18,1%) na atual investigação que em relação àquela chinesa (12,1%). A associação de fatores masculino e feminino foi semelhante no atual estudo (30,2%) e no chinês (26%), mas foi inferior àquela da Inglaterra (40%) (128,129).

Enquanto especialistas concordam que a concentração sérica de vitamina D deve estar acima de 20 ng/mL para adequada saúde óssea, não está estabelecido um limite mínimo para saúde reprodutiva. Portanto, devida à alta proporção de mulheres inférteis com deficiência de vitamina D, sugerimos a inclusão da dosagem sérica desta vitamina em protocolos de investigação de infertilidade. Se por um lado, o real papel dessa hipovitaminose como cofator de infertilidade feminina ainda não está esclarecido, por outro existe consenso de que, nos casos de deficiência, seja

prescrito suplementação medicamentosa e outras recomendações para prevenção de osteoporose.

6 CONCLUSÃO

Concluimos que existe alta prevalência de hipovitaminose D em mulheres inférteis, que consultaram uma clínica de reprodução assistida na cidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil. Destas, quase um terço apresentavam concentrações de vitamina D abaixo de 20 ng/mL.

Não houve diferença na média das concentrações séricas entre as mulheres inférteis avaliadas e das mulheres sem esta queixa. Tampouco houve diferença na média da concentração da vitamina D quando os fatores de infertilidade foram comparados entre si ou entre o grupo de mulheres sem queixa de infertilidade.

REFERÊNCIAS

1. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Mechanisms In Endocrinology: Vitamin D and fertility: a systematic review. *Eur J Endocrinol* 2012; 166(5): 765-78.
2. Ozkan S, Jindal S, Greenseed K, Shu J, Zeitlian G, Hickmon C, Pal L. Replete vitamin D stores predict reproductive success following in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2010; 94(4): 1314-19.
3. Rudick B, Ingles S, Chung K, Stanczyk F, Paulson R, Bendikson K. Characterizing the influence of vitamin D levels on IVF outcomes. *Hum Reprod* 2012; 27(11): 3321-27.
4. Rudick BJ, Ingles SA, Chung K, Stanczyk FZ, Paulson RJ, Bendikson KA. Influence of vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes indonor-recipient cycles. *Fertil Steril* 2014; 101(2): 447–52.
5. Sunn KL, Cock TA, Crofts LA, Eisman JA, Gardiner EM. Novel N-terminal variant of human VDR. *Mol Endocrinol* 2001; 15(9): 1599-609.
6. Lanham-New SA, Buttriss JL, Miles LM, Ashwell M, Berry JL, Boucher BJ, et al. Proceedings of the rank forum on vitamin D. *Br J Nutr* 2011; 105(01): 144-56.
7. Ashwell M, Stone EM, Stolte H, Cashman KD, Macdonald H, Lanham-New S, Hiom S, Webb A, Fraser D. UK Food Standards Agency Workshop Report: an investigation of the relative contributions of diet and sunlight to vitamin D status. *Br J Nutr* 2010; 104(04): 603-11.
8. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(9): 684-700.
9. Premaor MO, Furlanetto TW. Vitamin D deficiency in adults: to better understand a new presentation of an old disease. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2006; 50(1): 25-37.
10. Wallis DE, Penckofer S, Sizemore GW. Contemporary Reviews in Cardiovascular Medicine. *Circulation* 2008; 118: 1476-85.
11. Nissen J, Vogel U, Ravn-Haren G, Andersen EW, Madsen KH, Nexø BA, et al. Common variants in CYP2R1 and GC genes are both determinants of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations after UVB irradiation and after consumption of vitamin D₃-fortified bread and milk during winter in Denmark. *Am J Clin Nutr* 2015; 101(1): 218-27.

