

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский университет дружбы народов
имени Патриса Лумумбы»

На правах рукописи

Рамазанова Фатима Умаровна

**ПРОФИЛАКТИКА ПОВТОРНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ
ПОСЛЕ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Хамошина Марина Борисовна

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННАЯ ПАРАДИГМА ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ ГЕСТАЦИИ. РОЛЬ ВИТАМИНА D В ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОФИЛАКТИКЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	15
1.1 Неразвивающаяся беременность как медико-социальная проблема.....	15
1.2 Генетические аспекты неразвивающейся беременности	16
1.3 Биологические эффекты витамина D и его роль в патогенезе и профилактике репродуктивных потерь	20
ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	27
2.1 База, контингент и дизайн исследования	27
2.2 Методы исследования	30
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОК.....	38
3.1 Медико-социальная характеристика женщин сравниваемых групп	38
3.2 Экстрагенитальные заболевания обследованных пациенток	40
3.3 Репродуктивный анамнез и гинекологическое здоровье	41
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	45
4.1 Результаты определения 25-ОН витамина D в сыворотке крови	45
4.2 Результаты молекулярно-генетического тестирования обследованных пациенток на носительство полиморфизмов генов <i>VDR</i> , <i>MTHFR</i> , <i>MTHFR</i> <i>MTR</i> , <i>MTRR</i> , <i>VEGFA</i>	46
4.3 Результаты анализа взаимосвязи встречаемости полиморфизмов генов <i>VDR</i> , <i>MTHFR</i> , <i>MTHFR</i> , <i>MTR</i> , <i>MTRR</i> , <i>VEGFA</i> и недостаточности витамина D	49
ГЛАВА 5. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ПОВТОРНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ ПРИ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ	53

5.1 Однофакторное прогнозирование риска НБ	53
5.2 Формирование рискованных классов НБ с помощью дерева классификации (CHAID анализ)	54
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	59
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	68
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	73
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	74
Приложение А (справочное). Анкета.....	95
Приложение Б (справочное). Форма информированного согласия	10101

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Неразвивающаяся беременность (НБ) – одно из самых доныне непознанных заболеваний, актуальная и социально значимая проблема современного акушерства и гинекологии, ассоциированная с репродуктивными потерями. В сегодняшних реалиях демографического кризиса, когда на счету каждая беременность, репродуктивные потери становятся невосполнимой утратой не только для отдельно взятой женщины и ее семьи, но и для всей нации и экономики страны. Согласно данным обзора девяти крупных когортных исследований, проведенных в Европе и Северной Америке, каждый год во всем мире происходят 23 миллиона выкидышей, что означает 44 потери беременности каждую минуту. При этом популяционная распространенность среди женщин одного выкидыша в анамнезе составляет 10,8% (10,3–11,4%), двух выкидышей 1,9% (1,8–2,1%), трех и более выкидышей – 0,7% (0,5–0,8%) [101]. По другим данным распространенность выкидышей в год составляет примерно 147 000 в Австралии, от 750 000 до 1 000 000 в Соединенных Штатах, и 200 000 в Соединенном Королевстве [155].

До сих пор во всем мире нет точных данных о распространенности НБ ввиду отсутствия ее единой терминологии. При анализе публикаций очевидно, что термины «Miscarriage», «Spontaneous abortion» и «Early pregnancy loss» используются как синонимы, а термин «Missed abortion» употребляется весьма редко, в связи с чем возникают сложности в сопоставимости и статистической обработке данных. Идентичная ситуация наблюдается при попытках статистического учета распространенности привычного невынашивания беременности (ПНБ). Его термин и определение различны в зависимости от страны и профессиональной организации. К примеру, Royal College of Obstetricians and Gynecologists (RCOG, Великобритания) использует термин «привычный выкидыш», тогда как European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) применяет термин «привычное невынашивание беременности». ESHRE и American Society for Reproductive Medicine (ASRM, США) [58, 74] определяют привычный выкидыш как потерю двух или более

последовательных беременностей. В то же время, три и более репродуктивные потери беременности по-прежнему учитывают другие организации, такие, как RCOG [140], Health Service Executive (HSE) [79] и French College of Gynaecologists and Obstetricians (CNGOF) [124].

Так или иначе, но доля НБ за последние десятилетия во всем мире существенно возросла, с 20% до 46% в структуре всех беременностей [20]. Согласно современным представлениям, в когорте пациенток с репродуктивными потерями доля НБ составляет 10–20%. При этом порядка 80% из них приходится на первый триместр [11,181].

Помимо усугубления демографической ситуации как таковой в результате потерь беременностей на ранних сроках, нельзя не отметить и психологические последствия для женщин, такие как посттравматический стресс, тревога и депрессия [119]. Немаловажной составляющей является финансовый аспект, затраты в области здравоохранения. Так, по данным здравоохранения Великобритании, у 140 000 женщин ежегодно происходит выкидыш, а экономическое бремя, с этим связанное, оценивается в 471 миллион фунтов стерлингов в год [101].

НБ представляет собой патологический симптомокомплекс, включающий нежизнеспособность плода (эмбриона), патологическую инертность миометрия и нарушения в системе гемостаза. Согласно МКБ-10, НБ следует кодировать, как O02.0 Погибшее плодное яйцо и непустой занос или как O02.1 Несостоявшийся выкидыш. Ранняя гибель плода с задержкой в матке [11].

В настоящее время НБ рассматривают как мультифакториальное заболевание. Проведенные многочисленные и разноплановые исследования до сих пор не привели к единому мнению о ее этиологии и патогенезе [3,8,10,51]. Среди наиболее изученных причин НБ – генетические и хромосомные аномалии эмбриона, нарушение анатомии половых органов, патологические состояния эндометрия, характеризующиеся его неполноценностью и неспособностью обеспечить потребности эмбриона в процессе гестации, наследственные тромбофилии и антифосфолипидный синдром (АФС) [9, 24,26].

В ряде случаев причину потери НБ установить вовсе не удастся. Принято считать, что возможной причиной потери плода «неясной» этиологии могут служить иммунологические и аллоиммунные факторы [9,24,26,157].

Вместе с тем, в последнее десятилетие в отечественной и зарубежной литературе появились сведения о патогенетической роли недостаточности витамина D при ранних репродуктивных потерях, в том числе при НБ [32, 164,166,167]. Доказано, что холекальциферол посредством своей активной формы (кальцитриол, «гормон D») принимает участие в регуляции функции репродуктивной системы женщины и метаболизме тканей-мишеней, поскольку рецепторы к нему обнаружены в эндометрии, плаценте, децидуальных клетках, яичниках, эпителии маточных труб, гипофизе и гипоталамусе [160, 162]. Кальцитриол [1,25(OH)2D3] оказывает влияние на целый ряд физиологических процессов в организме, включая регуляцию апоптоза и ангиогенеза, активность противовоспалительного и антибактериального ответа слизистых оболочек, а также опосредует реализацию антипролиферативных и иммунологических реакций [73, 36, 112, 115, 167].

В мировой практике проведено множество исследований по поиску ассоциации с невынашиванием беременности полиморфных вариантов различных генов, в том числе и таких, как гены фолатного цикла *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* и сосудисто-эндотелиального фактора роста (*VEGF*). Множество публикаций посвящены генотипу *MTHFR 677CT*. Однако результаты этих работ неоднозначны [27].

В одних работах выявлено повышение риска спонтанного аборта при носительстве однонуклеотидного полиморфизма *MTHFR 677* [103, 105], хотя в других – «таких ассоциаций выявить не удалось [149]. Сообщается об однонуклеотидных полиморфизмах *MTR* и *MTRR*, однако они недостаточно емкие [27].

При исследовании полиморфизма *MTR 2756 AG* выявлена его ассоциация с репродуктивными потерями [27], хотя в других публикациях такая связь не найдена [105].

Описана ассоциация аллеля *66G* полиморфизма *MTRR 66AG* с

невынашиванием беременности [17,38], в то время другие публикации не подтверждают такую взаимосвязь [105]. Вероятно, полученные различия могут быть объяснены особенностями когорт, дизайном работ, размером выборок [27].

Учитывая, что для НБ характерно нарушение процесса имплантации blastocysts, и необходимым фактором плацентации и инвазии трофобласта признан адекватный ангиогенез, изучение взаимосвязи уровня витамина D, генетических детерминант нарушений его метаболизма и исхода наступившей гестации у пациенток с НБ представляется одним из перспективных направлений как фундаментальных, так и прикладных научных исследований. Актуальность проблематике диссертации добавляет тот факт, что коррекция недостаточности витамина D на этапе прекоцепции является управляемым фактором, позволяющим полностью нивелировать ее негативное влияние на течение и исход гестации.

Степень разработанности темы. В мировой литературе проблеме НБ посвящено множество работ [12, 55,83,99,102,110,130]. При этом взаимосвязь недостаточности витамина D и репродуктивных потерь широко представлена в литературе последних лет [67,80,132,143]. Однако исследования, посвященные влиянию недостаточности витамина D на исход гестации именно при НБ, единичны [32,168].

Степень риска развития НБ имеет обратную зависимость от уровня кальцидиола [25(OH)D] в сыворотке крови, используемого для верификации диагноза недостаточности витамина D [28,125, 126]. Однако по мнению некоторых исследователей подобная связь не вполне обоснована и не имеет под собой убедительной доказательной базы [172]. В другой публикации не отрицается влияние сывороточного уровня 25(OH)D на вероятность развития неблагоприятных исходов фертильности, но утверждается, что это требует дополнительного изучения в рандомизированных сравнительных исследованиях [162].

Контраверсионность обсуждаемой тематики определяет ее актуальность и обосновывает необходимость углубленного изучения механизмов патогенеза НБ и их взаимосвязи со снижением содержания 25(OH)D в сыворотке крови и/или

активности рецепторов витамина D (VDR) [142], а также носительством полиморфизмов ряда генов-кандидатов. В случае подтверждения корреляции между уровнем 25(OH)D в крови и риском НБ дотация холекальциферола в составе добавок или лекарственных препаратов витамина D в качестве компонента профилактики НБ на этапе прекоцепции позволит значительно улучшить репродуктивные исходы. Особенно это важно при повторных НБ, что и определило выбор темы настоящего исследования и ее актуальность.

Цель исследования: повысить результативность профилактики повторных репродуктивных потерь при неразвивающейся беременности.

Задачи исследования

1. Изучить встречаемость и структуру недостаточности витамина D у пациенток с неразвивающейся беременностью в первом триместре гестации.

2. Дать клиническую характеристику пациенток изучаемой когорты и выявить клиничко-anamnestические факторы риска неразвивающейся беременности в первом триместре гестации.

3. Исследовать встречаемость генотипов по полиморфным локусам *VDR rs10735810*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*, *VEGFA rs3025039* в изучаемой когорте и ее взаимосвязь с неразвивающейся беременностью в первом триместре гестации.

4. Изучить взаимосвязь полиморфизмов генов *VDR rs10735810*, *VEGFA rs3025039*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394* и недостаточности витамина D у пациенток с неразвивающейся беременностью.

5. Выявить предикторы риска неразвивающейся беременности в первом триместре гестации и разработать математическую модель прогноза риска повторных репродуктивных потерь у пациенток изучаемой когорты.

Научная новизна. Разработана новая научная идея, дополняющая современную концепцию патогенеза ранних репродуктивных потерь при НБ, в том числе повторной. Дополнены сведения о факторах риска НБ в первом триместре гестации.

Получены приоритетные данные о роли тяжелого дефицита витамина D и гена *MTHFR 677 C> T*, а также дефицита витамина D и гена *VDR* в патогенезе НБ. Выявлены предикторы риска НБ как исхода гестации в первом триместре и разработана модель его математического прогноза.

Теоретическая и практическая значимость работы. В результате исследования существенно расширены и углублены представления о патогенезе НБ и возможной роли в нем нарушений метаболизма холекальциферола. Доказана взаимосвязь между низким сывороточным уровнем 25(ОН)D и риском развития НБ в первом триместре гестации, высказана приоритетная гипотеза о возможной роли полиморфных вариантов генов *VDR* и *MTR* в реализации этого риска.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных информативных лабораторных и молекулярно-генетических методов исследования. Научно обоснован комплексный предиктивный подход к обследованию пациенток с НБ, предусматривающий выявление, коррекцию и профилактику недостаточности витамина D на этапе преемственности как управляемого фактора акушерского и перинатального риска.

Практическому здравоохранению предложена эффективная модификация рутинного алгоритма ведения пациенток, имеющих в анамнезе НБ в первом триместре гестации.

Методология и методы исследования. Настоящее интервенционное, когортное проспективное исследование было выполнено в период 2017–2021 гг. на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (РУДН) (зав. кафедрой – член-корр. РАН, засл. деятель науки РФ, д.м.н., проф. В.Е. Радзинский), в государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая больница им. В.М. Буянова Департамента здравоохранения г. Москвы» (гл. врач – к.м.н А.В. Саликов), государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая больница № 50

им. С.И. Спасокукоцкого филиал Родильный дом Департамента здравоохранения г. Москвы» (гл. врач – к.м.н. А.В. Погонин) и государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая больница № 1 им Пирогова филиал Родильный дом Департамента здравоохранения г. Москвы» (гл. врач – к.м.н. А.В. Свет).

В исследовании приняли участие 178 женщин, удовлетворявших критериям включения.

Критериями включения в основную группу явились: репродуктивный возраст; наличие НБ подтвержденной с помощью ультразвукового исследования (УЗИ) и анализа на β - ХГЧ на госпитальном этапе (О02.0, О02.1); забор крови на 25(ОН)D в сроке 5–12 недель; русская национальность; проживание в Центральной России; информированное добровольное согласие пациентки.

Критериями исключения послужили: тяжелые, средней тяжести или декомпенсированные экстрагенитальные заболевания; подтвержденные генетические, анатомические, эндокринные, иммунологические, инфекционные причины НБ; онкологические заболевания; отказ от всех необходимых лечебно-диагностических мероприятий; прием препаратов или добавок нативного витамина D в течение последних трех месяцев; беременность, наступившая с применением вспомогательных репродуктивных технологий; осложненное течение послеабортного периода в анамнезе.

Основанием включения в контрольную группу явился: срок гестации 5–12 недель при постановке на учет по беременности. Все пациентки ($n = 77$) были отслежены лично автором вплоть до родов, с целью соблюдения критериев включения в исследование, которыми послужили репродуктивный возраст, забор крови на 25(ОН)D в сроке 5–12 недель, срочные роды живым плодом с оценкой по шкале Апгар не ниже 8–9 баллов, русская национальность, проживание в Центральной России, информированное добровольное согласие пациентки.

Критериями исключения из исследования для женщин контрольной группы, аналогично основной, считали: тяжелые, средней тяжести или декомпенсированные экстрагенитальные заболевания; онкологические

заболевания; прием препаратов или добавок витамина D в течение последних трех месяцев; отказ женщины от всех необходимых лечебно-диагностических мероприятий и/или невыполнение рекомендаций врача.

Все женщины были анкетированы по специально разработанной анкете – опроснику (Приложение А). При внесении в базу данных сведения дополняли информацией, выкопированной из первичной медицинской документации.

Уровень общего 25(OH)D в сыворотке крови (n = 99) определяли методом масс-спектрометрии в лаборатории ООО «Клиника новых медицинских технологий АрхиМед» (зав. лабораторией – к.б.н. А.Н Нижник).

В качестве основной методики для определения однонуклеотидных полиморфизмов *C936T* гена *VEGF* (*rs3025039*), *Ile22Met* гена *MTRR* (*rs1801394*), *C/T* гена *VDR* (*rs10735810*), *Ala222Val* (*C677T*) гена *MTHFR* (*rs1801133*), *A1298C* гена *MTHFR* (*rs1801131*), *A2756G* (*Asp919Gly*) гена *MTR* (*rs1805087*) использовали метод ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), применяли наборы реагентов «SNP-Скрин» НПК «Синтол». Исследование выполняли на кафедре биологии и общей генетики РУДН (зав. кафедрой – д.б.н. М.М. Азова).

Положения, выносимые на защиту:

1. Компенсация недостаточности витамина D на этапе прекоцепции является неиспользованным резервом повышения эффективности прегравидарной подготовки и профилактики повторных репродуктивных потерь у женщин с неразвивающейся беременностью в первом триместре гестации. Недостаточность витамина D в этой когорте выявляется ($p < 0,05$) у 93,3% пациенток, с преобладанием в ее структуре дефицита (уровень 25(OH)D менее 20 нг/мл – 71,6%). Доля лиц с оптимальным уровнем 25(OH)D в сыворотке крови составляет лишь 6,7%, что отражает общероссийские тенденции.

2. Недостаточность витамина D выступает патогенетически значимым конфаундером дисфункции эндометрия, создающей предпосылки для развития неразвивающейся беременности, роль которого возрастает при наличии тяжелого дефицита в первом триместре (уровень 25(OH)D менее 10 нг/мл), выявляемого у каждой третьей пациентки с повторными потерями. Клиническими маркерами этой

дисфункции являются расстройства менструации, которые у женщин с одной неразвивающейся беременностью в первом триместре в сравнении с родившими доношенных здоровых детей, наблюдаются в 5 раз чаще (обильные и частые менструации при регулярном цикле – 19,0%, $p < 0,01$); нерегулярные менструации – 5,2%, $p < 0,05$), а у пациенток с повторными потерями – соответственно в 3,6 раза [обильные и частые менструации при регулярном цикле (14,0%, $p < 0,05$) и дисменорея (13,9%, $p < 0,05$)] и в 9 раз чаще (нерегулярные менструации – 9,3%, $p < 0,01$).

3. Абсолютным фактором риска репродуктивных потерь в первом триместре, связанных с неразвивающейся беременностью, является курение (ОШ = 1,95; 95%-й ДИ 1,60–2,38), негативное влияние которого может потенцироваться на уровне рецепторов витамина D, полиморфизм которых встречается у 68,3% пациенток. Помимо курения и недостаточности витамина D, предикторами риска НБ в первом триместре, пригодными для математического прогнозирования, являются возраст старше 33 лет, носительство генотипа GG по генному полиморфизму MTR66 и расстройства менструации.