12. Dhesi JK, Bearne LM, Moniz C, Hurley MV, Jackson SHD, Swift CG, et al. Neuromuscular and psychomotor function in elderly subjects who fall and the relationship with vitamin D status. *J Bone Miner Res* 2002; 17(5): 891-97.
13. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357(3): 266-81.
14. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(1): 53-8.
15. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(7): 1911-30.
16. Autier P, Boniol M, Pizot C, Mullie P. Vitamin D status and ill health: a systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2(1): 76-89.
17. Chowdhury R, Kunutsor S, Vitezova A, Oliver-Williams C, Chowdhury S, Kieffe-de-Jong JC, et al. Vitamin D and risk of cause specific death: systematic review and meta-analysis of observational cohort and randomised intervention studies. *BMJ* 2014; 348: g1903.
18. Theodoratou E, Tzoulaki I, Zgaga L, Ioannidis JP. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *BMJ* 2014; 348: g2035.
19. Welsh P, Sattar N. Vitamin D and chronic disease prevention. *BMJ*. 2014; 348: g2280.
20. Corbett ST, Hill O, Nangia AK. Vitamin D receptor found in human sperm. *Urology* 2006; 68(6): 1345-49.
21. Blomberg JE, Nielsen JE, Jorgensen A, Rajpert-De Meyts E, Kristensen DM, Jorgensen N, Leffers, H. Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract. *Hum reprod* 2010; 25(5): 1303-11.
22. Aquila S, Guido C, Perrotta I, Tripepi S, Nastro A, Andò S. Human sperm anatomy: ultrastructural localization of 1α , 25 dihydroxyvitamin D₃ receptor and its possible role in the human male gamete. *J Anat* 2008; 213(5): 555-64.
23. Aquila S, Guido C, Middea E, Perrotta I, Bruno R, Pellegrino M, et al. Human male gamete endocrinology: 1α , 25-dihydroxyvitamin D₃ ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) regulates different aspects of human sperm biology and metabolism. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7: 140.

24. Blomberg Jensen M, Bjerrum PJ, Jessen TE, Nielsen JE, Joensen UN, Olesen IA, et al. Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2011; 26: 1307–17.
25. Ramlau-Hansen CH, Moeller UK, Bonde JP, Olsen J, Thulstrup AM. Are serum levels of vitamin D associated with semen quality? Results from a cross-sectional study in young healthy men. *Fertil Steril* 2011; 95: 1000–04.
26. Jensen MB. Vitamin D and male reproduction. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 10: 175–86.
27. Anagnostis P, Karras S, Goulis DG. Vitamin D in human reproduction: a narrative review. *Int J Clin Pract* 2013; 67(3): 225-35.
28. Luk J, Torrealday S, Perry GN, Pal L. Relevance of vitamin D in reproduction. *Hum Reprod* 2012; 27(10): 3015-27.
29. Friedrich M, Villena-Heinsen C, Axt-Fliedner R, Meyberg R, Tilgen W, Schmidt W, et al. Analysis of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in cervical tissue. *Anticancer Res* 2002; 22: 183-6.
30. Evans KN, Bulmer JN, Kilby MD, Hewison M. Vitamin D and placental-decidual function. *J Soc Gynecol Investig* 2004; 11: 263-71.
31. Becker S, Cordes T, Diesing D, Diedrich K, Friedrich M. Expression of 25 hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in human endometrial tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007; 103: 771-75.
32. Yildirim BN, Abban G, Rota S, Jetten A. Immunohistochemical detection and distribution of vitamin D receptor expression in vaginal epithelium treated with vitamin D3. *J Turkish-German Gynecol Assoc* 2007; 8: 33-37.
33. Agic A, Xu H, Altgassen C, Noack F, Wolfler MM, Diedrich K, et al. Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor, vitamin D 1a-hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reprod Sci* 2007; 14: 486–97.
34. Pérez-López FR. Sunlight, the vitamin D endocrine system, and their relationships with gynaecologic cancer. *Maturitas* 2008; 59: 101-13.
35. Parikh G, Varadinova M, Suwandhi P, Araki T, Rosenwaks Z, Poretsky L, et al. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. *Horm Metab Res* 2010; 42: 754–57.

36. Pérez-Fernandez R, Alonso M, Segura C, Muñoz I, Garcia-Caballero T, Diéguez C. Vitamin D receptor gene expression in human pituitary gland. *Life Sci* 1997; 60(1): 35-42.
37. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology* 2000; 141(4): 1317-24.
38. Zehnder D, Bland R, Williams MC, McNinch RW, Howie AJ, Stewart PM, et al. Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin d(3)-1 alpha-hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 888–94.
39. Adorini L. Immunomodulatory effects of vitamin D receptor ligands in autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol* 2002; 2(7): 1017-28.
40. Salle BL, Delvin EE, Lapillonne A, Bishop NJ, Glorieux FH. Perinatal metabolism of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(5 Suppl): 1317S-24S.
41. Salamonsen LA, Nie G, Dimitriadis E, Robb L, Findlay JK. Genes involved in implantation. *Reprod Fertil Dev* 2001; 13(1): 41-9.
42. Vigano P, Lattuada D, Mangioni S, Ermellino L, Vignali M, Caporizzo E, et al. Cycling and early pregnant endometrium as a site of regulated expression of the vitamin D system. *J Mol Endocrinol* 2006; 36(3): 415-24.
43. Bertone-Johnson ER, Chocano-Bedoya PO, Zagarins SE, Micka AE, Ronnenberg AG. Dietary vitamin D intake, 25-hydroxyvitamin D₃ levels and premenstrual syndrome in a college-aged population. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 434–37.
44. Sharan C, Halder SK, Thota C, Jaleel T, Nair S, Al-Hendy A. Vitamin D inhibits proliferation of human uterine leiomyoma cells via catechol-O-methyltransferase. *Fertil Steril* 2011; 95: 247–53.
45. Lasco A, Catalano A, Benvenga S. Improvement of primary dysmenorrhea caused by a single oral dose of vitamin D: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arch Intern Med* 2012; 172: 366–67.
46. Bertone-Johnson ER, Hankinson SE, Forger NG, Powers SI, Willett WC, Johnson SR, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of premenstrual syndrome in a prospective cohort study. *BMC Womens Health* 2014; 14(1): 56.
47. Shao T, Klein P, Grossbard ML. Vitamin D and breast cancer. *Oncologist* 2012; 17: 36–45.

48. Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O'Beirne M, Rabi DM. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ* 2013; 346: 1169.
49. Hossain N, Khanani R, Hussain-Kanani F, Shah T, Arif S, Pal L. High prevalence of vitamin D deficiency in Pakistani mothers and their newborns. *Int J Gynaecol Obstet* 2011; 12: 229–23.
50. Endometriosis and infertility: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012; 98 (3): 591 – 98.
51. Christofolini DM, Barbosa CP. Analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms in women with and without endometriosis. *Hum Immunol* 2011; 72: 359–63.
52. Adorini L. Intervention in autoimmunity: the potential of vitamin D receptor agonists. *Cell Immunol* 2005; 233(2): 115-24.
53. Mariani M, Viganò P, Gentilini D, Camisa B, Caporizzo E, Di Lucia P, et al. The selective vitamin D receptor agonist, elocalcitol, reduces endometriosis development in a mouse model by inhibiting peritoneal inflammation. *Hum Reprod* 2012; 27(7): 2010-19.
54. Sayegh L, Fuleihan GEH, Nassar, AH. Vitamin D in endometriosis: A causative or confounding factor? *Metabolism* 2014; 63(1): 32-41.
55. Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic b cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 486–94.
56. George PS, Pearson ER, Witham MD. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med* 2012; 29: 142–50.
57. Wehr E, Trummer O, Giuliani A, Gruber HJ, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D-associated polymorphisms are related to insulin resistance and vitamin D deficiency in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2011; 164(5): 741-49.
58. Ranjzad F, Mahban A, Shemirani AI, Mahmoudi T, Vahedi M, Nikzamir A, et al. Influence of gene variants related to calcium homeostasis on biochemical parameters of women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet* 2011; 28(3): 225-32.

59. Bagheri M, Rad IA, Jazani NH, Nanbakhsh F. Vitamin D receptor taql gene variant in exon 9 and polycystic ovary syndrome risk. *Int J Fertil Steril* 2013; 7(2): 116-21.
60. Mahmoudi T. Genetic variation in the vitamin D receptor and polycystic ovary syndrome risk. *Fertil Steril* 2009; 92: 1381–83.
61. Sander VA, Hapon MB, Sícáro L, Lombardi EP, Jahn GA, Motta AB. Alterations of folliculogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2011; 124(1): 58-64.
62. Panidis D, Balaris C, Farmakiotis D, Rouso D, Kourtis A, Balaris V, et al. Serum parathyroid hormone concentrations are increased in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Chem* 2005; 51(9): 1691-97.
63. Thys-Jacobs S, Donovan D, Papadopoulos A, Sarrel P, Bilezikian JP. Vitamin D and calcium dysregulation in the polycystic ovarian syndrome. *Steroids* 1999; 64: 430–5.
64. Rashidi B, Haghollahi F, Shariat M, Zayerii F. The effects of calcium-vitamin D and metformin on polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2009; 48: 142–7.
65. Wehr E, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Effect of vitamin D3 treatment on glucose metabolism and menstrual frequency in polycystic ovary syndrome women: a pilot study. *J Endocrinol Invest* 2011; 34(10): 757-63.
66. Selimoglu H, Duran C, Kiyici S, Ersoy C, Guclu M, Ozkaya G, et al. The effect of vitamin D replacement therapy on insulin resistance and androgen levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2010; 33(4): 234-8.
67. Ardabili HR, Gargari BP, Farzadi L. Vitamin D supplementation has no effect on insulin resistance assessment in women with polycystic ovary syndrome and vitamin D deficiency. *Nutr Res* 2012; 32(3): 195-201.
68. Wehr E, Pilz S, Schweighofer N, Giuliani A, Kopera D, Pieber TR, et al. Association of hypovitaminosis D with metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2009; 161(4): 575-82.
69. Barrera D, Avila E, Herna´ndez G, Me´ndez I, Gonza´lez L, Halhali A, et al. Calcitriol affects hCG gene transcription in cultured human syncytiotrophoblasts. *Reprod Biol Endocrinol* 2008; 6 (3): 1-8.

70. Barrera D, Avila E, Hernández G, Halhali A, Biruete B, Larrea F, et al. Estradiol and progesterone synthesis in human placenta is stimulated by calcitriol. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 529–32.
71. Ota K, Dambaeva S, Han AR, Beaman K, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity. *Hum Reprod*. 2014; 29: 208–19.
72. Anifandis GM, Dafopoulos K, Messini CI, Chalvatzas N, Liakos N, Pournaras S, et al. Prognostic value of follicular fluid 25-OH vitamin D and glucose levels in the IVF outcome. *Reprod Biol Endocrinol* 2010; 8: 91.
73. Aleyasin A, Hosseini MA, Mahdavi A, Safdarian L, Fallahi P, Mohajeri MR, et al. Predictive value of the level of vitamin D in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive technology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 159(1): 132-37.
74. Firouzabadi RD, Rahmani E, Rahsepar M, Firouzabadi MM. Value of follicular fluid vitamin D in predicting the pregnancy rate in an IVF program. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 289(1), 201-6.
75. Paffoni A, Ferrari S, Viganò P, Pagliardini L, Papaleo E, Candiani M, et al. Vitamin D deficiency and infertility: insights from in vitro fertilization cycles. *J Clin Endocrinol Metabol* 2014; 99(11): E2372-E6.
76. Polyzos N P, Anckaert E, Guzman L, Schiettecatte J, Van Landuyt L, Camus M, et al. "Vitamin D deficiency and pregnancy rates in women undergoing single embryo, blastocyst stage, transfer (SET) for IVF/ICSI. *Hum Reprod* 2014; 29(9): 2032-40.
77. Lopes VM, Brasileiro JPB, Roller M, Nolêto LGL, Duarte EF, Lopes JRC. Does the serum concentration of vitamin d impact in endometrial thickness in IVF Cycles? *JBRA Assist Reprod* 2014; 18(3): 110.
78. Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr* 2014; 111(01): 23-45.
79. Yanoff LB, Parikh SJ, Spitalnik A, Denkinger B, Sebring NG, Slaughter P, et al. The prevalence of hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in obese Black Americans. *Clin Endocrinol* 2006; 64(5): 523-29.
80. González-Molero I, Morcillo S, Valdés S, Pérez-Valero V, Botas P, Delgado E, et al. Vitamin D deficiency in Spain: a population-based cohort study. *Eur J Clin Nutr* 2011; 65(3): 321-8.

81. Bandeira F, Griz L, Dreyer P, Eufrazino C, Bandeira C, Freese E. Vitamin D deficiency: a global perspective. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2006; 50(4): 640-6.
82. Rodríguez SM, Beltrán DMB, Quintanilla ML, Cuadrado VC, Moreiras TO. The contribution of diet and sun exposure to the nutritional status of vitamin D in elderly Spanish women: the five countries study (OPTIFORD Project). *Nutr Hosp* 2007; 23(6): 567-76.
83. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, Dawson-Hughes B, Eisman JA. IOF Committee of Scientific Advisors (CSA) Nutrition Working Group. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int* 2009; 20(11): 1807-20.
84. Bassil D, Rahme M, Hoteit M, Fuleihan GEH. Hypovitaminosis D in the Middle East and North Africa: prevalence, risk factors and impact on outcomes. *Dermatoendocrinol* 2013; 5(2): 404 274-98.
85. Vander Wielen RPJ, Löwik MRH, Van Den Berg H, De Groot LCPMG, Haller J, Moreiras O, Van Staveren WA. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 1995; 346:207-10.
86. Nessvi S, Johansson L, Jopson J, Stewart A, Reeder A, McKenzie R, et al. Association of 25-hydroxyvitamin D3 levels in adult New Zealanders with ethnicity, skin color and self-reported skin sensitivity to sun exposure. *Photochem Photobiol* 2011; 87(5): 1173-78.
87. Hintzpeter B, Mensink GBM, Thierfelder W, Müller MJ, Scheidt-Nave C. Vitamin D status and health correlates among German adults. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62(9): 1079-89.
88. Bates B, Lennox A, Prentice A, Bates C, Page P, Nicholson S, Swan G, editors. National Diet and Nutrition Survey: Results from Years 1–4 (combined) of the Rolling Programme (2008/2009–2011/12). 1st edition (Public Health England, and Food Standards Agency). London: 2014.
89. Thuesen B, Husemoen L, Fenger M, Jakobsen J, Schwarz P, Toft U, et al. Determinants of vitamin D status in a general population of Danish adults. *Bone* 2012; 50(3): 605-10.
90. Austrian Nutrition Report 2012 [Internet]. Ministério Federal da Saúde. Viena, 2012. [Acesso em 18 de maio de 2015]. Atualizada em setembro de 2012. Disponível em <http://www.bmg.gv.at/cms/home/attachments/4/5/3/CH1048/CMS1348749794860/oe>