4. Предложенная модификация рутинного алгоритма ведения пациенток, имеющих в анамнезе неразвивающуюся беременность в первом триместре гестации, с использованием математической модели прогноза позволяет выделить группу риска повторных репродуктивных потерь, обосновать необходимость углубленного обследования женщин и оценить эффективность целенаправленных профилактических мероприятий

Степень достоверности и апробация результатов работы. Накопление, корректировку и систематизацию исходной информации осуществляли в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Для статистической обработки массива данных, полученных в ходе исследования, использовали программное обеспечения StatSoft®Inc, STATISTICA version 10 (США, серийный номер STA999K347156-W). Применяли методы описательной статистики, параметрические (критерий Стьюдента, однофакторный дисперсионный анализ) и непараметрические (критерий Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса) методы анализа

количественных данных, анализ номинальных переменных при помощи χ^2 Пирсона, точного критерия Фишера, расчет отношения шансов (ОШ). С целью выявления взаимосвязи между количественными переменными использовали параметрический и непараметрический методы корреляционного анализа в зависимости от нормальности распределения (коэффициент корреляции r_{xy} Пирсона или коэффициент ранговой корреляции r Спирмена). Различия показателей считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Для определения диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применяли метод анализа ROC-кривых. При построении прогностических моделей использовали метод бинарной логистической регрессии, включавший как категориальные, так и количественные переменные, а также метод дискриминантного анализа с использованием только количественных переменных.

Автор, Ф. У. Рамазанова, непосредственно участвовала в выборе направления исследования, разработке цели и задач; лично осуществляла сбор анамнеза, обследование пациенток, производила забор биологических материалов для исследования, выполняла статистические расчеты полученных результатов. Формирование массива данных, подлежащих статистической обработке, математический анализ и интерпретация данных, а также клиническая апробация разработанного модифицированного алгоритма проведены автором самостоятельно. Все научные результаты, выводы и положения, представленные в работе, автором получены лично.

Работа была выполнена в рамках основной научно-исследовательской деятельности Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях (номер гос. регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712).

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института РУДН (протокол № 20 от 29 июня 2021 года).

Основные положения работы доложены, обсуждены и одобрены на: IV

Общероссийской конференции с международным участием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (Санкт-Петербург, 2018); VII, VIII Общероссийских конгрессах с международным участием «Ранние сроки беременности: от прегравидарной подготовки к здоровой гестации. Проблемы ВРТ» (Москва, 2019; 2021); V Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: сибирские чтения» (Новосибирск, 2020); XIV Региональном научно-образовательном Форуме «Мать и Дитя» и Пленуме Правления РОАГ (Москва, 2021); Российском научно-практическом конгрессе "Гинекологическая эндокринология в возрастном аспекте: проблемы и решения" (Москва, 2021); VII Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: Весенние контраверсии» (Москва, 2022)

Основные положения диссертации, выводы и практические рекомендации внедрены в практическую работу ГБУЗ «Городская клиническая больница им. В.М. Буянова» ДЗ г. Москвы, используются в учебном процессе на додипломном и последипломном этапах высшего медицинского образования на кафедрах акушерства и гинекологии с курсом перинатологии и кафедре акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФНМО Медицинского института РУДН.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 17 научных работ в отечественной и зарубежной печати, из них 3 – в базе данных научной периодики Scopus, в изданиях рекомендуемых ВАК РФ – 8, РУДН - 7.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННАЯ ПАРАДИГМА ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ ГЕСТАЦИИ. РОЛЬ ВИТАМИНА D В ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОФИЛАКТИКЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Неразвивающаяся беременность как медико-социальная проблема

Одной из важнейших проблем современного акушерства и гинекологии остается преждевременное завершение беременности, в том числе ее невынашивание. По данным зарубежных авторов, привычное невынашивание наблюдается у 1–5% фертильных женщин [66,133,180]. В структуре невынашивания ранние репродуктивные потери занимают до 45% от числа всех зарегистрированных беременностей [20].

Согласно данным официальной статистики, число самопроизвольных выкидышей в период 2005–2013 гг. в РФ увеличилось на 23% (со 168,1 тыс. до 207,7 тыс. соответственно). При этом среди общего числа самопроизвольных выкидышей на ранних сроках доля НБ возросла с 10–20 до 45–88,6% [21]. Когортное исследование показало, что до 60% беременностей прерываются на доклинической стадии, а из 40% оставшихся беременностей каждая четвертая заканчивается выкидышем [130]. По данным литературы, ранними репродуктивными потерями (до 12 недель) завершаются около 15% зачатий со значительными колебаниями показателя в зависимости от возраста – от 10% у женщин 20 – 24 лет до 51% у женщин 40 – 44 лет. Поздние репродуктивные потери (между 12 и 22 неделями) происходят реже, составляя около 4% беременностей. Распространенность повторного выкидыша колеблется от 0,8% до 3%, что значимо ниже по сравнению со спорадическим выкидышем [109].

В Дании и Финляндии были проведены проспективные и ретроспективные когортные исследования, в которых оценивали частоту самопроизвольных выкидышей и НБ в течение 40-летнего и 20-летнего периодов наблюдения соответственно. В одном из них было выявлено, что из 3 519 455 зарегистрированных беременностей 337 008 (9,6%) завершились репродуктивными

потерями. При этом доля самопроизвольных выкидышей за последние 30 лет выросла на 25%. Было показано, что частота выкидышей у подростков моложе 15 лет составляет 4%, а у женщин старше 45 лет прерывается уже более чем каждая четвертая беременность [125]. Во втором исследовании, продемонстрировавшем снижение в динамике частоты выкидышей в целом (в 1998г. их доля составляла 11,2%, а в 2016г. – 8,3%), было отмечено, что доля выкидышей, у первобеременных, увеличилась с 43,7% до 49,6% ($p < 0,001$) [156].

Примерно 50% всех случаев потери беременности на ранних сроках связывают с хромосомными аномалиями плода [58]. Наиболее частыми факторами риска, выявленных у женщин, переживших потерю беременности на ранних сроках, считают поздний репродуктивный возраст матери и ранее имевшаяся потеря беременности на ранних сроках [139]. Частота клинически признанной потери беременности на ранних сроках у женщин в возрасте 20–30 лет составляет 9–17%, этот показатель резко возрастает с 20% в возрасте 35 лет до 40% в возрасте 40 лет и составляет 80% в возрасте 45 лет [5].

Следует подчеркнуть, что в зарубежной литературе нет единого мнения относительно терминологии репродуктивных потерь. На практике, как и в литературе, термины «выкидыш», «самопроизвольный аборт» и «потеря беременности на ранних сроках» используются как синонимы, и такой дефиниции, как «неразвивающаяся беременность», попросту нет.

1.2 Генетические аспекты неразвивающейся беременности

Говоря о нарушении реализации программы гестации на ранних сроках и понимая, что выкидыши в ранние сроки в 80% обусловлены генетическим сбросом – своего рода природным фильтром, представляет интерес анализ современных представлений о генетических аспектах НБ.

Гестационные изменения направлены на формирование плаценты, а ее формирование и функция невозможны без механизмов ангиогенеза. Основной стимулятор как физиологического, так и патологического ангиогенеза – это сосудистый эндотелиальный фактор роста (*VEGF-A*).

Семейство *VEGF* включает *VEGF-A*, также в это семейство входят белки *VEGF*, *VEGF-B*, *VEGF-C*, *VEGF-D* и плацентарный фактор роста (PLGF). *VEGF-A* является одной из наиболее изученных его изоформ. Он «влияет на ангиогенез и выживание незрелых кровеносных сосудов, связываясь с двумя близкими по строению мембранными тирозин-киназными рецепторами (рецептором-1 *VEGF* и рецептором-2 *VEGF*) и активируя их. Связывание *VEGF* с рецепторами запускает сигнальный каскад, который в итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосудов, их выживание и пролиферацию» [25]. *VEGF-A* также является регулятором пролиферации, миграции, стимулирует дифференцировку цитотрофобласта. На ранних сроках беременности этот фактор играет важную роль, он необходим «для созревания ооцитов, пролиферации трофобластов, имплантации и развития эмбриона, ангиогенеза плаценты и роста материнских и эмбриональных кровеносных сосудов в матке» [138]. Ген *VEGF* экспрессируется в децидуальной ткани и клетках вневорсинчатого цитотрофобласта, и он стимулирует дифференцировку цитотрофобласта. Снижение уровня *VEGF* обуславливает апоптоз эндотелия, ведущий к обструкции просвета и регрессии сосудов [125].

К настоящему времени в гене *VEGF* описано 214 однонуклеотидных полиморфизмов [125]. Некоторые из полиморфизмов *VEGF-A* (*C936T*, *C2578A*, *G-1154A*, *T583C*, *G634C*, *T460T*, *C405C*), по данным ряда авторов ассоциированы с осложнениями беременности (преэклампсией, HELLP-синдромом, преждевременными родами, привычным невынашиванием) [131–135]. В исследовании Amirchaghmaghi E. и соавт. (2015), было показано, что измененная экспрессия членов семейства *VEGF* может быть фактором, способствующим привычному невынашиванию [70]. Как уже известно, ангиогенез является важным составляющим развития плаценты и роста плода. Дифференцированные клетки трофобласта в I триместре проникают в материнские кровеносные сосуды, способствуя тем самым закреплению плаценты и ремоделированию спиральных артерий. Это, в свою очередь, приводит к усилению кровотока в межворсинчатом пространстве [99,161].

В последние годы активно изучается влияние фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа (HIF-1 α), играющего главную роль в системном ответе организма на гипоксию, и влияние генотипов *VEGF* на репродуктивные потери. Так, в исследовании, проведенном Zhi Z et al. (2018) [59] показано, что экспрессия HIF-1 α и *VEGF* в группе пациенток с НБ была ниже, чем в группе контроля. Следовательно, оба они могут служить биомаркерами НБ, так как участвуют в регуляции ангиогенеза ворсинок на ранних сроках беременности.

Значительный интерес в отношении этиологии репродуктивных потерь в ранние сроки вызывают имеющиеся сведения о влиянии замены единичных нуклеотидов, так называемых однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism – SNP), генов ферментов, участвующих в обмене фолиевой кислоты – метилентетрагидрофолатредуктазы *MTHFR*, метионин синтазы редуктазы *MTRR* и метионин синтазы *MTR*, а также их влияние на обмен гомоцистеина. В настоящее время известно «несколько SNP гена *MTHFR*, расположенного в локусе 1p36.3. Самой распространенной из них является замена нуклеотидов C677T (в белке MTHFR – замещение аланина на валин), которая проявляется термолабильностью и снижением активности фермента MTHFR на 50%» [44]. В ряде публикаций отображены «исходы замены единичных нуклеотидов SNP генов фолатного цикла, а также их влияние на обмен гомоцистеина» [118, 92]. Известно, что «одним из факторов невынашивания беременности является дефицит фолиевой кислоты, связанный как с особенностями диеты, так и с дефектами в генах фолатного обмена, что, в свою очередь, приводит к избыточному накоплению гомоцистеина в крови» [107]. В результате дефектного метаболического пути развивается гипергомоцистеинемия [98,150]. Есть мнение, что низкий уровень фолатов в сочетании с гипергомоцистеинемией может приводить к привычному невынашиванию [137–139].

«Фолатный цикл представляет собой сложный каскадный процесс, контролируемый ферментами, использующими в качестве коферментов производные фолиевой кислоты. Полиморфизм генов, возникающий в результате SNP, в ряде случаев ведет к замене одной аминокислоты на другую. В результате

этого изменяется структура белка, который является продуктом мутантного гена» [137]. Однако их связь с привычным невынашиванием, продемонстрированная в ряде исследований, до сих пор остается спорной [140–142]. В то же время исследование полиморфизма генов фолатного цикла может иметь прогностическое значение и может позволить определить риск аномалий развития плода, ассоциированных с нарушением обмена фолиевой кислоты и гипергомоцистеинемией.

Так, в исследовании Ху У. и соавт. (2019) [134] установлено, что генотип *MTHFR 1298AC* и комбинированный гетерозиготный генотип (*677CT/1298AC*) являются факторами риска необъяснимых повторяющихся потерь беременности. При этом риск повторных репродуктивных потерь наиболее высок у женщин, имеющих две мутации локуса *A1298C* и *C677T* в *MTHFR*.

Ген *VDR* – один из генов-кандидатов подверженности привычному невынашиванию. На сегодняшний день он является наиболее активно исследуемым «геном, картированным на длинном плече 12 хромосомы (12q13.1). Ген *VDR* имеет промоторную и регуляторную области (1a-1f), состоит из 9 экзонов и 8 интронов. Он также имеет высокую вариативность полиморфных последовательностей, возникающих в его кодирующих и некодирующих участках, что ведет к изменениям контролируемой функции за счет различной экспрессии гена» [158].

Согласно опубликованным данным, в настоящее время известно более 30 генотипов полиморфных маркеров гена *VDR*, однако наиболее изучены из них *ApaI* (*rs7975232*), *BsmI* (*rs1544410*), *FokI* (*rs2228570*), *TaqI* (*rs731236*) [32,116], и *Cdx2* [32], ассоциированные с различными заболеваниями, в том числе и с репродуктивными потерями [57,93,159,160,162].

Известно, что экспрессия гена *VDR* обнаружена в децидуальной ткани, в ворсинках трофобласта [32, 132] и в клетках гладкой мускулатуры плацентарных сосудов [114]. Значимым для процессов репродукции является маркер восприимчивости эндометрия – ген *HOXA10*, вовлеченный в имплантацию эмбриона. Измененная экспрессия *HOXA10* может привести к нарушению

восприимчивости эндометрия и невозможности имплантации эмбриона. Доказано, что кальцитриол увеличивает экспрессию мРНК и белка *HOXA10* в стромальных клетках эндометрия человека. Поэтому взаимодействие половых стероидных гормонов с витамином D может регулировать экспрессию *HOXA10*, что подчеркивает роль витамина D как фактора, крайне важного для имплантации [72]. Эндометриальная экспрессия *VDR* указывает на функциональную роль системы витамина D-*VDR* в восприимчивости эндометрия [159,32,85,172].

Получены сведения о том, что *VDR* регулирует и иммунные реакции: «кальцитриол [1,25(OH)2D3] стимулирует синтез антимикробного пептида кателицидина в трофобластах и децидуальных клетках [41]». В то же время «1,25(OH)2D3 ингибирует экспрессию цитокинов, таких как гранулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор-2 (GM-CSF-2), фактор некроза опухоли – α (TNF- α) и провоспалительный интерлейкин-6 (IL-6) в децидуальных клетках» [48]. Эти данные указывают на то, что витамин D играет важную роль в контроле плацентарной реакции на инфекцию – частую и доказанную причину невынашивания и недонашивания беременности [88,178].

1.3 Биологические эффекты витамина D и его роль в патогенезе и профилактике репродуктивных потерь

Витамин D сам по себе биологически инертен. При поступлении в кровоток холекальциферол в первую очередь связывается с витамин D-связывающим белком (VDBP), также известного как α_2 -глобулин, который относится к классу α_2 -глобулинов. Основной его функцией является транспорт холекальциферола по всему организму, при этом в крови преобладает фракция витамина D, которая циркулирует в связанном с VDBP состоянии. «Для активации и превращения в активную форму – кальцитриол или D-гормон [1,25(OH)2 D] необходимы два этапа гидроксирования. Первый этап происходит в печени, в процессе чего витамин D превращается в 25-гидроксивитамин D – [25(OH)D], он же кальцидиол. Именно эта более метаболически устойчивая молекула используется для лабораторной диагностики заболевания E55 Недостаточность витамина D. Второй этап

гидроксилирования происходит преимущественно в почках, с участием фермента CYP27B1 – 1 α -гидроксилазы, и его результатом становится синтез физиологически активного 1,25-дигидроксивитамина D – [1,25(OH)₂D], или, собственно, кальцитриола» [9].

Ключом к 25-гидроксивитамину D-1- α -гидроксилазы в почках является эндоцитотическая система мегалин-кубилин, которая присутствует и в парацитовидных железах, что подчеркивает значение витамина D для регуляции функции эндокринной системы человека. Известно, что локально система мегалин-кубилин также функционирует в плаценте и головном мозге [150, 151]. Считается, что образование 1,25-дигидроксивитамина D в различных тканях регулирует множество генов, контролирующих процессы пролиферации (включая p21 и p27), а также генов, которые ингибируют ангиогенез и вызывают дифференцировку клеток и апоптоз [152]. «Ограничению образования активной формы витамина способствует стимуляция фермента CYP24A1 (24-гидроксилазы). Он превращает кальцитриол в неактивную, водорастворимую форму кальцитроевой кислоты, которая выводится с желчью» [153, 154].

«Дефицит витамина D как особое патологическое состояние выделяют при уровне холекальциферола в сыворотке крови менее 20 нг/мл. Промежуток между 20–30 нг/мл следует расценивать как недостаточность витамина D, а оптимальным уровнем считают более 30 нг/мл» [155].

Недавние публикации свидетельствуют о том, что функции витамина D не ограничены только лишь контролем кальция-фосфорного гомеостаза и влиянием на минеральную плотность костной ткани. Получены убедительные данные, что он также влияет на целый ряд физиологических процессов в организме, включая регуляцию апоптоза и ангиогенеза, ингибирование продукции ренина, стимуляцию синтеза инсулина, реализацию противовоспалительного и антибактериального ответа слизистых оболочек, оказывает гипотензивный эффект, опосредует реализацию антипролиферативных и иммунологических механизмов (иммунодепрессивное действие), а также болевых реакций. Это обусловлено его взаимодействием со специфическими рецепторами VDR, локализованными в ядрах

клеток более 38 различных тканей и органов [156–158].

Синцитиотрофобласт является одним из источников продукции кальцитриола. Во время беременности, ближе к 12 неделям, концентрация $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ уже увеличивается более чем вдвое [159,160], что подтверждает важную роль витамина D в поддержке гестации и контроле процессов развития плода. Он регулирует децидуализацию, имплантацию, экспрессию плацентарного лактогена. Кроме того, витамин D влияет на секрецию прогестерона и эстриола, хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), на поглощение кальция плацентой и плацентарную иммуномодуляцию [161–163].

Интересен тот факт, что плацента служит основным местом конверсии холекальциферола в кальцитриол посредством фермента витамина D – 1-а гидроксилазы [CYP27B1]. Синтез плацентарного кальцитриола начинается на ранней стадии гестации, так как экспрессия плацентой мРНК CYP27B1 высока уже в I триместре. Повышенный уровень кальцитриола подавляет транскрипцию CYP27B1 в трофобластах, в противоположность этому экспрессия CYP24A1 повышается. Данный эффект работает через VDR с лиганд-привязкой. Экспрессия VDR обнаружена в ворсинах трофобласта (хорион), децидуа и в гладкомышечных клетках плацентарных сосудов. Ядра стромальных клеток у плодных ворсинок и в ядрах эндотелиальных клеток плода также экспрессируют VDR. Известно, что VDR активно участвуют в регуляции иммунных реакций: кальцитриол стимулирует синтез кателицидина, антимикробного пептида, трофобласта, децидуальных клеток и плацентарных макрофагов. Вместе с тем кальцитриол тормозит синтез цитокинов, включая фактор некроза опухоли (ФНО), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) и интерлейкин-6 (ИЛ-6) в децидуальной ткани. Эти данные свидетельствуют о том, что витамин D играет важную роль в контроле плацентарных реакций к инфекции. Система плацентарного витамина D, включая VDR, ее лиганды и участвующие в метаболизме ферменты, такие как CYP27B1, играют ключевую роль для поддержания врожденного иммунитета и способствует имплантации, но, возможно, в сочетании с другими факторами, такими как цитокины [164].