b12.pdf.

91. Vitamin D: implementation of existing guidance to prevent deficiency. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) [Internet]. Londres, 2013. [Acesso em 18 de maio de 2015]. Atualizada em 2013. Disponível em: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/13795/63153/63153.pdf>.
92. Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr* 2014; 111(01): 23-45.
93. Cashman KD, Kiely M. Recommended dietary intakes for vitamin D: where do they come from, what do they achieve and how can we meet them? *J Hum Nutr Diet* 2014; 27(5): 434-42.
94. Mishal AA. Effects of different dress styles on vitamin D levels in healthy young Jordanian women. *Osteoporos Int* 2001; 12: 931-35.
95. Spiro A, Buttriss JL. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutr Bull* 2014; 39 (4): 322-50.
96. Maeda SS, Borba VZC, Camargo MBR, Silva DMW, Borges JLC, Bandeira F, et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2014; 58 (5): 411-33.
97. Maeda SS, Kunii IS, Hayashi L, Lazaretti-Castro M. The effect of sun exposure on 25-hydroxyvitamin D concentrations in young healthy subjects living in the city of São Paulo, Brazil. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40(12): 1653-59.
98. Maeda SS, Kunii IS, Hayashi LF, Lazaretti-Castro M. Increases in summer serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD) concentrations in elderly subjects in S.o Paulo, Brazil vary with age, gender and ethnicity. *BMC Endocr Disord*. 2010; 10(1): 12.
99. Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LM, Vieira JG, Maeda SS, et al. Prevalence of vitamin D deficiency, insufficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly inpatients and living in the community of the city of São Paulo, Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2007; 51(3): 437-42.
100. Lopes JB, Danilevicius CF, Takayama L, Caparbo VF, Scazufca M, Bonf E, et al. Vitamin D insufficiency: a risk factor to vertebral fractures in community-dwelling elderly women. *Maturitas* 2009; 64(4): 218-22.
101. Neves JP, Silva AS, Morais LC, Diniz Ada S, Costa MJ, Ascitti LS, et al. 25-hydroxyvitamin D concentration and blood pressure levels in hypertensive elderly patients. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2012; 56(7): 415-22.

102. Santos BR, Mascarenhas LP, Satler F, Boguszewski MC, Spritzer PM. Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants. *BMC Pediatr.* 2012; 12 (1): 62.
103. Cabral MA, Borges CN, Maia JM, Aires CA, Bandeira F. Prevalence of vitamin D deficiency during the summer and its relationship with sun exposure and skin phototype in elderly men living in the tropics. *Clinical Interventions in Aging.* 2013; 8: 1347-51.
104. Ganmaa D, Holick MF, Rich-Edwards JW, Frazier LA, Davaalkham D, Ninjin B, et al. Vitamin D deficiency in reproductive age Mongolian women: A cross-sectional study. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 139: 1-6.
105. Galvão LO, Galvão MF, Reis CMS, de Ávila Batista CM, Casulari, LA. Considerações atuais sobre a vitamina D. *Brasília Med.* 2013; 50(4): 324-32.
106. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Switzerland: WHO Press, 2010.
107. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012; 98(6): 1407-15.
108. Rotterdam ESHRE/ASRMSponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19(1): 41-7.
109. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, Legro RS, Balen AH, Lobo R, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 2012; 97(1): 28-38.
110. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, Editors. Dietary reference intakes calcium vitamin D. Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. Institute of Medicine. of the National Academies [Internet]. Washington, 2015. Atualizada em 2015. Disponível em: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=13050&page=95.
111. Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA, Schleicher RL, Picciano MF, Yetley EA. Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1988–1994 compared with 2000–2004. *Am J Clin Nutr* 2008; 88(6): 1519-27.