Витамин D признан мощным модулятором как в адаптивной (снижает активность), так и во врожденной иммунной системах (усиливает активность), участвует в регуляции роста и дифференцировки клеток, активации моноцитов и макрофагов и детоксикации ксенобиотиков. VDR являются лиганд - активируемыми ядерными рецепторами для факторов транскрипции. Они присутствуют в большинстве типов иммунных клеток в Т-лимфоцитах (Th1, Th2, Tregs, Th17), В-лимфоцитах, дендритных клетках, моноцитах и макрофагах. При взаимодействии витамина D с его рецептором образуется витаминно – рецепторный комплекс VD+VDR, который к тому же соединяется с другим витаминно-рецепторным комплексом, обозначаемым как RXR (Retinoid X receptor). В результате образуется гетеродимерная структура, после чего этот комплекс связывается с определенными последовательностями ДНК, называемыми «элементами ответа» витамина D (VDRE) в областях промотора генов, чувствительных к витамину D. Соответственно, этот тримерный комплекс VDR-RXR-VDRE можно рассматривать как «молекулярный переключатель в ядерной 1,25 (ОН) 2D3-сигнализации» [165].

Кальцитриол оказывает свое биологическое действие после связывания со специфическими рецепторами. Данный рецептор представляет собой белок с молекулярной массой 50 кДа, имеющий высокое сродство с 1,25(ОН)₂ D₃. Холекальциферол и эргокальциферол в исходном состоянии не способны связываться с этим рецептором, а эффективность связывания 25(ОН) D₃ составляет порядка 0,1–0,3% [166]. После взаимодействия с рецептором кальцитриол проходит через цитоплазматическую мембрану, избирательно связываясь с регуляторными областями соответствующих генов. Результатом такого взаимодействия является активация синтеза одних белков (кальций-связывающий белок, остеокальцин, остеопонтин, кальбидин, спермин-связывающий белок, орнитинкарбоксилаза, 24-гидроксилаза) и угнетение образования других (в частности, интерлейкинов ИЛ-2, ИЛ-12 и других провоспалительных цитокинов). Помимо геномного эффекта, кальцитриол стимулирует сигнальные молекулы (фосфолипазу А₂, фосфолипазу С и фосфатидилинозитол-3 киназу) и обеспечивает

негеномные действия с помощью мембранных рецепторов, которые опосредуются синтезом вторичных мессенджеров [136]: циклический АМФ (цАМФ), фосфатидилинозитол (3,4,5)-трисфосфат (PIP3), ионы Ca^{2+} , , протеинкиназа С (PKC), Ca^{2+} / кальмодулин-зависимая протеинкиназа II гамма (CaMKII γ), а также митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК) [38].

Кальцитриол модулирует экспрессию цитокинов. Получены данные, что при связывании с его рецептором 1,25 (ОН) $2D_3$ существенно влияет на транскрипционную активность в клетках. Гормон D снижает активность Th1-клеток за счет уменьшения продукции ИНФ- γ , ИЛ-2, ИЛ-12 и ФНО- α . Этот эффект сопровождается дополнительным повышением активности Th2-клеток, особенно из-за увеличения секреции ИЛ-10 и ее снижения ИЛ-2 [167–169].

Доказано биологическое значение витамина D для процессов репродукции, в том числе имплантации. Он служит регулятором эндометриальной экспрессии гена *HOXA10* в стромальных клетках эндометрия. Кальцитриол регулирует экспрессию *HOXA10* путем связывания VDR и взаимодействия с VDRE в регуляторной области *HOXA10*. В клинических исследованиях показано, что достаточный уровень витамина D [25(ОН)D в сыворотке крови более 30 нг/мл] улучшает результаты ВРТ по количеству клинических беременностей [170,171]. Помимо регуляции процессов децидуализации, витамин D также оказывает косвенное влияние на имплантацию благодаря его иммуномодулирующим свойствам. Во время беременности децидуальный синтез кальцитриола может влиять на естественные киллерные клетки ткани эндометрия, дендритные клетки, макрофаги и Т-клетки. Эти эффекты, включающие ингибирование Th1-цитокинов и стимуляцию продукции цитокинов Th2, играют значительную роль в процессе имплантации [172,173].

В научной литературе широко обсуждается тесная взаимосвязь прогестерона и кальцитриола в контроле иммунных реакций, ассоциированных с потерей беременности [14]. Доказано, что прогестерон контролирует образование VDR в Т-клетках, от чего зависит их чувствительность к кальцитриолу. Повышая экспрессию VDR, прогестерон контролирует активность Т-клеток с помощью

кальцитриола. Этот регуляторный путь дает возможность прогестерону усиливать индукцию регуляторных Т-клеток и подавлять активность клеток Th1 и Th17 [174].

В недавних исследованиях было показано, что у женщин с повторным выкидышем имеет место более низкий уровень экспрессии рецептора VDR в хорионических ворсинках, децидуальной оболочке и в сыворотке крови, чем у женщин с нормально протекающей беременностью. Это указывает на то, что снижение тканевой экспрессии рецептора VDR в I триместре беременности может быть связано с повторными репродуктивными потерями [152,176] и подтверждает гипотезу о синергичности биологических эффектов витамина D и прогестерона [142].

Имеются сведения о том, что концентрации 25 (ОН) D, трансформирующего фактора роста β (TGF- β) и экспрессия VDR в децидуальной ткани в когорте пациенток с повторными выкидышами значительно ниже по сравнению с контрольной группой, тогда как концентрации интерлейкина ИЛ-17 и ИЛ-23, напротив были значительно выше [137,153]. Однако в другом исследовании были получены данные, что в эндометрии женщин с привычным невынашиванием экспрессия ключевых компонентов в метаболических (CYP27B1/CYP24A1) и сигнальных (VDR) системах витамина D сопоставима с таковой в эндометрии здоровых фертильных женщин [32,177].

В ходе большого проспективного когортного исследования, включившего 1683 беременных женщин на сроках гестации до 22 недель, было доказано, что концентрация холекальциферола в сыворотке менее 50 нмоль/л связана с двукратным увеличением частоты выкидыша в I триместре беременности. Вместе с тем такой взаимосвязи у женщин с выкидышем во II триместре беременности не наблюдалось [184]. В гораздо более крупном исследовании по типу «случай–контроль» (более 5000 женщин) также не было выявлено связи между низкими уровнями 25 (ОН) D в сыворотке крови и неблагоприятными исходами беременности [183].

Мета-анализ, охвативший 13 когортных исследований с выборкой 28 285 жительниц из семи стран, показал, что распространённость недостатка витамина D

во время беременности колеблется от 13,2% до 77,3%. Его результаты дают основание предполагать, что недостаток витамина D ассоциируется с повышением риска задержки роста плода [182].

Несколько эпидемиологических исследований обнаружили связь между концентрацией 25-гидроксивитамина D [25 (ОН) D] и риском преждевременных родов [36,60]. В исследовании, включившем 1064 беременных женщин, наблюдавшихся в медицинском университете Южной Каролины, также была обнаружена четкая связь между концентрацией 25 (ОН) D и риском развития преждевременных родов. Женщины с сывороточным уровнем 25(ОН)D \geq 40 нг/мл имели риск развития преждевременных родов на 62% ниже по сравнению с имевшими уровень менее 20 нг/мл [92].

На основании анализа литературы можно предположить, что дефицит витамина D патогенетически значим для запуска различных механизмов патогенеза НБ, в том числе в первом триместре. Авторы научных публикаций единодушны в том, что в основе патогенеза НБ лежит дисфункция эндометрия. Для реализации иммунорегуляторных эффектов на уровне эндометрия требуется присутствие и активного участия кальцитриола и рецепторов витамина D, активность которых может зависеть от полиморфизма генов-кандидатов.

Существует необходимость углубленного изучения факторов, определяющих исход гестации в первом триместре в НБ. Недостаточность витамина D относится к факторам акушерского и перинатального риска, которые управляемы, то есть их отрицательное влияние может быть полностью нивелировано на этапе прекоцепции. Несмотря на многочисленность публикаций и разноплановость исследований, свидетельствующих о роли витамина D и его рецепторов в репродукции, взаимосвязь дефицита витамина D, НБ и полиморфизмов некоторых генов, связанных с тем и другим, практически не раскрыта, что и определило актуальность и выбор темы настоящего исследования.

ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 База, контингент и дизайн исследования

Методология и методы исследования. Настоящее проспективное когортное исследование выполнено в период 2017–2021 гг. на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института РУДН им. Патриса Лумумбы (зав. кафедрой – засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., проф. В.Е. Радзинский), в государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая больница им. В.М. Буянова Департамента здравоохранения г. Москвы» (гл. врач – к.м.н А.В. Саликов), государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая больница № 50 им. С.И. Спасокукоцкого филиал Родильный дом Департамента здравоохранения г. Москвы» (гл. врач – к.м.н. А.В. Погонин) и государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая больница № 1 им Пирогова филиал Родильный дом Департамента здравоохранения г. Москвы» (гл. врач – к.м.н. А.В. Свет) в рамках основного направления научно-исследовательской деятельности кафедры «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях» (номер гос. регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712).

Научной гипотезой настоящего исследования, которая требовала подтверждения или исключения, стало предположение, что недостаточность витамина D может служить предиктором НБ и/или патогенетически значимым конфаундером риска потери беременности в первом триместре гестации.

В исследовании приняли участие 178 женщин, удовлетворявших критериям включения, которые поступали в ургентный гинекологический стационар (основная группа). В нее вошли пациентки с верифицированной на госпитальном этапе НБ ($n = 101$). Учитывали коды МКБ-10 O02.0 (Погибшее плодное яйцо и непузырный занос) и O02.1 (Несостоявшийся выкидыш. Ранняя гибель плода с задержкой в матке). В свою очередь, основная группа была

стратифицирована на I группу, которую составили пациентки с первой НБ ($n = 58$) и II группу ($n = 43$) – пациентки с повторными НБ (двумя и более в анамнезе).

Контрольную группу формировали на амбулаторном этапе из числа беременных женщин на сроке гестации 5–12 недель ($n = 77$), которые при постановке на учет по беременности на базах женских консультаций ГКБ №1 им. Н. И. Пирогова, ЖК №1, №2, №4, №6, №8 филиал 25 РД, и ГКБ 50 им. С.И. Спасокукоцкого ЖК №1, №2, №3 филиал Родильный дом отвечали критериям включения (Z34.0).

Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

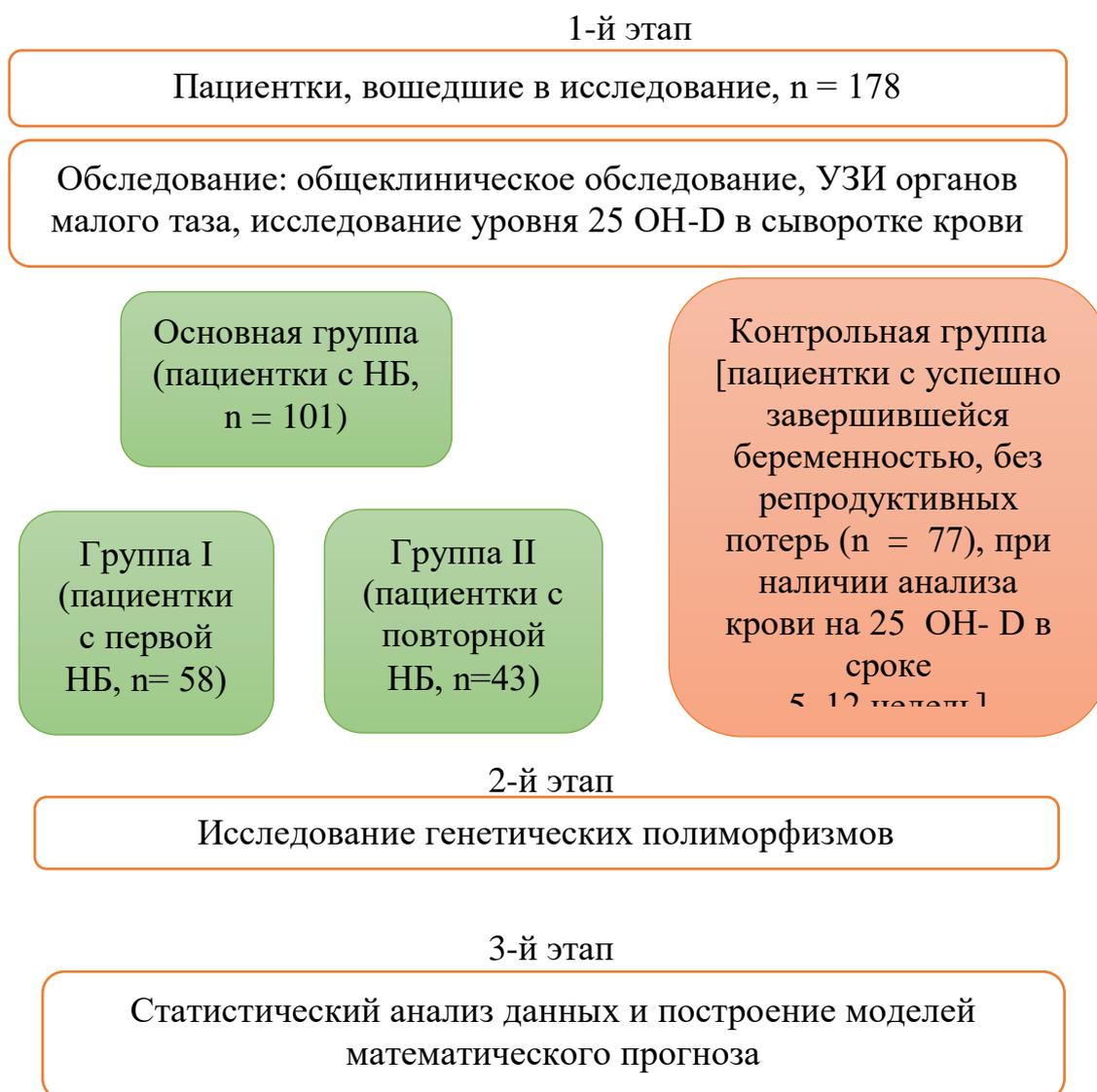


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критериями включения в основную группу послужили:

- репродуктивный возраст;
- наличие НБ (O02.0, O02.1), подтвержденной на госпитальном этапе (УЗИ, анализ на β - ХГЧ);
- забор крови на 25 (ОН)D в сроке 5–12 недель;
- русская национальность;
- проживание в Центральной России;
- информированное добровольное согласие пациентки.

Критерии исключения подразумевали:

- тяжелые, средней тяжести или декомпенсированные экстрагенитальные заболевания;
- подтвержденные генетические, анатомические, эндокринные, иммунологические, инфекционные причины НБ;
- онкологические заболевания;
- отказ от всех необходимых лечебно-диагностических мероприятий;
- прием препаратов или добавок нативного витамина D в течение последних трех месяцев;
- беременность, наступившую с применением вспомогательных репродуктивных технологий;
- осложненное течение послеабортного периода в анамнезе.

Критериями включения в контрольную группу явились:

- репродуктивный возраст;
- забор крови на 25(ОН)D в сроке 5–12 недель;
- срочные роды живым плодом с оценкой по шкале Апгар не ниже 8–9 баллов;
- русская национальность;
- проживание в Центральной России;
- информированное добровольное согласие пациентки.

Критериями исключения из контрольной группы послужили:

- тяжелые, средней тяжести или декомпенсированные экстрагенитальные заболевания;

- онкологические заболевания;
- прием препаратов или добавок витамина D в течение последних трех месяцев
- отказ от всех необходимых лечебно-диагностических мероприятий.

2.2 Методы исследования

Для определения соответствия вышеперечисленным критериям всех пациенток, поступивших в стационары на клинических базах РУДН, анкетировали, производили выкопировку данных из медицинской документации. При сборе анамнеза обращали внимание на возраст женщины, социальное положение, наличие вредных привычек, детали репродуктивного и гинекологического анамнеза, наличие экстрагенитальных заболеваний.

Акушерско-гинекологический анамнез: характер менструальной функции (возраст менархе, продолжительность и болезненность менструации, время установления регулярных менструаций, длительность менструального цикла), количество беременностей, особенности течения и исходы предыдущих беременностей (наличие в анамнезе медицинских и фармакологических аборт, самопроизвольных выкидышей, антенатальной гибели плода, неразвивающихся беременностей, внематочной беременности, преждевременных родов,), а также течение и особенности данной беременности.

Объективное обследование: оценка характера оволосения, осмотр кожных покровов, оценка состояния региональных лимфатических узлов оценка выраженности подкожно-жировой клетчатки, осмотр и пальпация щитовидной железы и молочных желез.

Индекс массы тела (ИМТ) измеряли в $\text{кг}/\text{м}^2$, рассчитывали по формуле Адольфа Кетле (1869):

$$\text{ИМТ} = \text{масса тела, кг} / (\text{длина тела, м})^2.$$

Использовали классификацию ожирения по ИМТ, согласно которой «дефицит массы тела выявлен при $\text{ИМТ} < 18,5 \text{ кг}/\text{м}^2$, нормой считали $\text{ИМТ} = 18,5\text{--}24,9 \text{ кг}/\text{м}^2$, избыточную массу тела фиксировали при $\text{ИМТ} = 25,0\text{--}29,9 \text{ кг}/\text{м}^2$, ожирение I

степени 30,0–34,9 кг/м², ожирение II степени при 35,0–39,9 кг/м², ожирение III степени при ИМТ $\geq 40,0$ кг/м²» (ВОЗ, 1997).