112. Gill TK, Hil, CL, Shanahan EM, Taylor AW, Appleton SL, Grant JF, et al. Vitamin D levels in an Australian population. *BMC Public Health*. 2014; 14(1): 1001.
113. Diehl JW, Chiu MW. Effects of ambient sunlight and photoprotection on vitamin D status. *Dermatol Ther* 2010; 23(1): 48-60.
114. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80(6): 1678S-1688S.
115. Nesby-O'Dell S, Scanlon KS, Cogswell ME, Gillespie C, Hollis BW, Looker AC, et al. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 2002; 76(1): 187-92.
116. Correia A, Azevedo MDS, Gondim F, Bandeira F. Ethnic aspects of vitamin D deficiency. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2014; 58(5): 540-44.
117. Azevedo MS, Correia A, Pimentel L, Bandeira F. Serum 25-hydroxyvitamin D, skin phototype, sun exposure and the metabolic risk in a large sample of subjects living in the tropics. American Society for Bone and Mineral Research Annual Meeting; Houston. Texas: Journal of bone and Mineral Research, 2014.
118. Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araujo LMQ, Vieira JGH, Kunii I, et al. Influence of ultraviolet radiation on the production of 25 hydroxyvitamin D in the elderly population in the city of Sao Paulo (23 o 34'S), Brazil. *Osteoporos Int* 2005; 16(12): 1649-54.
119. Ghadimi R, Esmaeilzadeh S, Firoozpour M, Ahmadi A. Does vitamin D status correlate with clinical and biochemical features of polycystic ovary syndrome in high schoolgirls? *Caspian J Intern Med* 2014; 5 (4): 202-08.
120. Yildizhan R, Kurdoglu M, Adali E, Kulusari A, Yildizhan B, Sahin HG, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Arc Gynecol Obstet* 2009; 280(4): 559-63.
121. Hahn S, Haselhorst U, Tan S, Quadbeck B, Schmidt M, Roesler S, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with insulin resistance and obesity in women with polycystic ovary syndrome. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2006; 114(10): 577-83.
122. Kotsa K, Yavropoulou MP, Anastasiou O, Yovos JG. Role of vitamin D treatment in glucose metabolism in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2009; 92:

1053–8.

123. Ott J, Wattar L, Kurz C, Seemann R, Huber JC, Mayerhofer K, et al. Parameters for calcium metabolism in women with polycystic ovary syndrome who undergo clomiphene citrate stimulation: a prospective cohort study. *Eur J Endocrinol* 2012; 166(5): 897-902.

124. Dehghani Firouzabadi R, Aflatoonian A, Modarresi S, Sekhvat L, Mohammad Taheri S. Therapeutic effects of calcium & vitamin D supplementation in women with PCOS. *Complement Ther Clin Pract* 2012; 18(2): 85-8.

125. Somigliana E, Panina-Bordignon P, Murone S, Di Lucia P, Vercellini, P, Vigano, P. Vitamin D reserve is higher in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2007; 22(8): 2273-78.

126. Hartwell D, Riis BJ, Christiansen C. Changes in vitamin D metabolism during natural and medical menopause. *J Clin Endocrinol Metabol* 1990; 71(1): 127-132.

127. Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. National Guideline Clearinghouse. Agency for Healthcare Research and Quality [Internet]. Londres, 2013. [Acesso em 19 de maio de 2015]. Atualizada em 2013. Disponível em <http://www.guideline.gov/content.aspx.43841>.

128. Meng Q, Ren A, Zhang L, Liu J, Li Z, Yang Y, et al. Incidence of infertility and risk factors of impaired fecundity among newly married couples in a Chinese population. *Reprod Biomed online* 2015; 30(1): 92-100.

129. Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. Royal College of Obstetricians & Gynaecologists [Internet]. Londres, 2013. [Acesso em 19 de maio de 2015]. Atualizada em 2013. Disponível em <http://www.nice.org.uk/guidance/cg156/evidence/cg156-fertility-full-guideline3>.

ANEXO

HOSPITAL DAS FORÇAS
ARMADAS - HFA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: A concentração sérica de vitamina D em mulheres inférteis difere da população feminina?

Pesquisador: Vinicius Medina Lopes

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 37274714.5.0000.0025

Instituição Proponente:

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 902.146

Data da Relatoria: 01/12/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se a presente avaliação de respostas às pendências levantadas pelo CEP/HFA em seu parecer nº 859.485, de 20/10/2014. O pesquisador afirma que o projeto pretende relacionar possíveis casos de hipovitaminose D com infertilidade. Afirma ainda que esta vitamina apresenta importante função em diversos processos metabólicos e que se tem atribuído uma possível influência no processo reprodutivo e, em especial, na fisiologia reprodutiva da mulher. Considera que não está esclarecido se existe associação de níveis séricos baixos de vitamina D e infertilidade feminina. Pondera igualmente que não se conhece a incidência de deficiência/ insuficiência de vitamina D nas pacientes inférteis e na população geral de Brasília.

Objetivo da Pesquisa:

O projeto traz que o objetivo do estudo é avaliar a dosagem sérica da vitamina D em mulheres inférteis que consultaram em uma clínica privada de reprodução assistida e comparar estes níveis com os de mulheres que consultaram nesta mesma clínica sem queixas de infertilidade. Como objetivo secundário é apresentado a possibilidade de avaliar se a concentração sérica de vitamina D em mulheres inférteis, varia de acordo com a causa da infertilidade.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O projeto traz que não se aplicam situações de risco considerando que o trabalho é retrospectivo,

Endereço: HFA - Estrada Parque Contorno do Bosque s/n
Beirro: sala 10 Centro **CEP:** 70.658-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3233-1599 **Fax:** (61)3234-4821 **E-mail:** pesquisahfa@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS FORÇAS ARMADAS - HFA



Continuação do Parecer: 902.146

baseado em dados provenientes de arquivos e prontuários e laboratório. Refere-se que o anonimato será preservado com a utilização de iniciais para a identificação de pacientes. Como benefício o projeto alega a possibilidade de apresentar de correlações de interesse para o estudo da infertilidade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto traz o propósito de avaliar dados e informações de pacientes atendidas em clínica particular em Brasília – centro privado de reprodução assistida. Serão utilizados dados de pacientes que foram atendidas na citada clínica no período de janeiro de 2012 a maio de 2012 – prontuários eletrônicos de pacientes. A proposta é de uma amostra de 400 participantes ou dados de pacientes da clínica. A coleta dos dados, segundo o projeto, se restringe aos médicos da própria instituição. Incluem nessa avaliação, além dos resultados de laboratório, os dados de anamnese, exame físico e outros de interesse. Além do grupo de pacientes que foram consideradas com infertilidade, grupo alvo, será considerado outro grupo que não possui infertilidade e que foram, da mesma forma, atendidas na clínica, chamado de grupo controle. Assim, além de comparar os dados de possível hipovitaminose D com os casos de infertilidade, será atribuída a relação com a causa da infertilidade. O projeto apresenta critérios de inclusão e exclusão de pacientes. O pesquisador trata o projeto como estudo transversal. Será utilizado suporte estatístico. O pesquisador afirma que não haverá recrutamento ou busca de participantes ou qualquer intervenção médica-laboratorial. O pesquisador propõe dispensa de TCLE, considerando “que não haverá intervenção em seres humanos e se restringe a levantamento de dados de prontuário e análise estatística”. Da mesma forma, o projeto traz que não haverá retenção de amostras biológicas. O projeto terá financiamento próprio.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto apresentou a área temática do assunto, informações básicas do projeto, o projeto detalhado, o currículo do pesquisador, autorização de acesso a arquivo e demais documentos obrigatórios e necessários.

Recomendações:

Intencionalmente em branco.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Em nova avaliação da pesquisa em questão, foi verificada a inclusão dos seguintes anexos, com as respectivas datas de inclusão na Plataforma Brasil:

Endereço: HFA - Estrada Parque Contorno do Bosque s/n			
Bairro: sala 10 Centro	CEP: 70.658-900		
UF: DF	Município: BRASILIA		
Telefone: (61)3233-1599	Fax: (61)3234-4821	E-mail: pesquisahfa@yahoo.com.br	

HOSPITAL DAS FORÇAS ARMADAS - HFA



Continuação do Parecer: 902.146

1 - 14/11 – Termo de Consentimento de Uso de Banco de Dados, assinado pelo Diretor Técnico Jean Pierre B. Brasileiro, CRMDF 8765, autorizando a médica Leilane Gabriele Noleto a ter acesso a banco de dados e prontuários para a realização da pesquisa em questão, datado de 13/11/2014;

2 - 14/11 – Cópia de CRMDF de Jean Pierre B. Brasileiro, CRMDF 8.765;

3 - 14/11 Declaração do Responsável Técnico do Instituto Verhum, Jean Pierre B. Brasileiro, autorizando o pesquisador Vinicius Medina Lopes a realizar a pesquisa em questão, datada de 13/11/2014;