Проводили наружное акушерское исследование, наружную пельвиометрию, а также пальпацию живота (приемы Леопольда – Левицкого) и аускультацию акушерским стетоскопом (после 20 недель). Всем пациенткам было выполнено внутреннее акушерское исследование: осмотр наружных половых органов, оценка характера оволосения (по женскому или мужскому типу), состояние промежности, оценка развития малых и больших половых губ, наличие патологических процессов (кондиломы рубцы в области промежности, опухоли, геморроидальные узлы в области заднепроходного отверстия, воспаление). Осмотр вульвы и входа во влагалище, состояние наружного отверстия мочеиспускательного канала, парауретральные ходы и выводные протоки бартолиновых желез. Осмотр влагалища и шейки матки в зеркалах. В I триместре было выполнено двуручное исследование, а во II и III триместрах одноручное: пальпация стенок влагалища, его сводов; оценка характера выделений из половых путей, консистенции и положения матки; оценка длины, формы и консистенции шейки матки; наличие объемных образований в малом тазу, состояние придатков.

Всем беременным женщинам в основной группе на амбулаторном, и госпитальном этапе выполняли осуществляли УЗИ органов малого таза для верификации диагноза НБ, у пациенток группы контроля – для подтверждения прогрессирующей беременности. Исследование производили по общепринятой методике в реальном масштабе времени с помощью аппарата экспертной системы «Voluson S8» фирмы «GE Healthcare» (США), с использованием трансвагинального и трансабдоминального датчиков.

«Уровень общего 25(ОН)D в сыворотке крови (n = 99) определяли методом масс-спектрометрии, адаптированным к клинической практике согласно международным стандартам (DEQAS, NIST) по методике, аттестованной в соответствии с ГОСТ Р 8.563–2009 [4].

Образцы плазмы крови центрифугировали, к аликвоте супернатанта добавляли внутренний стандарт (25-ОН-D3-d6) и подвергали процедуре

жидкостной экстракции. Экстракт наносили на обращенно-фазную колонку (Acquity UPLC ВЕН С18, 1,7 μ , 2,1 \times 50 мм, соединенную с 0,2 μ предколоночным фильтром) с использованием жидкостного хроматографа Waters Acquity UPLC system (Milford, MA) в градиентной подвижной фазе. Детектирование ионов в режиме мониторинга множественных реакций выполняли на тандемном масс-спектрометре AB SCIEX QTRAP 5500 (AB SCIEX, Concord, ON, Канада) с источником химической ионизации при атмосферном давлении в позитивной моде. Количественный анализ выполняли средствами ПО Multiquant v3.0» [194]. Исследование осуществляли в лаборатории ООО «Клиника новых медицинских технологий АрхиМед» (зав. лабораторией – к. б. н. А. Н. Нижник).

В соответствии с действующими на момент исследования клиническими рекомендациями Российской Ассоциации эндокринологов, утвержденными Минздравом РФ Дефицит витамина D у взрослых, нормальный уровень витамина D диагностировали при уровне 25(OH)D – 30–100 нг/мл (75–250 нмоль/л), недостаточность – от 20 до 30 нг/мл (от 50 до 75 нмоль/л), дефицит – 10–20 нг/мл (50 нмоль/л), выраженный дефицит – менее 10 нг/мл [9; 51].

Для анализа встречаемости аллелей *C936T* гена *VEGF* (*rs3025039*), *Ile22Met* гена *MTRR* (*rs1801394*), *C/T* гена *VDR* (*rs10735810*), *Ala222Val* (*C677T*) гена *MTHFR* (*rs1801133*), *A1298C* гена *MTHFR* (*rs1801131*), *A2756G* (*Asp919Gly*) гена *MTR* (*rs1805087*) геномную ДНК выделяли из цельной крови с помощью набора реагентов «ДНК-ЭКСТРАН-1» (Синтол, Москва) в соответствии с протоколом, полученным от производителя. Для этого к 300 мкл цельной крови добавляли 900 мкл лизирующего раствора №1. Содержимое пробирки «перемешивали путем переворачивания и выдерживали при комнатной температуре 10 мин, периодически переворачивая пробирки. Затем смесь центрифугировали в течение 2 минут при 13000 об/мин. Удаляли супернатант, оставляя 20 мкл надосадочной жидкости, в объеме которой ресуспендировали лейкоциты.

Далее в пробирку добавляли 300 мкл лизирующего раствора №2 и перемешивали на вортексе. Для лизиса клеток в течение 10 мин инкубировали смесь при комнатной температуре. К лизату вносили 100 мкл осаждающего

раствора №1 и перемешивали на вортексе до появления хлопьев, затем центрифугировали в течение 2 мин при 13000 об/мин. Супернатант в полном объеме переносили в чистую пробирку и добавляли 300 мкл осаждающего раствора №2. Перемешивали переворачиванием до появления видимого осадка ДНК. Центрифугировали в течение 2 минут при 13000 об/мин, после чего удаляли супернатант. Для промывания ДНК к осадку добавляли 400 мкл промывочного раствора, и после чего перемешивали содержимое путем переворачивания пробирок. Снова центрифугировали в течение 2 минут при 13000 об/мин. Затем удаляли супернатант и сушили открытые пробирки при 37 °С до полного высыхания спирта. К осадку добавляли 100 мкл элюирующего раствора, перемешивали и прогревали пробирки при 65 °С в течение 5 мин для растворения ДНК. Полученный раствор ДНК хранили при температуре минус 20 °С»

В качестве основной методики для определения однонуклеотидных полиморфизмов ДНК был выбран метод ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). С этой целью использовали наборы реагентов «SNP-Скрин» НПК «Синтол». Система «SNP-скрин», обеспечивая проведение двухкомпонентного ПЦР-анализа (в данном случае использовали каналы FAM и HEX), позволяла определить индивидуальный генотип (один из трех возможных вариантов), исходя из результатов анализа двух аллелей исследуемого гена. Из составляющих набора для ПЦР готовили рабочий раствор, следуя протоколу изготовителя: на одну пробу брали 10 мкл разбавителя, 10 мкл реакционной смеси, 0,5 мкл Таq-полимеразы, после добавления которой полученную смесь перемешивали и центрифугировали. Затем добавляли 5 мкл раствора анализируемой ДНК (или контрольных образцов) и центрифугировали пробирки 3–5 с на центрифуге Vortex при комнатной температуре. ПЦР проводили с помощью амплификатора BIO-RAD CFX96 с программным обеспечением CFXManager™ (США) по программе амплификации, рекомендованной протоколом «Синтол»: 95°С – 3 мин (1 цикл), 95°С – 15 сек, 63°С – 40 сек.

Праймеры, которые были использованы в наборах для ПЦР-РВ от компании «Синтол», представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Праймеры наборов ПЦР-РВ (производства «Синтол», Россия), использованных в исследовании

Генотип	Праймер F	Праймер R
<i>VEGF (rs3025039)</i>	<i>GGCGGGTGACCCAGCA</i>	<i>GGTCCCTCTTGGA</i>
<i>MTRR (rs1801394)</i>	<i>CCATCGCAGAAGAAAT</i>	<i>TGTGAGCAAGCTGTGG</i>
<i>VDR (rs10735810)</i>	<i>CTGTTCTTACAGGGA</i>	<i>GGAGGCAATGGCGG</i>
<i>MTHFR (rs1801133)</i>	<i>AGGAGAAGGTGTCTGCGGGAG</i>	<i>CGATTTTCATCATCACGCAGCTTT</i>
<i>MTHFR (rs1801131)</i>	<i>AGGAGCTGACCAGTGAAG</i>	<i>AAGTGTCTTTGAAGTCTTC</i>
<i>MTR (rs1805087)</i>	<i>ATGAAGATATTAGACAGG</i>	<i>CCATTATGAGTCTCT</i>

Для создания электронной базы данных и их математической обработки в качестве основного программного обеспечения использовали пакет модулей программного обеспечения StatSoft®Inc (2011), Statistica version 10 (США, серийный номер STA999K347156-W), SAS JMP, version 11 и надстройку VBA-Excel Stat Reseach. После внесения в базу данных каждому параметру карты выкопировки, описывающему атрибутивный признак статистической единицы, отводили одну переменную, позиции по которым шифровали традиционным способом (0, 1, 2 и т.д.). Для количественных данных вычисляли среднее арифметическое (M), среднеквадратичное отклонение (SD). Для данных, отличных от нормального распределения, рассчитывали медиану (Me), нижний и верхний квартили (LQ, UQ).

Для сравнения двух групп по качественным переменным использовали непараметрический критерий Mann – Whitney (U-тест). Сравнение трех групп по качественным переменным для выявления взаимосвязи нескольких факторов (методы множественных попарных сравнений) производили на основе непараметрического критерия Kruskal – Wallis. Для оценки различия по группам по бинарным и номинальным показателям использовали критерий χ^2 Пирсона. Для подтверждения статистической однородности или различий дисперсии признаков в сравниваемых группах использовали однофакторный и многофакторный дисперсионный анализ. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

При сравнении категориальных переменных использовали показатель отношения шансов (ОШ) с границами 95% ДИ, которые при нахождении по одну сторону от единицы свидетельствовали о наличии значимых различий. Корреляционный анализ проводили с помощью расчета коэффициентов ранговой корреляции Спирмена или Пирсона. Значения коэффициента корреляции интерпретировали в соответствии со шкалой Чеддока: 0–0,3 – слабая, 0,3–0,7 – умеренная, 0,7–1,0 – сильная.

При выполнении однофакторного прогнозирования риска НБ «для количественных и бинарных факторов оценку статистической значимости влияния факторов на бинарную целевую переменную осуществляли с помощью критерия χ^2 Пирсона. Все факторы сортировали по убыванию значимости (статистика χ^2), и таким образом отбирали ключевые факторы риска развития НБ.

При расчете относительного риска (ОР) его понимали, как отношение риска наступления определенного события у лиц, подвергшихся воздействию фактора риска, по отношению к контрольной группе (группе без воздействия фактора). ОР = 1 означало, что нет разницы в риске между двумя группами. ОР < 1 означало, что в экспериментальной группе событие развивается реже, чем в контрольной. ОР > 1 расценивали как тот факт, что в основной группе событие развивается чаще, чем в контрольной» [193].

В ходе исследования были рассчитаны рискованные классы для вероятности НБ с помощью дерева решений. «Для этой цели всех пациентов разделяли на несколько рискованных классов целевого события с помощью комбинации влияющих факторов, после чего ранжировали классы по уровню риска. Для решения данной задачи использовали метод деревьев классификации. Главным преимуществом используемого метода является то, что он позволяет обрабатывать как количественные, так и номинальные переменные, а также получить интуитивно-понятную интерпретацию каждого рискованного класса с оценкой риска и размера класса» [195].

Построение дерева начинали с корня, обозначающего всю выборку. Далее выборку делили на две части. При делении по бинарной переменной выборку

разделяли на два класса, у одного из которых фактор «Есть», у другого – «Нет». При делении по количественной (числовой) переменной вычисляли точку отсечения, которая делила выборку на две части, выбирая лучшее для прогноза значение на основании статистики χ^2 .

Дерево решений позволяло использовать номинальные переменные, которые также делили выборку на две группы (в каждой из которых могло быть одно или более значений) на основании статистики χ^2 . Для каждой части выборки, которую называли вершиной, вычисляли оценку риска и размер класса. Далее получившиеся вершины опять делили, исходя из данных той части выборки, которая попала в эту вершину. Процесс заканчивали, когда пациенток в каждой вершине становилось достаточно мало, либо тогда, когда такое деление уже не имело прогностической ценности.

«Для оценки прогнозного качества построенного дерева решений использовали такие характеристики, как AuROC, чувствительность и специфичность. AuROC – площадь, ограниченная ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций. Чем выше показатель AuROC, тем качественнее классификатор, при этом значение 0,5 демонстрирует непригодность выбранного метода классификации (соответствует случайному гаданию). Если значение AuROC меньше 0,75, то прогнозные качества дерева находятся на низком уровне, при значениях меньше 0,85 – прогнозные качества на среднем уровне, а значения выше 0,85 говорят о высоком прогножном качестве модели. Чувствительность представляет собой долю истинно положительных результатов среди всех положительных, а специфичность, напротив, долю истинно отрицательных результатов среди всех отрицательных» [195].

Для получения инструмента прогнозирования НБ, имеющего прикладное значение, была разработана логистическая регрессионная модель. «Задачей логистического регрессионного моделирования являлось исследование структуры влияния сразу нескольких факторов на бинарную целевую переменную (отклик) и формирование прогнозных значений на основе новых значений факторов. Для построения модели использовали логистическую множественную регрессию с

пошаговым последовательным методом включения факторов в модель. Алгоритм прекращал добавлять новые факторы, когда коэффициент AuROC изменялся незначительно.

Для анализа структуры логистической регрессионной модели применяли коэффициенты регрессии и показатели изменения рисков, а также отношение шансов (ОШ). Коэффициент среднего удельного изменения риска показывал, на сколько процентов в среднем будет изменяться риск целевого события, если соответствующий фактор увеличится на одну единицу своего масштаба. Коэффициент среднего максимального изменения риска показывал, на сколько процентов в среднем будет изменяться риск отклика, если соответствующий фактор увеличится от минимального своего значения до максимального. Таким образом, данные показатели позволяли количественно интерпретировать влияние факторов по отношению к риску отклика.

Кроме того, для оценки статистической значимости каждого фактора рассчитывали уровень p на основе критерия Вальда. Статистическая значимость коэффициента регрессии свидетельствовала о надежной интеграции данного фактора в общую логистическую модель» [22].

Также «использовали AuROC для оценки качества построенной модели: значения AuROC ниже 0,7 соответствовали низкому прогнозному качеству построенной модели, значения от 0,7 до 0,8 – среднему уровню. При AuROC выше 0,8 модель имела высокий уровень качества» [22].

Выходные данные были сведены в таблицы. Таблицы, отобранные для описательной части исследования, представлены в соответствующих разделах диссертации.

ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОК

3.1 Медико-социальная характеристика женщин сравниваемых групп

В ходе настоящего исследования установлено, что пациентки с НБ в целом оказались старше женщин группы контроля (Таблица 2, Рисунок 2).

Их средний возраст составил $31,19 \pm 4,63$ года ($p = 0,0033$, соответственно $p_{1-3} < 0,01$, $p_{2-3} < 0,05$).

Таблица 2 – Средний возраст пациенток сравниваемых групп, лет

Группы	<i>N</i>	<i>Min</i>	<i>max</i>	<i>Mean</i> ± <i>SD</i>
Первая НБ	58	26	36	$31,43 \pm 4,83^*$
Повторные НБ	43	26	35	$30,86 \pm 4,39$
Контроль	77	25	33	$29,12 \pm 4,46^*$

Примечание – * – различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$)

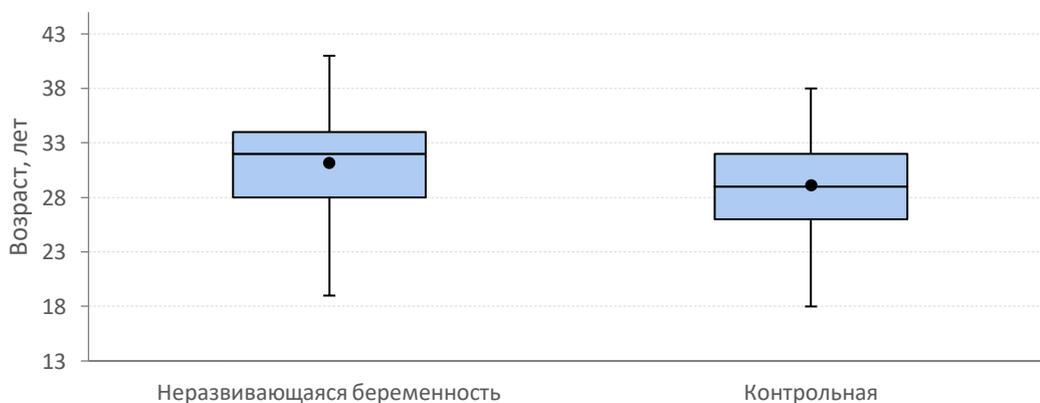


Рисунок 2 – Сравнение групп пациенток по возрасту

Как видно из данных, представленных на Рисунке 3, доля пациенток старше 25 лет в основной группе составила 62,3%, в группе контроля – 45,5% ($p = 0,026$).

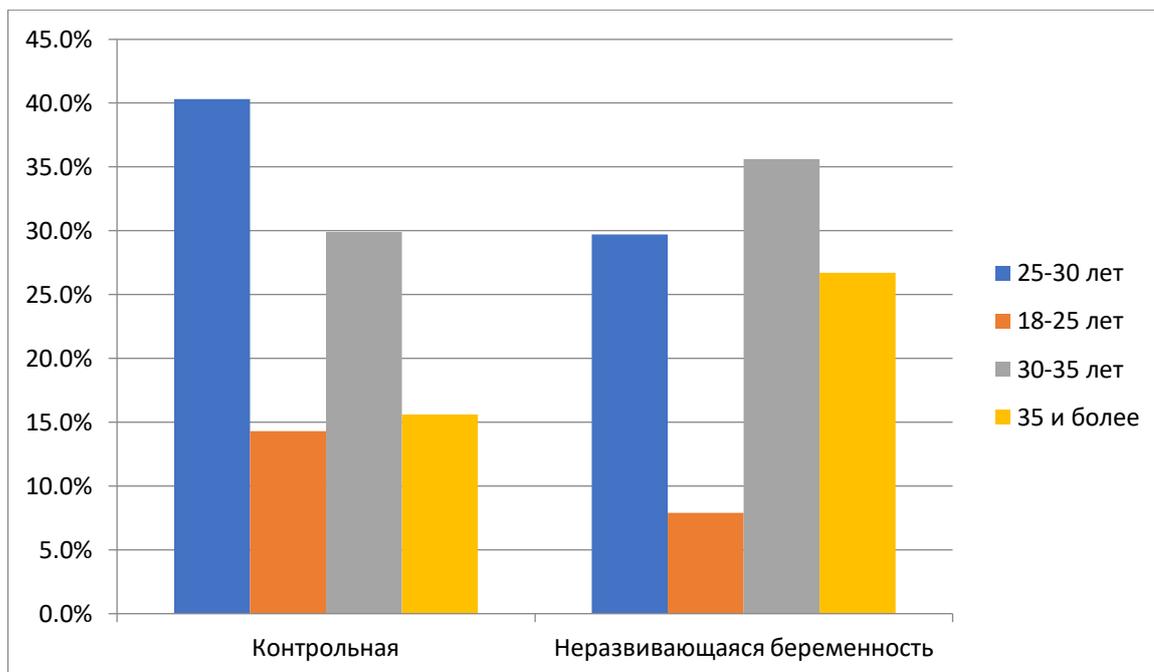


Рисунок 3 – Распределение пациенток сравниваемых групп по возрасту

Проведенный анализ показал, что среди пациенток с НБ в целом в обеих группах доля домохозяек (Таблица 3) оказалась в 1,9 раза больше, чем в группе контроля 47,5%, $p < 0,01$, а доля работниц умственного труда – в 1,5 раза меньше 44,5%, $p = 0,01$.

Таблица 3 – Распределение пациенток сравниваемых групп по социальному статусу, n (%)

Род занятий	I группа (n = 58)		II группа (n = 43)		Группа контроля (n = 77)		p
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Домохозяйка	23	39,7	25	58,1	19	24,7	1-2 = 0,0671 1-3 = 0,0625 2-3 = 0,0003
Работница умственного труда	29	50,0	16	37,2	51	66,2	1-2 = 0,2 1-3 = 0,057 2-3 = 0,022
Работница физического труда	6	10,3	2	4,7	7	9,1	1-2 = 0,3 1-3 = 0,8149 2-3 = 0,38

При анализе массива данных клинической антропометрии (Таблица 4) выявлено, что распределение по ИМТ в каждой из групп и в генеральной выборке было нормальным. Статистически значимых межгрупповых различий не обнаружено ($p > 0,05$).

Таблица 4 – ИМТ у пациенток сравниваемых групп, кг/м²

Группы	N	min	max	Mean \pm SD
Первая НБ	58	17,4	34,4	21,9 \pm 2,6
Повторные НБ	43	18,8	45,5	22,3 \pm 4,5
Контроль	77	19,6	36,7	24,8 \pm 3,6

Среди пациенток с НБ дефицит массы тела имели 2,0% (все они потеряли первую НБ – 3,4% от числа этих женщин), ожирение I–II степени было выявлено у 3,0%. В контрольной группе абсолютное большинство женщин были нормовесны, лишь у 7,8% было отмечено ожирение I–II степени ($p = 0,172$).

Анализ данных, полученных при анкетировании, показал, что для пациенток с НБ более характерны вредные привычки. При том, что все респондентки практически не употребляли алкоголь, курящих среди женщин с НБ оказалось в 8,7 раза больше (34,6% против 3,9% в группе контроля, $p < 0,001$). При этом межгрупповых различий по паритету потерь по признаку табакокурения не обнаружено (31,0% у пациенток с первой НБ, 39,5% – с повторной, $p = 0,3746$).

3.2 Экстрагенитальные заболевания обследованных пациенток

Проведенный анализ показал, что, несмотря на довольно жесткие критерии включения в настоящее исследование, сопутствующие хронические экстрагенитальные заболевания (ХЭГЗ) были выявлены (Таблица 12) у 32,6% пациенток с НБ и у 29,9% женщин, благополучно доносивших беременность ($p = 0,7$). При этом у женщин с первой НБ в анамнезе соматическая отягощенность оказалась значимо ниже, чем у пациенток с повторными НБ (соответственно 20,7% и 48,8%, $p = 0,0029$), в свою очередь, женщины с повторными НБ были значимо больше отягощены в сравнения с группой контроля (29,9%, $p = 0,0394$).

Анализ данных о спектре встречаемости ХЭГЗ, представленные в Таблице 5, показал, что для пациенток с НБ в целом в обеих группах оказались более характерны болезни системы пищеварения (17,8%) и органов дыхания (8,9%), в то время как в группе контроля лидировали болезни системы пищеварения (13,0%), органов дыхания (10,4%) и мочевыделительной системы (10,4%). Различий между группами пациенток с НБ не установлено ($p > 0,1$), за исключением органов дыхания, которые у перенесенных одну НБ наблюдались в 4,7 раза реже, чем у имевших в анамнезе повторные НБ (соответственно 3,5% против 16,3%, $p = 0,0259$). При этом различий с контролем для обеих групп не получено ($p > 0,1$).

Таблица 5 – Встречаемость экстрагенитальных заболеваний у женщин сравниваемых групп, n (%)

Группы	n	Болезни мочеполовой системы (N00-N99)		Болезни эндокринной системы (E00-E90)		Болезни нервной системы (G00-G99)		Болезни системы кровообращения (I00-I99)		Болезни органов пищеварения (K00-K93)		Болезни органов дыхания (J00-J99)		Болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы (K80-K87)	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Первая НБ	58	1	1,7	2	3,5	0	0,0	2	3,5	9	15,5	2	3,5*	1	1,7
Повторные НБ	43	3	7,0	1	2,3	2	4,7	1	2,3	9	20,9	7	16,3*	0	0,0
Контроль	77	8	10,4	5	6,5	1	1,3	6	7,8	10	13,0	8	10,4	2	2,6
Всего	178	12	6,7	8	4,5	3	1,7	9	5,0	28	15,7	17	9,6	3	1,7

Примечание – различия значимы ($p = 0,0259$)

3.3 Репродуктивный анамнез и гинекологическое здоровье

Проведенный анализ показал, что абсолютное большинство обследованных женщин имели своевременное менархе (Таблица 6, $p > 0,05$) и его показатель во всех группах статистически значимо не различался.

Таблица 6 – Возраст менархе пациенток сравниваемых групп, n (лет)

Группы	n	min	max	Mean±SD
Первая НБ	58	11	16	13,0 ± 1,1
Повторные НБ	43	11	17	12,8 ± 1,3
Контроль	77	10	17	13,1 ± 1,1

При сравнении показателя длительности менструации (Таблица 7) также не было выявлено значимых различий (не более 7 дней во всех группах, $p = 0,787$).

Таблица 7 – Длительность менструации у женщин сравниваемых групп, n (дни)

Группы	n	min	max	Mean±SD
Первая НБ	58	1	6	5,0 ± 0,8
Повторные НБ	43	2	6	5,1 ± 0,9
Контроль	77	1	4	5,2 ± 1,1

По длительности менструального цикла межгрупповых различий установлено не было ($p > 0,05$), при этом во всех группах не обнаружено отклонений от значений, которые принято считать нормальными (Таблица 8).

Таблица 8 – Длительность менструального цикла у женщин сравниваемых групп, n (дни)

Группы	n	min	Max	Mean ± SD
Первая НБ	58	24	59	29,1±5,1
Повторные НБ	43	24	38	28,8±2,5
Контроль	77	25	60	29,0±4,3

Вместе с тем при анализе массива данных установлено (Таблица 9), что пациентки с НБ в целом в обеих группах значимо чаще отмечали обильные менструации при регулярном цикле (16,8% против 3,9% в контроле, $p = 0,007$) и нерегулярные менструации (5,0%, в контроле – не зарегистрировано, $p = 0,046$). Суммарно они составили 21,8% против 3,9% в контроле ($p < 0,001$). При этом у женщин с НБ в анамнезе в 2,8 раза чаще имели место указания на дисменорею ($p = 0,003$).

Как видно из данных, представленных в Таблице 8, у каждой одиннадцатой пациентки с НБ (9,9%) в анамнезе был зафиксирован хронический сальпингофорит, которого не было ни в одном наблюдении в контрольной группе ($p = 0,0045$). Дисменорея оказалась более характерной для пациенток с повторными НБ, однако

различия между группами с НБ оказались незначимы.

Таблица 9 – Гинекологические заболевания в анамнезе у женщин сравнимых групп, n (%)

Заболевания	Первая НБ (n = 58)		Повторные НБ (n = 43)		Контроль (n = 77)		p
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Хр. сальпингоофорит (N70.1)	6	10,3*	4	9,3*	0	0*	p ₁₋₃ = 0,004 p ₂₋₃ = 0,006
Заболевания шейки матки (N72, N84,1, N86, N87, N88)	17	29,3	6	13,9	14	18,2	p ₁₋₂ = 0,068 p ₁₋₃ = 0,129 p ₂₋₃ = 0,544
Обильные и частые менструации при регулярном цикле (N92.0)	11	19,0*	6	14,0*	3	3,9*	p ₁₋₂ = 0,507 p ₁₋₃ = 0,0044 p ₂₋₃ = 0,0442
Нерегулярные менструации неуточненные (N92.6)	3	5,2*	2	9,3*	0	0	p ₁₋₂ = 0,423 p ₁₋₃ = 0,043 p ₂₋₃ = 0,006
Дисменорея неуточненная (N94.6)	5	8,6	6	13,9*	3	3,9*	p ₁₋₂ = 0,507 p ₁₋₃ = 0,3972 p ₂₋₃ = 0,0459

В целом у всех пациенток с НБ в первом триместре гестации гинекологические заболевания встречались чаще, чем у женщин группы контроля (48,5% против 24,7%, $p = 0,0012$), при этом изучаемый показатель в группе пациенток с первой НБ оказался в 1,4 раза выше, чем в группе с повторными НБ (соответственно 55,2% против 39,5%, $p = 0,088$) и в 2,2 раза выше в сравнении с контролем ($p = 0,0003$).

В результате проведенного исследования различий по возрасту начала половой жизни (Таблица 10) между пациентками с НБ и женщинами контрольной группы выявлено не было ($p = 0,444$).

Таблица 10 – Возраст начала половой жизни у женщин сравнимых групп, n (лет)

Группы	n	min	max	Mean±SD
Первая НБ	58	14	23	18,0 ± 1,9
Повторные НБ	43	14	24	18,2 ± 1,8

Контроль	77	13	26	17,8 ± 1,9
----------	----	----	----	------------

В то же время установлены ожидаемые значимые различия (Таблица 11) между группой пациенток с повторными НБ и контролем по паритету беременности – число беременностей в анамнезе у женщин с репродуктивными потерями оказалось почти вдвое больше ($p = 0,0001$).

Таблица 11 – Паритет беременности у женщин сравниваемых групп, абс. числа

Группы	n	min	max	Mean ± SD	p
Первая НБ	58	1	6	1,9±1,0	< 0,2102
Повторные НБ	43	2	6	3,1±1,2*	< 0,0001
Контроль	77	1	4	1,6±0,7*	< 0,0001

По паритету родов также были получены статистически значимые различия между пациентками с НБ и контролем (Таблица 12).

Таблица 12 – Паритет родов у женщин сравниваемых групп, абс. числа

Группы	n	min	max	Mean ± SD	p
Первая НБ	58	0	3	0,6±0,7*	0,9662
Повторные НБ	43	0	4	0,7±1,0*	< 0,0001
Контроль	77	1	4	1,6±0,7*	< 0,0001

Проведенный анализ показал, что для прерывания беременности у пациенток с НБ чаще использовали медикаментозный способ, нежели хирургический (70,3% против 29,7%, $p = 0,0002$). Вместе с тем обращает внимание, что каждой четвертой женщине с первой НБ в анамнезе и более, чем каждой третьей пациентке с повторными НБ для прерывания использовали хирургический метод, что закономерно создавало риск дополнительной травмы эндометрия.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Результаты определения 25-ОН витамина D в сыворотке крови

В ходе исследования установлено (Рисунок 4), что у пациенток с НБ в первом триместре гестации в сравнении с группой контроля значимо чаще имела место недостаточность витамина D (93,3% против 76,9%, $p = 0,0183$), в том числе его дефицит-уровень 25(ОН)D менее 20 нг/мл (71,6% против 51,3%, $p = 0,0392$).

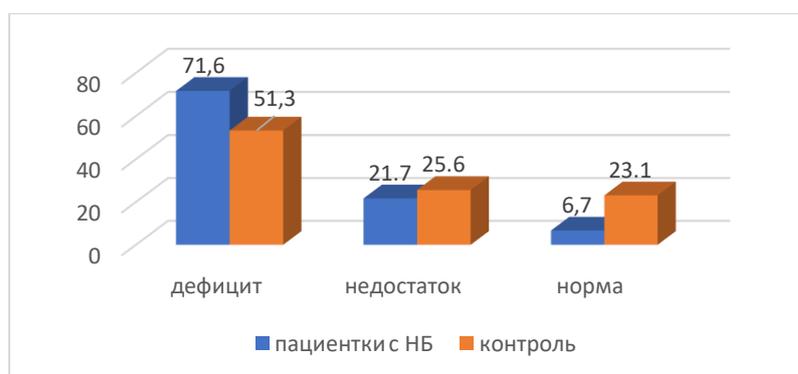


Рисунок 4 – Структура недостаточности витамина D у обследованных пациенток

Как видно из данных, представленных в Таблице 13, эта закономерность оказалась более характерна для пациенток с первой НБ, где также были выявлены различия по частоте дефицита витамина D с контрольной группой.

Таблица 13 – Уровень сывороточного 25(ОН)D (нг/мл) у обследованных пациенток

Уровень 25(ОН)D	Первая НБ (n =30)		Повторные НБ (n =30)		Контроль (n =39)		p
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Оптимальный уровень (более 30 нг/мл)	2	6,7	2	6,7	9	23,1	$p_{1-3}=0,0654$ $p_{2-3}=0,0654$
Недостаток (20-29 нг/мл)	4	13,3	9	30,0	10	25,6	$p_{1-3}=0,1368$ $p_{2-3}=0,8702$
Дефицит (менее 20 нг/мл)	24	80,0	19	63,3	20	51,3	$p_{1-3}=0,014$ $p_{2-3}=0,32$
в том числе тяжёлый дефицит (менее 10 нг/мл)	10	33,3	7	23,3	8	20,5	$p_{1-3}=0,2299$ $p_{2-3}=0,7798$

4.2 Результаты молекулярно-генетического тестирования обследованных пациенток на носительство полиморфизмов генов *VDR*, *MTHFR*, *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *VEGFA*

В ходе комплексного анализа встречаемости вариантных аллелей и генотипов гена *VDR A>G [rs10735810]*, генов обмена фолиевой кислоты *MTHFR 677 C>T [rs1801133]* и *1298 A>C [rs1801131]*, *MTRR 66 A>G [rs1801394]*, *MTR 2756 A>G [rs1805087]*, и гена сосудистого эндотелиального фактора роста *VEGFA C>T [rs3025039]* у пациенток с НБ и женщин контрольной группы не было обнаружено прямой зависимости частоты НБ в первом триместре от варианта полиморфизмов гена рецептора витамина D (*VDR A>G [rs10735810]*).

Как видно из Таблицы 14, генотип *GG VDR* у пациенток с повторными НБ в сравнении с контролем встречался даже реже (14,0% и 23,7% соответственно, $ОШ_{1-3} = 1,14$; 95%-й ДИ 0,43–3,039; $ОШ_{2-3} = 2,29$; 95%-й ДИ 0,738–7,075; $ОШ_{1-2} = 2$; 95%-й ДИ 0,602–6,642).

Таблица 14 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *VDR A> G [rs10735810]* у обследованных пациенток

Ген	Генотип и аллели	Первая НБ (n = 58)		Повторные НБ (n = 43)		Группа контроля (n = 76)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<i>VDR A-G</i>	<i>AG</i>	30	51,7	21	48,8	37	48,7	$p_{1-3} = 0,789$
	<i>AA</i>	16	27,6	16	37,2	21	27,6	$p_{2-3} = 0,1472$
	<i>GG</i>	12	20,7	6	14,0	18	23,7	$p_{1-2} = 0,254$
	<i>A</i>	62	53,4	53	61,6	79	52,0	$p_{1-3} = 0,8107$
	<i>G</i>	54	46,6	33	38,4	73	48,0	$p_{2-3} = 0,1500$ $p_{1-2} = 0,2457$

Полиморфные варианты генов фолатного цикла могут приводить к нарушениям обмена гомоцистеина, которые, в свою очередь, способствуют образованию микротромбозов в спиральных артериях. В ходе исследования не выявлена ассоциация генотипов *CC* и *TT* гена *MTHFR C> T [rs1801133]* ($ОШ_{1-3} = 1,88$; 95%-й ДИ 0,514–6,87; $ОШ_{2-3} = 1,09$; 95%-й ДИ 0,288–4,127; $ОШ_{1-2} = 0,58$; 95%-й ДИ 0,129–2,609), и генотипов *AA* и *CC* гена *MTHFR [rs1801131]* с НБ

первого триместра ($ОШ_{1-3} = 0,58$; 95%-й ДИ 0,213–1,584; $ОШ_{2-3} = 1,02$; 95%-й ДИ 0,325–3,193;

$ОШ_{1-2} = 1,75$; 95%-й ДИ 0,553–5,559). Установлено, что наибольшие различия между группами наблюдаются по генотипу *TT*, который чаще встречается в группе контроля по сравнению с первой НБ (10,5% против 6,9%), и по генотипу *CC*, преимущественно встречающийся при первой НБ по сравнению с контролем (19,0% против 13,2%). Данные соответственно представлены в Таблицах 15 и 16.

Таблица 15 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *MTHFR 677 C> T [rs1801133]* у обследованных пациенток

Ген	Генотип и аллели	Первая НБ (n = 58)		Повторные НБ (n = 43)		Группа контроля (n = 76)		P
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<i>MTHFR</i> <i>C-T</i>	<i>CC</i>	31	53,5	18	41,9	33	43,4	$p_{1-3} = 0,3354$
	<i>CT</i>	23	39,7	21	48,8	35	46,1	$p_{2-3} = 0,8980$
	<i>TT</i>	4	6,9	4	9,3	8	10,5	$p_{1-2} = 0,4749$
	<i>C</i>	85	73,3	57	66,3	101	66,4	$p_{1-3} = 0,2294$
	<i>T</i>	31	26,7	29	33,7	51	33,6	$p_{2-3} = 0,9789$ $p_{1-2} = 0,2819$
Примечание – различия статистически не значимы ($p > 0,05$)								

Таблица 16 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *MTHFR 1298 A> C [rs1801131]* у обследованных пациенток

Ген	Генотип и аллели	Первая НБ (n = 58)		Повторные НБ (n = 43)		Группа контроля (n = 76)		P
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<i>MTHFR</i> <i>A - C</i>	<i>AA</i>	23	39,7	22	52,4	36	47,4	$p_{1-3} = 0,2862$
	<i>AC</i>	24	41,4	14	33,3	30	39,5	$p_{2-3} = 0,9749$
	<i>CC</i>	11	19,0	6	14,3	10	13,2	$p_{1-2} = 0,3373$
	<i>A</i>	70	60,3	58	69,0	102	67,1	$p_{1-3} = 0,2528$
	<i>C</i>	46	39,7	26	31,0	50	32,9	$p_{2-3} = 0,7598$ $p_{1-2} = 0,2057$

Также в результате исследования не выявлена ассоциация генотипов *MTRR 66 A> G [rs1801394]* с НБ ($ОШ_{1-3} = 0,65$; 95%-й ДИ 0,245–1,707; $ОШ_{2-3} = 1,35$; 95%-й ДИ 0,477–3,806; $ОШ_{1-2} = 2,08$; 95%-й ДИ 0,696–6,232). При этом генотип *AA* преимущественно встречался у пациенток с повторной НБ. Установлено, что

наименьшее различие между группами наблюдается по значению *AG* (Таблица 17).