4 - 14/11 – Certificado de Diretor Técnico, apresentando o Certificado de Regularidade Técnica de Inscrição de Pessoa Jurídica, nº 2142 DF, emitido pelo CRMDF, com a identificação de Jean Pierre B. Brasileiro como Responsável Técnico pelo Instituto Verhum, no endereço SHIS QI 3 Bloco C/D loja 6 sala 101, Lago Sul, Brasília/DF, com data de 21/3/2013;

5 - 14/11 – Declaração de responsável supervisor de acesso aos registros médicos, com a informação de que o Diretor Clínico supervisionará a médica Leilane Gabriele Noleto no acesso de arquivos e prontuários no Instituto Verhum, SHIS QI 3 Ed. Medical Plaza, sala 101, Lago Sul, Brasília/DF, para realização da pesquisa em questão, assinada pelo Diretor Clínico - Vinicius Medina Lopes, datada de 13/11/2014;

6 - 14/11 – Declaração de local de busca de dados para pesquisa, evidenciando que a coleta de dados para a pesquisa será realizada em um único endereço – Instituto Verhum, SHIS QI 3 Ed. Medical Plaza, sala 101, Lago Sul, Brasília/DF, assinado pelo Responsável Técnico/Diretor Técnico - SHIS QI 3 Ed. Medical Plaza, sala 101, Lago Sul, Brasília/DF, e pelo Diretor Clínico - Vinicius Medina Lopes, datada de 13/11/2014;

7 - 14/11 – cópia de CRM de Leilane Gabriele Noleto, nº 17.491 DF;

8 - 14/11 - Declaração de vinculação profissional com o Instituto Verhum, citando que a médica Leilane Gabriele Noleto encontra-se em período de estágio na área de reprodução assistida, com término previsto para 01/7/2015, assinado pelo Responsável Técnico/Diretor Técnico - Jean Pierre B. Brasileiro e pelo Diretor Clínico - Vinicius Medina Lopes, datada de 13/11/2014;

Endereço: HFA - Estrada Parque Contorno do Bosque s/n
Bairro: sala 10 Centro CEP: 70.658-900
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3233-1599 Fax: (61)3234-4821 E-mail: pesquisahfa@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS FORÇAS
ARMADAS - HFA



Continuação do Parecer: 902.146

9 - 14/11 – Declaração de pesquisador assistente, quando a médica Leilane Gabriele Noieto declara participação voluntária na pesquisa, com assinatura, datada de 13/11/2014;

10 - 19/11 – Informações básicas do projeto, com as informações já prestadas anteriormente, com a informação de Área de estudo – grande área 4 – Ciências da Saúde, tamanho da amostra -300 e cronograma não alterado (submissão ao CEP com data não alterada – 15/9, anterior a primeira etapa da pesquisa – 15/11);

Além destas inclusões realizadas pela Plataforma Brasil, deve ser acrescentada a mensagem por email ao CEP/HFA, datada e recebida em 14 nov 2014, assinada pelo Dr. Vinicius Medina Lopes, que trata da informação quanto à metodologia de análise da Vit. D em Laboratório Clínico, atendendo a um destaque feito pela relatoria.

Em verificação de confronto com o parecer anterior deste relator, no que se aplica as pendências citadas, lista de inadequações e demais informações solicitadas, considero atendidas todas as exigências.

Fica registrada a orientação ao pesquisador responsável no que se aplica o item III.2, letra u e o item XI, com especial observação para as letras c, d, h, tudo da Res. CNS nº 466/2012.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O colegiado, em sua reunião extraordinária do dia 02/12/2014, deliberou pela aprovação do presente protocolo de pesquisa. O pesquisador deve seguir todos aspectos éticos vigentes, emitindo relatórios parciais semestrais e final sucinto quando da conclusão do projeto, por meio de notificação, via Plataforma Brasil. Além disso, deve seguir o protocolo como apresentado e aprovado. Qualquer alteração que seja feita, inclusive se houver necessidade de interrupção da pesquisa, também deve ser imediatamente comunicada ao CEP/HFA, via Plataforma Brasil.

Endereço: HFA - Estrada Parque Contorno do Bosque s/n
Bairro: sala 10 Centro CEP: 70.658-900
UF: DF Município: BRASILIA
Telefone: (61)3233-1599 Fax: (61)3234-4821 E-mail: pesquisahfa@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS FORÇAS
ARMADAS - HFA



Continuação do Parecer: 902.146

BRASILIA, 08 de Dezembro de 2014

Assinado por:
Ricardo César Amado
(Coordenador)

Endereço: HFA - Estrada Parque Contorno do Bosque s/n
Bairro: sala 10 Centro **CEP:** 70.658-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3233-1599 **Fax:** (61)3234-4821 **E-mail:** pesquisahfa@yahoo.com.br