Таблица 17 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *MTRR 66 A > G [rs1801394]* у обследованных пациенток

Ген	Генотип и аллели	Первая НБ (n = 58)		Повторные НБ (n = 43)		Группа контроля (n = 76)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<i>MTRR A-G</i>	<i>AG</i>	26	44,8	20	46,5	38	50,0	p ₁₋₃ = 0,3780 p ₂₋₃ = 0,5730 p ₁₋₂ = 0,1868
	<i>GG</i>	21	36,2	11	25,6	21	27,6	
	<i>AA</i>	11	19,0	12	27,9	17	22,4	
	<i>A</i>	48	41,4	44	51,2	72	47,4	p ₁₋₃ = 0,3286 p ₂₋₃ = 0,5737 p ₁₋₂ = 0,1674
	<i>G</i>	68	58,6	42	48,8	80	52,6	

На основании Таблицы 18 можно также сделать вывод об явном отсутствии межгрупповых различий по генотипу *MTR 66 A > G [rs1805087]*.

Таблица 18 – Встречаемость генотипов и аллелей гена *MTR 66 A > G [rs1805087]* у обследованных пациенток

Ген	Генотип и аллели	Первая НБ (n = 58)		Повторные НБ (n = 43)		Группа контроля (n = 76)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<i>MTR A-G</i>	<i>AA</i>	35	60,3	22	51,2	48	63,2	p ₁₋₃ = 0,2685 p ₂₋₃ = 0,3528 p ₁₋₂ = 0,9524
	<i>AG</i>	18	31,0	18	41,9	25	32,9	
	<i>GG</i>	5	8,6	3	7,0	3	4,0	
	<i>A</i>	88	75,9	62	72,1	121	79,6	p ₁₋₃ = 0,4637 p ₂₋₃ = 0,1866 p ₁₋₂ = 0,5446
	<i>G</i>	28	24,1	24	27,9	31	20,4	

Тенденция такого рода прослеживается лишь по значению *GG*, которое чаще встречается в группе с первой НБ по сравнению с контролем ($p > 0,1$).

В ходе исследования (Таблица 19) не обнаружена прямая зависимость и частоты НБ от варианта полиморфизмов гена *VEGF C > T [rs3025039]* (ОШ₁₋₃ = 2,71; 95%-й ДИ 0,522–14,094; ОШ₂₋₃ = 1,9; 95%-й ДИ 0,362–10; ОШ₁₋₂ = 0,7; 95%-й ДИ 0,094–5,24).

Более того, как видно из данных, представленных в Таблице 20 полиморфизм *TT*, несколько чаще встречался в группе контроля в сравнении с первой НБ.

Таблица 19 – Частота встречаемости аллелей и полиморфизмов *VEGF C> T* [rs3025039] у обследованных пациенток

Ген	Генотип и аллели	Первая НБ (n = 58)		Повторные НБ (n = 43)		Группа контроля (n = 76)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<i>VEGF C> T</i>	<i>CC</i>	47	81,0	33	76,7	52	68,4	p ₁₋₃ = 0,2197 p ₂₋₃ = 0,4404 p ₁₋₂ = 0,7290
	<i>CT</i>	9	15,5	8	18,6	18	23,7	
	<i>TT</i>	2	3,5	2	4,6	6	7,9	
	<i>C</i>	103	88,8	74	86,0	122	80,3	p ₁₋₃ = 0,0594 p ₂₋₃ = 0,2609 p ₁₋₂ = 0,5578
	<i>T</i>	13	11,2	12	14,0	30	19,7	

4.3 Результаты анализа взаимосвязи встречаемости полиморфизмов генов *VDR*, *MTHFR*, *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *VEGFA* и недостаточности витамина D

По результатам множественных попарных сравнений полиморфизмов генов *VDR*, *MTHFR*, *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *VEGFA* и недостаточности витамина D (Таблица 20) у женщин с НБ установлено наличие связи вариантов встречаемости полиморфизмов гена *VDR* с дефицитом витамина D и тяжелым лабораторным дефицитом (p₁₋₂ = 0,0304).

Таблица 20 – Взаимосвязь генотипа *VDR A> G* [rs10735810] и уровня витамина D

Генотип	Уровень 25 (ОН) D								P
	Тяжёлый дефицит		Дефицит		Недостаток		Оптимальный уровень		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Пациентки с НБ (n=60)									0,03*
<i>AA</i>	9	52,9	4	15,4	5	38,5	1	25,0	
<i>AG</i>	7	41,2	18	69,2	5	38,5	2	50,0	
<i>GG</i>	1	5,9	4	15,4	3	23,1	1	25,0	
Пациентки группы контроля (n=39)									0,16
<i>AA</i>	5	62,5	4	33,3	3	27,3	4	44,4	
<i>AG</i>	3	37,5	4	33,3	3	27,3	3	33,3	
<i>GG</i>	0	0,0	4	33,3	5	45,5	2	22,2	

В ходе проведенного исследования не обнаружено взаимосвязи между частотой встречаемости генотипов гена *MTHFR 1298 A>C* и риском развития НБ

($p_{1-2} = 0,7613$, $p_3 = 0,8522$), но обнаружена (Таблица 21) взаимосвязь встречаемости генотипов гена *MTHFR* 677 C>T и тяжелого дефицита витамина D ($p = 0,0180$).

Таблица 21 – Взаимосвязь генотипа *MTHFR* 677 C> T [*rs1801133*], *MTHFR* 1298 A> C [*rs1801131*] и недостаточности витамина D

Генотип		Уровень 25 (ОН) D								p
		Тяжёлый дефицит		Дефицит		Недостаток		Норма		
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Пациентки с НБ (n=60)										0,01*
<i>MTHFR</i> C> T	CC	4	23,5	14	53,8	5	38,5	4	100,0	
	CT	10	58,8	11	42,3	6	46,2	0	0,0	
	TT	3	17,6	1	3,8	2	15,4	0	0,0	
Пациентки группы контроля (n=39)										0,17
<i>MTHFR</i> C> T	CC	2	25,0	5	41,7	5	45,5	6	66,7	
	CT	5	62,5	5	41,7	6	54,5	3	33,3	
	TT	1	12,5	2	16,7	0	0,0	0	0,0	
Пациентки с НБ (n=60)										0,76
<i>MTHFR</i> A> C	AA	7	41,2	11	44,0	7	53,8	1	25,0	
	AC	6	35,3	12	48,0	4	30,8	2	50,0	
	CC	4	23,5	2	8,0	2	15,4	1	25,0	
Пациентки группы контроля (n=39)										0,85
<i>MTHFR</i> A> C	AA	4	50,0	6	50,0	3	27,3	3	33,3	
	AC	3	37,5	4	33,3	5	45,5	5	55,6	
	CC	1	12,5	2	16,7	3	27,3	1	11,1	

Статистически значимых доказательств между уровнем сывороточного витамина D, наличием определённого генотипа генов *MTRR* A> G и *MTR* A> G и риском репродуктивных потерь (Таблица 22) также не обнаружено ($p_{1-2} = 0,8790$, $p_3 = 0,8175$ и $p_{1-2} = 0,9575$, $p_3 = 0,2458$ соответственно). Однако генотип MTR 66 GG имел определенную ассоциацию с тяжелым дефицитом.

Таблица 22 – Взаимосвязь генотипа *MTRR* 66 *A > G* [*rs1801394*], *MTR* 66 *A > G* [*rs1805087*] и недостаточности витамина D

Генотип		Уровень сывороточного витамина D								p
		Тяжёлый дефицит		Дефицит		Недостаток		Норма		
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Пациентки с НБ (n=60)										0,57
<i>MTRR</i> <i>A > G</i>	<i>AA</i>	7	41,2	6	23,1	6	46,2	1	25,0	
	<i>AG</i>	6	35,3	14	53,8	5	38,5	1	25,0	
	<i>GG</i>	4	23,5	6	23,1	2	15,4	2	50,0	
Пациентки группы контроля (n=39)										0,81
<i>MTRR</i> <i>A > G</i>	<i>AA</i>	2	25,0	4	33,3	2	18,2	4	44,4	
	<i>AG</i>	4	50,0	4	33,3	6	54,5	4	44,4	
	<i>GG</i>	2	25,0	4	33,3	3	27,3	1	11,1	
Пациентки с НБ (n=60)										0,95
<i>MTR</i> <i>A > G</i>	<i>AA</i>	10	58,8	16	61,5	7	53,8	3	75,0	
	<i>AG</i>	6	35,3	7	26,9	5	38,5	1	25,0	
	<i>GG</i>	1	5,9	3	11,5	1	7,7	0	0,0	
Пациентки группы контроля (n=39)										0,24
<i>MTR</i> <i>A > G</i>	<i>AA</i>	3	37,5	10	83,3	7	63,6	5	55,6	
	<i>AG</i>	3	37,5	2	16,7	4	36,4	3	33,3	
	<i>GG</i>	2	25,0	0	0,0	0	0,0	1	11,1	

Частоты гена *VEGF* генотипов *CC*, *CT* и *TT* (Таблица 23) значимо не отличались между группами ($p_{1-2} = 0,3693$, $p_3 = 0,5875$).

Таблица 23 – Взаимосвязь генотипа *VEGF* *C > T* [*rs3025039*] и недостаточности витамина D

Генотип		Уровень сывороточного витамина D								p
		Тяжёлый дефицит		Дефицит		Недостаток		Норма		
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Пациентки с НБ (n=60)										0,36
<i>CC</i>		13	76,5	18	69,2	12	92,3	4	100,0	
<i>CT</i>		2	11,8	7	26,9	1	7,7	0	0,0	
<i>TT</i>		2	11,8	1	3,8	0	0,0	0	0,0	
Пациентки группы контроля (n=39)										0,58
<i>CC</i>		6	75,0	8	66,7	8	72,7	6	66,7	
<i>CT</i>		2	25,0	2	16,7	3	27,3	1	11,1	
<i>TT</i>		0	0,0	2	16,7	0	0,0	2	22,2	

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют в пользу косвенного подтверждения гипотезы настоящего исследования – взаимосвязи риска НБ, дефицита витамина D, особенно тяжелого, и полиморфных вариантов генов – гена *VDR*, предопределяющего потенциальную активность рецепторов витамина D, а также геном *MTHFR 677 C>T*, участвующим в регуляции фолатного цикла.

**ГЛАВА 5. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ
МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ
ПОВТОРНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ ПРИ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ
БЕРЕМЕННОСТИ В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ**

5.1 Однофакторное прогнозирование риска НБ

В данном разделе представлены результаты статистического однофакторного прогнозирования риска НБ для количественных и бинарных факторов (Таблица 24).

Таблица 24 – Факторы риска НБ

Фактор риска	Фактор – нет		Фактор – есть		Изменение риска (95%-й ДИ)	Относительный риск (95%-й ДИ)	p
	абс.	%	абс.	%			
Курение	66	47,1	35	92,1*	45,0 (33,1; 56,9) %	1,95 (1,60; 2,38)	< 0,0001
Расстройства менструации: N92.0 – обильные и частые менструации при регулярном цикле, N92.6 – нерегулярные менструации неуточненные, N94.4 – первичная дисменорея	68	48,9	33	84,6*	35,7 (21,6; 49,7) %	1,73 (1,39; 2,15)	< 0,0001
Возраст, лет $\geq 33,0$	54	47,8	47	72,3*	24,5 (10,3; 38,8) %	1,51 (1,18; 1,93)	0,0015
Возраст менархе, лет < 13,0	50	47,2	51	70,8*	23,7 (9,5; 37,8) %	1,5 (1,17; 1,93)	0,0018
Род деятельности (Домохозяйка)	53	47,7	48	71,6*	23,9 (9,7; 38,1) %	1,5 (1,17; 1,92)	0,0018
25 ОН-витамин D <30 нг/мл	4	30,8	56	64,4*	33,6 (6,6;60,6)	2,09 (0,91;4,80)	0,0211
25 ОН-витамин D <6,5 нг/мл	49	56,3	11	91,7*	35,3 (16,6; 54,1) %	1,63 (1,27; 2,09)	0,0188

В ходе исследования установлено, что у курящих женщин риск НБ значительно увеличивается, практически в 2 раза. Что касается расстройств менструации, то, как видно из представленных в Таблице 24 данных, риск НБ при их наличии возрастает в 1,7 раза. Интересен тот факт, что для женщин старше 30 лет риск НБ в 1,3 раза повышается [1,33; 95%-й ДИ 1,03–1,73; p = 0,0292], в то время как для женщин старше 33 лет риск повышается уже в 1,5 раза.

Интересные данные были получены и в отношении недостаточности витамина D. Уровень витамина D < 30 нг/мл оказался связан с повышением риска НБ вдвое. Примечательно, что у 13 обследованных пациенток был выявлен выраженный дефицит витамина (D ≤ 6,5 нг/мл), у 12 из которых была НБ. В результате анализа, установлено, что такой уровень 25 (ОН) D сам по себе приводит к повышению риска НБ в 1,7 раза.

На основании полученных данных (Таблица 24) можно сделать вывод о том, что значимое влияние на риск НБ, с диапазоном прироста уровней рисков от 6,6% до 60,6%, имеют шесть предикторов, а именно курение, расстройства менструации (N92.0 - обильные и частые менструации при регулярном цикле, N92.6 - нерегулярные менструации неуточненные, N94.4 - первичная дисменорея), пациентки старше 33 лет, менархе до 13 лет, домохозяйки, и уровень 25 ОН-витамина D < 30 нг/мл. Среди них лидируют курение, расстройства менструации (N92.0 – обильные и частые менструации при регулярном цикле, N92.6 – нерегулярные менструации неуточненные, N94.4 – первичная дисменорея) и возраст старше 33 лет.

5.2 Формирование рискованных классов НБ с помощью дерева классификации (CHAID анализ)

Возможность стратифицировать пациентку в группу риска по НБ в современной ситуации может реально упростить работу практикующего врача акушера-гинеколога с помощью экспресс-диагностики. На основании достижения дерева решений CHAID (Рисунок 5) были выделены рискованные классы, и определено, что самый высокий риск потери беременности в изучаемой когорте формирует интегральное влияние комбинации трех предикторов: курение, расстройства менструации и уровень сывороточного 25(ОН)D менее 30 нг/мл.

В Таблице 25 представлены средние изменения рисков, отношения шансов, коэффициенты логистической регрессионной модели и их уровень значимости НБ для следующих факторов: курение, недостаточность витамина D, возраст моложе 33 лет, полиморфизм гена *MTR GG* и расстройства менструации.

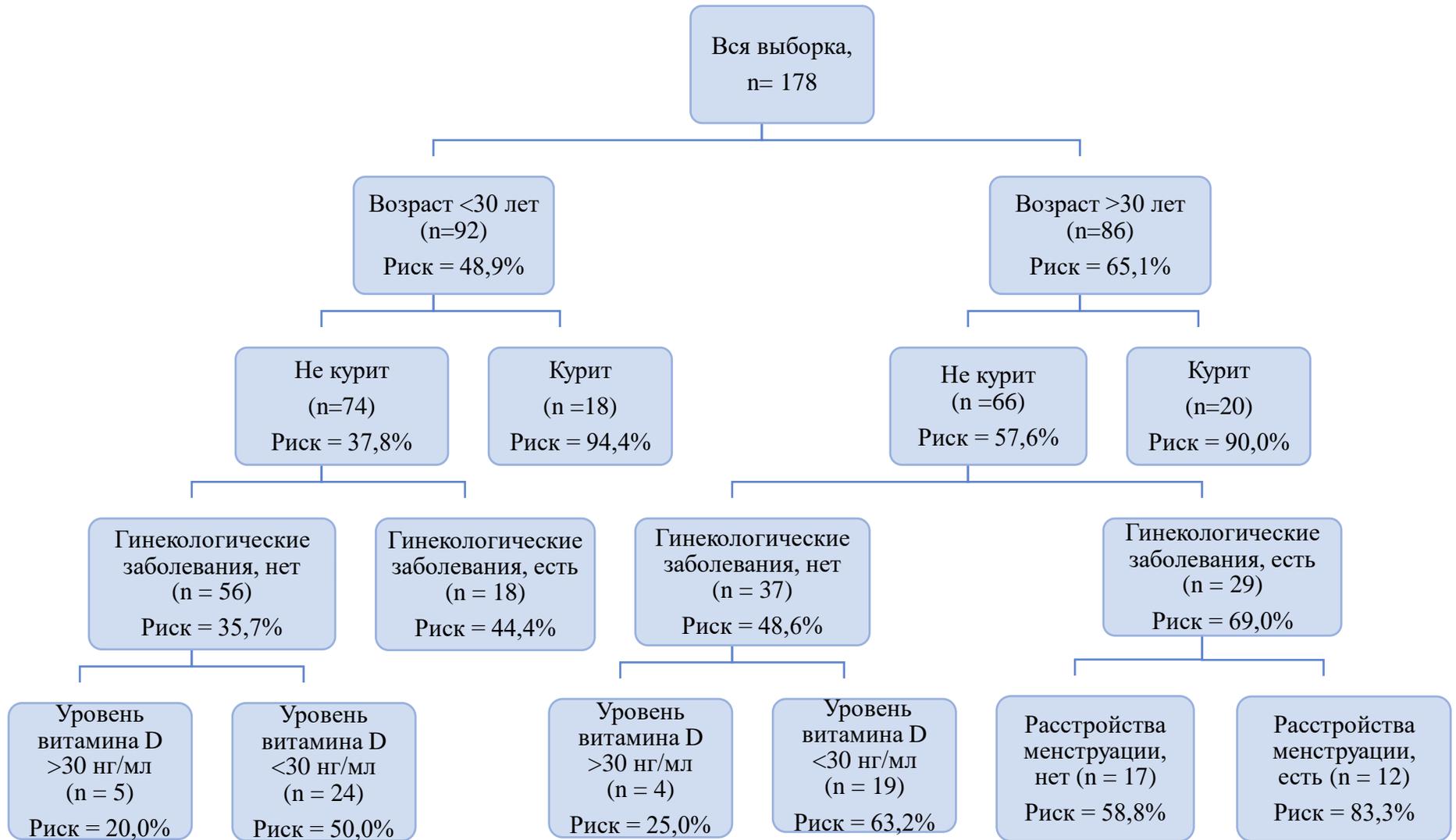


Рисунок 5 – Дерево классификации (CHAID) факторов риска НБ

Таблица 25 – Структура логистической регрессионной модели для прогноза риска НБ в I триместре

Фактор	Коэффициент	Среднее удельное/максимальное изменение риска, %	ОШ (ДИ 95%)	Коэффициент регрессии	p
Курение	35	41,7% / 41,7%	10,94 (3,07; 38,98)	2,392	0,0002*
Витамин D ≤ 30	16	24,5% / 25,5%	2,90 (0,93; 9,09)	1,065	0,0674
Возраст ≥ 33	16	24,2% / 24,2%	2,99 (1,44; 6,21)	1,095	0,0034*
Ген <i>MTR, GG</i>	14	18,9% / 18,9%	2,54 (0,55; 11,69)	0,933	0,2308
Нарушение менструального цикла	19	26,4% / 26,4%	3,62 (1,32; 9,95)	1,286	0,0127*
Всего	100			6,772	

Для каждого фактора представлен коэффициент риска при его наличии у женщин, в сумме эти пять факторов дают 100% риска развития НБ.

Установлено, что эти факторы повышают риск НБ в среднем на 41,7%, 24,5%, 24,2%, 18,9% и 26,4% соответственно с увеличением на 1 единицу своего масштаба. Отметим, что только 3 из 5 [82] факторов являются статистически значимыми, что говорит о тесной интеграции их в единую логистическую модель. Наибольший эффект изменения суммарного риска развития НБ в первом триместре гестации несет фактор курения, который потенциально может повысить риск более чем на 41% за счет колебания его значений от минимального уровня до максимального.

Представлены показатели качества, и формула логистической модели для возможности подставлять новые значения факторов и рассчитывать оценку рисков.

Для форкастинга персонального риска НБ в зависимости от анамнестических факторов, лабораторных данных, и результатов молекулярно-генетического тестирования с помощью метода бинарной логистической регрессии была разработана следующая прогностическая модель:

$$P = 1 / (1 + \text{Exp}(-(-1,5 + 2,392 * X_{\text{КУР}} + 1,065 * X_{25 \text{ OH D} \leq 30 \text{ нг/мл}} + 1,095 * X_{\text{ВОЗ} \geq 33} + 0,933 * X_{\text{GG}} + 1,286 * X_{\text{PM}})))$$

где P – риск НБ (в долях единицы);

Exp – основание натурального логарифма (число Эйлера = 2,71828...);

$X_{\text{КУР}}$ – факт курения: (0 – отсутствие, 1 – наличие);

$X_{25 \text{ OH D}}$ – витамин D – уровень 25 OH D в сыворотке крови ≤ 30 нг/мл: (0 – выше 30 нг/мл, 1 – равно, или ниже);

$X_{\text{ВОЗ}}$ – возраст ≥ 33 : (полных лет);

X_{GG} – ген *MTR GG*: (0 – отсутствие, 1 – наличие);

X_{PM} – расстройства менструации: N92.0 – обильные и частые менструации при регулярном цикле, N92.6 – нерегулярные менструации неуточненные; N94.4 – первичная дисменорея (0 – отсутствие, 1 – наличие).

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p < 0,001$). На Рисунке 6 представлены результаты ROC-анализа и прогнозные показатели качества построенной логистической модели для НБ. Точка отсечения 82,65% представляет собой оптимальную границу отделения положительного прогноза от отрицательного. Если оценка риска $\geq 82,65\%$, то следует считать, что у пациентки беременность прервется, т. е. с высокой вероятностью ожидаем исход в НБ. Если $\leq 82,65\%$, то пациентка не входит в группу риска по НБ. При таком подходе в 91% случаях будет правильно идентифицирован положительный результат и в 58% случаях – верно идентифицирован отрицательный результат.

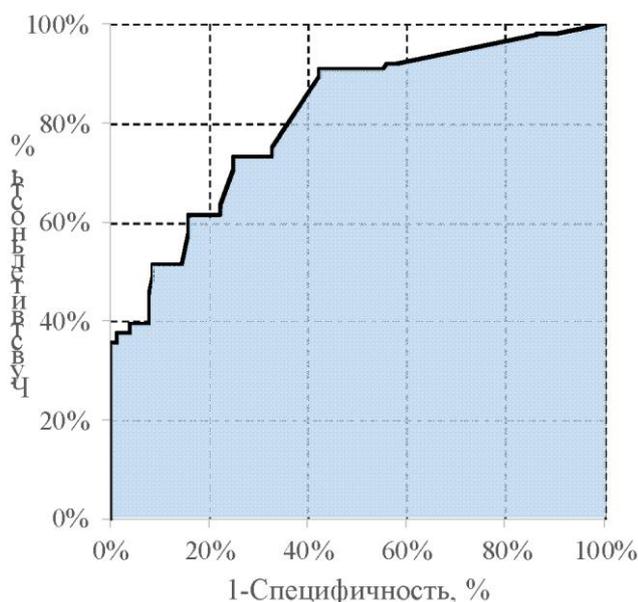


Рисунок 6– ROC-кривая логистической модели для НБ

Таким образом на основе пошагового метода включения факторов риска НБ была построена логистическая регрессионная модель с 5 факторами. Наибольший

вклад в прогнозирование НБ вносит курение, повышающий в среднем риск на 41% при увеличении фактора на одну единицу, а в совокупности может повысить риск более чем на 41% при изменении значений фактора от минимального до максимального своего уровня. Прогнозное качество построенной модели имеет высокий уровень

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С учетом сложившихся реалий демографического кризиса репродуктивное здоровье необходимо рассматривать как индикатор угрозы национальной безопасности. Репродуктивные потери – это не только медицинская, но и социально демографическая проблема. По данным Росстата, число новорожденных за первое полугодие 2019 года составило 719 тыс., что на 63,1 тыс. меньше, чем за аналогичный период 2018 года [25]. В 2020 году родились около 681 тыс. младенцев, по сравнению с первым полугодием 2019 года рождаемость была ниже на 5,4% [14]. За первое полугодие в России в 2021 году родились 678 тыс. младенцев. По сравнению с первым полугодием 2020 года рождаемость снизилась на 1,1% [13]. Учитывая тенденцию к снижению рождаемости, предотвращение невынашивания беременности является важнейшей задачей как практикующего врача акушера -гинеколога, так и организаторов здравоохранения, затрагивая и экономическое благополучие страны. Несмотря на то, что мы вступили в эру персонифицированной медицины, и невзирая на имеющиеся результаты в понимании патогенетических механизмов возникновения гестационных потерь, усовершенствование диагностических и терапевтических возможностей, частота невынашивания беременности остается стабильной и не имеет тенденции к снижению.

По известным на сегодняшний день данным общий риск выкидыша среди диагностированных беременностей в странах Северной Европы находился в диапазоне от 9,6% до 14% [30,125]. Спустя десятилетие не отмечается снижение данного показателя (12,8%), что было отражено в исследовании, проведенном в Норвегии [136]. Показатели в США и Канаде оказались более изменчивыми (от 9% до 20%). [135,141]. По данным зарубежных авторов, привычное невынашивание наблюдается у 1–2% фертильных женщин [76].

В связи с отсутствием положительного прогноза в снижении распространенности НБ, постоянно подтверждающимся все новыми многочисленными публикациями по проблематике ранних репродуктивных

потерь, НБ остается крайне актуальной проблемой акушерства и гинекологии. Учитывая все вышеперечисленное, целью настоящего исследования явилось повышение результативности профилактики репродуктивных потерь, ассоциированных с неразвивающейся беременностью, прежде всего повторных.

Для решения поставленной цели нами были выявлены клиничко-анамнестические факторы риска НБ в первом триместре, установлена встречаемость и структура недостаточности витамина D у женщин с НБ, расширены представления о роли недостаточности витамина D в патогенезе НБ, выявлены предикторы риска развития НБ в первом триместре и разработана модель его математического прогноза. Вместе с тем, были определены генетические детерминанты НБ в первом триместре; разработана тактика ведения пациенток с НБ в анамнезе.

Согласно намеченному плану исследования были обследованы 101 женщина с НБ и 77 женщин с физиологически протекающей и успешно завершившейся беременностью. В I группу ($n = 53$) вошли пациентки с одной НБ, во II ($n = 48$) с двумя и более НБ, а контрольную группу составили пациентки с успешно завершившейся беременностью.

В разрезе демографических факторов риска НБ целесообразно рассматривать возраст женщины и мужчины, ИМТ, этническую принадлежность. С возрастом у женщин отмечается увеличение риска последующих выкидышей ввиду наибольшего выявления эндокринных, иммунологических и тромбофилических триггеров, особенно это касается пациенток старше 40 лет [127].

В настоящем исследовании было установлено, что пациентки с НБ в целом в обеих группах оказались старше женщин группы контроля. По непараметрическому критерию Манна-Уитни были выявлены достоверные различия, средний возраст в основной группе составил $31,19 \pm 4,63$ года, в контроле $29,12 \pm 4,46$ лет ($p = 0,0033$, соответственно $p_{1-3} < 0,01$, $p_{2-3} < 0,05$).

Полученные данные в некоторой степени контраверсионны данным проспективного исследования Magnus M. (2019) показавшего, что у женщин в возрасте 25–29 лет самый низкий риск выкидыша 10%. Этот риск увеличился после

30 лет, достигнув 53% у женщин старше 45 лет. Вместе с тем риск повторного выкидыша с поправкой на возраст вырос после одного выкидыша (ОШ = 1,54; 95%-й ДИ 1,48–1,6), продолжал расти после двух (ОШ = 2,21; 95%-й ДИ 2,03–2,41), и достиг максимума после трех последовательных выкидышей (ОШ = 3,97; 95%-й ДИ 3,29–4,78) [136].

Курение как пассивное, так и активное во время беременности остается серьезной проблемой для общественного здравоохранения, хоть и считается предотвратимой причиной неблагоприятных исходов беременности [81, 113]. В ходе исследования установлено, что курение служит абсолютным предиктором неблагоприятного исхода для НБ. Среди пациенток с НБ курящих оказалось в 8,7 раза больше (34,6% против 3,9%), чем в группе контроля, $p < 0,001$. Данные мировой литературы также признают роль курения как фактора риска репродуктивных потерь. Так, согласно исследованию Ghimire P. R. и соавт. (2020 г.) [42], риск выкидыша у курящих женщин выше, чем у некурящих (OR = 1,27; 95%-й ДИ 1,07–1,50).

В ходе проведенного исследования было установлено, что у пациенток с НБ значимо чаще имело место обильные менструации при регулярном цикле ($p=0,007$) и нерегулярные менструации ($p=0,046$), что в общей сложности суммарно в данной группе пациенток была выявлена статистически достоверные данные ($p < 0,001$). Интересен был и тот факт, что у женщин с НБ в анамнезе в 2,8 раза чаще встречалась дисменорея ($p=0,003$). Полученные данные находят отклик в исследовании, проведенном в Волгограде, в котором также обозначены значимые результаты касательно нарушений менструального цикла в виде дисменореи и нерегулярных менструаций [2].

Согласно имеющимся данным, истинный уровень витамина D в организме отражает именно 25(OH)D, а не 1,25(OH)₂D [65]. В связи с этим для оценки статуса витамина D у пациенток с НБ и в контрольной группе в соответствии с действующими клиническими рекомендациями был использован именно данный показатель. В ходе анализа было выявлено, что у пациенток с НБ в первом триместре гестации в сравнении с группой контроля значимо чаще имела место

недостаточность витамина D (93,3% против 76,9%, $p = 0,0183$), в том числе его дефицит-уровень 25(OH)D менее 20 нг/мл (71,6% против 51,3%, $p = 0,0392$). Результаты полученные в ходе исследования по уровню сывороточного 25 (OH) D расходятся с ретроспективными когортными данными Thiele D. K. и соавт. (2019), согласно которым недостаточность и дефицит витамина D не были предикторами акушерских осложнений, в том числе и самопроизвольного выкидыша [154]. В то же время в исследовании Ferdous S. и соавт. (2021) продемонстрировано, что дефицит витамина D в сыворотке крови был статистически значимо связан с ранним самопроизвольным прерыванием беременности [69]. В исследовании Afefy N. и соавт. (2019) продемонстрировано, что при повторных выкидышах недостаточность и дефицит витамина D наблюдались чаще и имели взаимосвязь с высокой статистической значимостью ($p < 0,005$) [31].

В условиях диверсификации этиологических составляющих репродуктивных потерь внимание исследователей сосредоточено на иммуногенетических аспектах их формирования. В этой концептуальной модели больший интерес вызывают так называемый «гормон D» и его рецепторы VDR. Дистинктивность этого гормона в том, что он может выполнять функцию как ядерного «переключателя», посредством связывания с промоторными локусами генов-мишеней, реализуя геномный путь, так и мембранного рецептора, используя негеномный путь. Геномное действие занимает несколько часов, негеномное напротив занимает от нескольких секунд до минут [179].

Согласно данным литературы значительные различия в распределении генотипов и частотах аллелей между группой наблюдения и контролем отмечались при полиморфизме *VDR BsmI* (*GG* против *GA* и *AA*, $OR = 0,56$, $p = 0,036$ и $OR = 1,49$, $p = 0,035$ соответственно) [164].

Выявлена статистическая разница между полиморфизмом rs7975232 и привычным невынашиванием беременности ($p = 0,034$) [151].

Уровень 25-гидроксивитамина D был ниже у беременных с невынашиванием беременности ($11,3 \pm 5,3$ нг/мл), чем при нормально протекающей беременности ($15,9 \pm 11,2$ нг/мл), и у женщин с недостаточным уровнем 25-гидроксивитамина D

чаще были выкидыши (52,7%), по сравнению с нормальной беременностью (47,3%) [143].

В ходе выполненного исследования не установлена связь между встречаемостью генотипов гена сосудисто-эндотелиального фактора роста *VEGF* 936 C-T (*rs3025039*) и НБ в I триместре (ОШ1-3 = 2,71; 95%-й ДИ 0,522–14,094; ОШ2-3 = 1,9; 95%-й ДИ 0,362–10; ОШ1-2 = 0,7; 95%-й ДИ 0,094–5,24. Однако данные мировой литературы весьма противоречивы касательно роли гена *VEGF* в патогенезе НБ. В исследовании проведенном Zhi Z. et al. (2018) [59] показано, что *VEGF* может оказаться новым биомаркером НБ, так как он участвует в регуляции ангиогенеза ворсинок на ранних сроках беременности, и его экспрессия ниже в группе пациенток с НБ, чем в группе контроля. В крупном метаанализе проведенном Sun Y. et al (2017), включившем пятнадцать исследований случай – контроль, оценивали связь между пятью генетическими полиморфизмами *VEGF* (*rs1570360*, *rs699947*, *rs2010963*, *rs3025039* и *rs833061*) и риском повторных репродуктивных потерь. Доказано, что только два из пяти выбранных генетических полиморфизмов *VEGF* 1154 G-A (*rs1570360*) и 936 C-T (*rs3025039*) могут быть факторами риска привычного невынашивания [43]. Однако в исследовании Bansal R. et al. (2017) [64] было установлено, что сывороточный уровень *VEGF*-A был значительно выше у женщин с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) по сравнению с контролем (362,9 против 171,6 пг/мл, $p < 0,0001$).

Исследовательское внимание до сих пор обращено к более детальному изучению генетического профиля потерь беременности на ранних сроках, при этом центром все еще служат тромбогенные факторы и регуляторы на уровне плаценты. Однако, разнородность их проведения в разных популяциях накладывает свой статистический отпечаток на результаты, формируя противоречивость данных [145]. Широко распространено мнение, что полиморфизмы генов фолатного цикла играют одну из ключевых ролей в генезе НБ. Некоторые исследователи проанализировали два самых распространенных полиморфизма 1298 AC и 677 CT [23], показав значительную статистическую связь комбинации этих гетерозигот с

привычным невынашиванием [40].

Фермент *MTHFR* катализирует превращение 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат – активную форму фолиевой кислоты, необходимой для образования метионина из гомоцистеина и S-аденозилметионина (SAM). Последний, в свою очередь, играет ключевую роль в процессе метилирования ДНК. Ген *MTHFR* локализуется на коротком плече 1 хромосомы 1p36.3 и состоит из 11 экзонов [37]. При замене цитозина на тимин в этом гене – генетический маркер *C677T* претерпевают изменения и биохимические свойства фермента, в котором происходит замена аминокислоты аланина на валин р.Ala222Val в каталитическом домене белка-фермента [29]. Подобная замена приводит к снижению активности фермента. Мутации гомозиготные *TT* и гетерозиготные *CT* снижают активность фермента *in vitro* на 35% и 70% соответственно. Еще один распространенный полиморфизм (*A1298C*) образуется при замене аденина на цитозин в положении 1298, что в свою очередь приводит к замене глутамата на аланин р.Glu429Ala. Гомозиготная мутация *CC* приводит к снижению функции фермента на 40% [99].

Генотипы *C677T* и *1298 AC* гена *MTHFR* и *A66G MTRR* изучены наиболее полно. В работе [35] отображена выраженная ассоциация *C677T* с синдромом Дауна, Эдвардса, Патау и др., в то время как генотип *A66G* ассоциирован с трисомией 21, также эти генотипы связаны с дефектами нервной трубки плода [56].

О корреляции между *MTHFR 1298AC* и риском ПНБ неоднократно сообщалось в различных мета-анализах. Однако результаты были контрверсионными. Два мета-анализа показали, что полиморфизмы *MTHFR A1298C* были в значительной степени связаны с риском потери беременности [89], тогда как другие не выявили существенной корреляции между ними [49].

В ходе проведенного исследования не было выявлено также взаимосвязи между генотипом *CC* и *TT* гена *MTHFR [rs1801133]* и НБ (ОШ₁₋₃ = 1,88; 95%-й ДИ 0,514–6,87; ОШ₂₋₃ = 1,09; 95%-й ДИ 0,288–4,127; ОШ₁₋₂ = 0,58; 95%-й ДИ 0,129–2,609), и генотипов *AA* и *CC* гена *MTHFR [rs1801131]* с НБ первого триместра (ОШ₁₋₃ = 0,58; 95%-й ДИ 0,213–1,584; ОШ₂₋₃ = 1,02; 95%-й ДИ 0,325–3,193; ОШ₁₋₂ = 1,75; 95%-й ДИ 0,553–5,559). Установлено, что наибольшие различия

между группами наблюдаются по генотипу *TT*, который чаще встречается в группе контроля по сравнению с первой НБ (10,5% против 6,9%), и по генотипу *CC*, преимущественно встречающийся при первой НБ по сравнению с контролем (19,0% против 13,2%). В то же время в недавнем исследовании Zarfeshan Fard Y. et al. (2019) продемонстрирована роль генотипа *TT* гена *MTHFR C677T* в патогенезе повторных выкидышей. Согласно их данным, генотип *C677T* может быть фактором риска выкидыша [89], так же, как и в публикации Ahangari N. et al. (2019) где показано, что мутантные аллели *MTHFR C677T* и *A1298C* значительно чаще встречаются у женщин с повторными выкидышами [78]. Однако, наши данные созвучны результатам другого исследования [87], в котором не была обнаружена значимой связи между полиморфизмом *MTHFR 677 CT* и самопроизвольным абортom (ОШ *CT* против *CC* = 0,39; 95%-й ДИ 0,14–1,05; ОШ *TT* против *CC* = 0,63, 95%-й ДИ 1,22–1,80).

Еще одним важным фактором риска НБ является наличие полиморфизма гена *MTHFR 1298AC* [134].

В настоящем исследовании не удалось подтвердить взаимосвязь между заменой однонуклеотидных вариантов *MTHFR 1298AC* и риском репродуктивных потерь, что сопоставимо с данными опубликованного исследования, в котором распределение полиморфизмов данного гена и частота встречаемости аллелей в группе пациенток с привычным невынашиванием и в группе с неудачными попытками имплантации не различалась [59], как и в исследовании в сравнении групп пациенток с привычным невынашиванием и без репродуктивных потерь [105]. Однако генотип *MTHFR C677T* был статистически значимо ассоциирован с ПНБ.

Несмотря на обновляющиеся данные в мировой литературе касательно генетических аспектов потерь беременности, определить в точности их роль как факторов риска НБ достаточно сложно из-за разнородности данных в разных популяциях. Так, к примеру, в крупном метаанализе, изучавшем влияние 124 полиморфизмов 73 генов, значимую статистическую связь удалось выявить лишь у 53 генетических полиморфизмов 37 генов [94].

Ген *MTRR* кодирует аминокислотную последовательность фермента метионин-синтазы-редуктазы. Одной из функций фермента *MTRR* является обратное превращение гомоцистеина в метионин. Ген *MTRR* локализован на 5p15.3-p.15.2. Замена аминокислотного остатка изолейцина на метионин в позиции 66. В результате этой замены функциональная активность фермента снижается, что приводит к повышению риска нарушений развития плода, таких как дефекты нервной трубки, синдром Дауна [116].

Приведенный выше статистический анализ дает достаточное основание утверждать, что в исследуемой когорте пациентов не прослеживалась взаимосвязь полиморфизмов генотипов *MTRR* с потерей беременности (ОШ1-3 = 0,65; 95% ДИ: 0,245–1,707; ОШ2-3= 1,35; 95% ДИ: 0,477–3,806; ОШ1-2 = 2,08; 95% ДИ: 0,696–6,232). Данная точка зрения просматривается в работе Nguyen Ngoc N. et al. (2022). [99]. Тогда как, ряд исследователей в своих работах, отметили ассоциацию полиморфизма *MTRR* 66A> G с невынашиванием беременности у женщин в азиатской популяции [100].

Полиморфизм A2756G гена *MTR* может привести к повышению уровня гомоцистеина в плазме крови [100]. Также он связан с повторной потерей беременности, рождением ребенка с синдромом Дауна [103, 104.]. Несмотря на известные факты, в выполненном исследовании прямой корреляции мутации данного гена с НБ не обнаружено ($p_{1-3} = 0,2685$, $p_{2-3} = 0,3528$, $p_{1-2} = 0,9524$), что противоречит данным автора Shi X. et al (2017) [82], однако сопоставимы с данными автора Nguyen N. et al (2022) и Talwar S. et al. (2022).

Для пациенток с неразвивающейся беременностью в первом триместре гестации (независимо от паритета потерь) установлена взаимосвязь ($p < 0,05$) между наличием дефицита витамина D и спектром встречаемости изученных полиморфных вариантов гена *VDR* и генотипов гена *MTHFR* 677 C> T [164]. Для других исследованных генов (*VEGFA*, *MTHFR* A-C, *MTR*, *MTRR*) такая связь отсутствует ($p > 0,05$).

Полученные данные о факторах риска НБ в первом триместре и ее предикторах соответствуют современной парадигме, которая гласит, что в основе

патогенеза и многогранной проблематики НБ лежит дисфункция эндометрия – слизистой оболочки, которая подвергается циклической трансформации с обязательной пролиферацией ткани и нуждается в адекватном воздействии прогестерона для полноценной подготовки к имплантации. Последний в реализации своих иммунорегуляторных эффектов на уровне эндометрия требует присутствия и активного участия кальцитриола и рецепторов витамина D.

Выявленная в результате исследования взаимосвязь НБ, дефицита витамина D и спектра встречаемости полиморфизмов гена рецепторов витамина D и двух генов, участвующих в регуляции фолликулярного цикла, расширяют представления о патогенезе НБ. Доказанное предиктивное значение факторов курения, наличия расстройств менструации и возраста старше 33 лет не противоречат этим представлениям.

Преобладание в структуре гинекологических заболеваний обильных и нерегулярных менструаций и хронического сальпингоофорита при первой НБ, нерегулярных менструаций и дисменореи – при повторных потерях в первом триместре, тенденция к более частой встречаемости гена *VEGF* позволяют думать о возможной роли тканевой гипоксии и хронического персистирующего воспаления, где кальцитриол также известен как активный участник регуляторного процесса.

Результаты, полученные в ходе структурирования на всех этапах проведенного исследования, позволили разработать и предложить модификацию алгоритма рутинного дифференцированного выбора тактики ведения пациенток с репродуктивной потерей в анамнезе в первом триместре гестации. Разработан инструмент прогнозирования персонального риска НБ на основании клинико-анамнестических факторов, лабораторных данных и молекулярно – генетического исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов можно заключить, что недостаточность, и особенно, выраженный дефицит витамина D играют патогенетически значимую роль и могут послужить одним из ключевых триггеров запуска механизмов патогенеза НБ в первом триместре. Фактически в ходе исследования подтверждена гипотеза о том, что недостаточность витамина D является предиктором репродуктивной неудачи и биологическим конфаундером риска потери беременности у пациенток изучаемой когорты.

Полученные данные позволили обосновать необходимость индивидуального и комплексного предиктивного подхода к ведению пациенток с НБ уже как с одной репродуктивной потерей в анамнезе. Он должен предусматривать целенаправленную подготовку к беременности, включающую устранение такого управляемого фактора риска, как нутритивный дефицит холекальциферола. Необходимо информировать пациентку о важном значении терапевтической модификации образа жизни, в том числе отказа от курения, желательно задолго до наступления беременности, а также соответствующей коррекции рациона и стиля питания, предусматривающих адекватное потребление продуктов, содержащих холекальциферол, должного пребывания на солнце и обязательного лабораторного исследования сывороточного уровня 25 (ОН)D при планировании последующей беременности. При обильных или нерегулярных менструациях целесообразно углубленное исследование для верификации анемического синдрома, в том числе латентного железодефицита, при повторных потерях - обследование с целью верификации хронического эндометрита.

Результаты, полученные в ходе выполнения настоящего исследования, позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Недостаточность витамина D имеет место у 93,3% пациенток с неразвивающейся беременностью в первом триместре гестации, что в 1,2 раза превышает аналогичный показатель в группе контроля (76,9%, $p < 0,05$). В ее структуре преобладает лабораторный дефицит - уровень 25(ОН)D менее 20 нг/мл

(71,6% против 51,3%, $p < 0,05$). Эта закономерность более выражена в группе женщин с первой неразвивающейся беременностью в анамнезе (80,0% против 51,3%, $p < 0,05$), где у каждой третьей выявляется тяжелый дефицит – уровень 25(ОН)D менее 10 нг/мл (при повторных потерях – 23,3%, в контроле – 20,5%, $p > 0,1$). Независимо от паритета потерь, оптимальный уровень 25(ОН)D наблюдается лишь у 6,7% обследованных (в контроле – 23,1%, $p < 0,05$).

2. Когорту пациенток с неразвивающейся беременностью в первом триместре гестации формируют женщины старше 25 лет (62,3%, в контроле - 45,5%, $p = 0,026$), средний возраст – $31,19 \pm 4,63$ года (в контроле – $29,12 \pm 4,46$ лет, $p < 0,01$). Среди них преобладают ($p < 0,001$) домохозяйки (47,5%) и работницы умственного труда (44,5%). Каждая третья курит (34,6%, в контроле – 3,9%, $p < 0,001$). Хронические экстрагенитальные заболевания имеют 32,6% пациенток изучаемой когорты ($p = 0,7$), при этом женщины с повторными потерями отягощены значимо ($p < 0,05$) больше (48,8%; первая неразвивающаяся беременность – 20,7%, контроль – 29,9%). Независимо от паритета потерь ($p > 0,1$), чаще встречаются болезни системы пищеварения (17,8%) и органов дыхания (8,9%).

3. Пациенток с неразвивающейся беременностью в первом триместре гестации в сравнении с женщинами, родившими доношенных здоровых детей, отличает более высокая частота гинекологических заболеваний в анамнезе (48,5% против 24,7%, $p < 0,01$): обильных менструаций (16,8%, $p < 0,05$), дисменореи (10,9%, $p < 0,01$), нерегулярных менструаций (5,0%, $p < 0,05$) и хронического сальпингофорита (9,9%, (9,9%, $p < 0,01$). Для пациенток с одной неразвивающейся беременностью в анамнезе более характерны ($p < 0,01$) обильные и частые менструации при регулярном цикле (19,0%) и хронический сальпингоофорит (10,3%), тогда как для женщин с повторными потерями ($p < 0,05$) – обильные и частые менструации при регулярном цикле (14,0%), дисменорея (13,9%), хронический сальпингоофорит (9,3%) и нерегулярные менструации (9,3%, $p < 0,01$).

4. Значимыми для риска неразвивающейся беременности в первом триместре ($p < 0,01$) следует считать такие факторы, как курение (ОШ = 1,95; 95% ДИ: 1,60–

2,38); наличие расстройств менструации (ОШ = 1,73; 95% ДИ: 1,39–2,15), возраст старше 33 лет (ОШ = 1,51; 95% ДИ: 1,18–1,93), менархе до 13 лет (ОШ = 1,5; 95% ДИ: 1,17–1,93), социальное положение – домохозяйка (ОШ = 1,5; 95% ДИ: 1,17–1,92), уровень 25(ОН)D < 30 нг/мл (ОШ = 2,09; 95% ДИ: 0,91–4,80; $p = 0,021$).

5. Встречаемость генотипов по исследованным генным полиморфизмам не имеет различий между пациентками с неразвивающейся беременностью и женщинами, родившими доношенных здоровых детей ($p > 0,1$). Из генотипов по полиморфному локусу *VDR* (*rs10735810*) среди пациенток изучаемой когорты наиболее распространены гетерозиготный генотип AG (50,5%) и гомозиготный генотип AA (31,7%), из генотипов по полиморфизму *MTHFR* *rs1801131* - гомозиготный генотип AA (45,0%) и гетерозиготный генотип AC (38,0%). Спектр встречаемости генотипов по локусу *MTHFR* *rs1801133* у пациенток с неразвивающейся беременностью определяют гомозиготы CC (48,5%) и гетерозиготы CT (43,6%); по локусу *MTRR* *rs1801394* - гетерозиготы AG (45,5%) и гомозиготы GG (31,7%); по полиморфизму *MTR* *rs1805087* - гомозиготы AA (56,4%) и гетерозиготы AG (36,6%). По полиморфному локусу *VEGF* *rs3025039* у пациенток изучаемой когорты преобладает гомозиготный генотип CC (79,2%).

6. Не обнаружено взаимосвязи неразвивающейся беременности в первом триместре и встречаемости полиморфных вариантов исследованных генов ($p > 0,1$). Генотип GG по гену *VDR* у пациенток с повторными потерями выявляется даже реже, чем в контроле – 14,0% против 23,7% (ОШ = 2,29; 95% ДИ: 0,738–7,075). Генотип AA по гену *MTRR* встречается незначимо чаще у пациенток с повторной неразвивающейся беременностью (27,9%, при первой – 19,0%). Наименьшее различие между группами наблюдается по частоте гетерозиготного генотипа AG по гену *MTRR*. Генотип GG по гену *MTR* выявляется вдвое чаще у пациенток с первой неразвивающейся беременностью по сравнению с контрольной группой, однако различие не значимо (8,6% против 4,0%). Среди полиморфных вариантов гена *VEGF* генотип TT у пациенток с первой неразвивающейся беременностью встречается даже реже, чем в группе контроля (соответственно 3,5% против 7,9%).

7. Для пациенток с неразвивающейся беременностью в первом триместре

гестации (независимо от паритета потерь) установлена взаимосвязь ($p < 0,05$) между наличием дефицита витамина D и спектром встречаемости изученных полиморфных вариантов гена VDR и генотипов гена MTHFR 677 C> T. Для других исследованных генов (VEGFA, MTHFR A-C, MTR, MTRR) такая связь отсутствует ($p > 0,05$).

8. Предикторами риска НБ в первом триместре гестации являются курение, расстройства менструации (обильные менструации при регулярном цикле, нерегулярные менструации и дисменорея) и уровень сывороточного 25(OH)D < 30 нг/мл. Для математического прогнозирования такого риска дополнительно могут быть использованы такие факторы, как как возраст старше 33 лет и наличие полиморфизма GG по полиморфному локусу гена MTR rs1805087.

Полученные данные позволяют сформулировать **практические рекомендации:**

1. Пациенток, имеющих в анамнезе НБ в первом триместре гестации, следует расценивать как группу риска по наличию недостаточности витамина D, в том числе тяжелого дефицита. Им следует рекомендовать биохимический скрининг на 25(OH)D для ее верификации на этапе планирования последующей беременности.

2. Дополнительным критерием клинико-анамнестического риска, позволяющим обосновать необходимость скринингового определения сывороточного уровня 25(OH)D у пациенток после НБ в первом триместре, независимо от паритета потерь, следует считать наличие косвенных признаков дисфункции эндометрия (обильные или нерегулярные менструации, дисменорея, хронический сальпингоофорит).

3. При повторных репродуктивных потерях прегравидарная подготовка должна включать отказ от курения, меры по нормализации менструального цикла, результативную коррекцию недостаточности/дефицита витамина D, вплоть до восстановления ее нормативных показателей (целевой уровень 25(OH)D, в соответствии с действующими клиническими рекомендациями МЗ РФ, не должен быть менее 40 нг/мл).

4. Для объективизации риска ранних репродуктивных потерь и оценки

эффективности целенаправленных профилактических мер целесообразно использовать разработанную математическую модель прогноза.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Перспективными по проблематике диссертации следует считать исследования, посвященные выявлению роли нарушений метаболизма витамина D и его генетических детерминант при повторных репродуктивных потерях по триместрам гестации, а также при других акушерских осложнениях и заболеваниях новорожденных.

Отдельное перспективное направление развития науки в этой области - фармакоэкономическое обоснование своевременной обязательной коррекции недостаточности/дефицита витамина D на этапе преконцепции как критерия «готовности к беременности».

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АФС – антифосфолипидный синдром
- ДИ – доверительный интервал
- ИМТ – индекс массы тела
- НБ – неразвивающаяся беременность
- ОШ – отношение шансов
- ПНБ – привычное невынашивание беременности
- ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
- ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
- CHAID анализ (Chi Squared Automatic Interaction Detection) – автоматическое обнаружение взаимодействия по χ^2
- MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза
- MTRR – метионин-синтаза-редуктаза
- MTR – метионинсинтаза
- SNP single nucleotide polymorphism – однонуклеотидные последовательности
- VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста
- VDR – рецептор витамина D

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ эффективности применения различных режимов дозирования и форм холекальциферола у пациентов с нарушением репродуктивной функции / Е. В. Ших, С. В. Тихомиров, Т. А. Зайцева, [и др.] // Доктор. Ру. – 2019. – № 4 (159). – С. 54-58.
2. Андреева, М. В. Неразвивающаяся беременность. этиологические аспекты / М. В. Андреева, Т. С. Сивко // Актуальные вопросы современной медицины. – 2019. – С. 80-82.
3. Ахиджак А.Н. Гомоцистеинемия как фактор невынашивания. Обзор данных / А. Н. Ахиджак, Т. Б. Золотова, А. И. Демченко // Научный вестник здравоохранения Кубани. – 2021. – № 2. – С. 7.
4. Витамин D и его рецепторы в патогенезе акушерских осложнений: современный взгляд на проблему / Ф.У. Рамазанова, М.Б. Хамошина, О.О. Гигани, М.С. Тулупова [и др.]// Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2020. Т. 8, № 3. С. 75–80.
5. Карп Говард Дж. А. Привычное невынашивание беременности: причины, версии и контраверсии, лечение / под ред. Говарда Дж. А. Карпа; пер. с англ. под редакцией В. Е. Радзинского. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. — 592 с: ил.
6. Мальцев. С. В. Витамин D: новое время, новый взгляд / С. В. Мальцев, Г. Ш. Мансурова // Педиатрия. – 2020. – № 99 (4). – С. 195.
7. Междисциплинарные клинические рекомендации «Лечение ожирения и коморбидных заболеваний» / М. В. Шестакова, Г. А. Мельниченко, Н. В. Мазурина [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2021. – Т. 18. – №1. – С. 5-99.
8. Методика (метод) измерений массовой концентрации стероидных гормонов в пробах крови методом жидкостной хроматографии — тандемной масс-спектрометрии: Методические рекомендации МУ 08–47/376. – Томск: Томский политехнический университет, 2015. – 18 с.
9. Мультифакторность генеза неразвивающейся беременности-проблема решения нарушений репродуктивного потенциала женщин / Р. Ж. Сансызбаева, Л.

И. Нургалиева, Г. Д. Зунунова [и др.] // Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины. – 2022. – № 2. – С. 35-37.

10. Неразвивающаяся беременность: этиопатогенез, диагностика, лечение / И. Б. Манухин, Т. П. Крапошина, Е. И. Манухина [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2018. – Т. 21. – № 2-2. – С. 182-188.

11. Неразвивающаяся беременность в анамнезе: реабилитация и подготовка к следующей гестации / Радзинский, В. Е., Андреева, М. Д., Артымук, Н. В./ — М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2021. — 68 с.

12. Неразвивающаяся беременность / В. Е. Радзинский, А. В. Соловьева, В. И. Димитрова [и др.]; Российский университет дружбы народов. – 3-е издание, переработанное и дополненное. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", 2019. – 184 с.

13. Оперативные демографические показатели за июнь 2021 года от 06.08.2021. Федеральная служба государственной статистики. – URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/70843/document/130321> (дата публикации: 06.08.2021).

14. Оперативные данные по естественному движению населения Российской Федерации от 13.08.2020. Федеральная служба государственной статистики. – URL: <https://rosstat.gov.ru/compendium/document/13269> (дата публикации: 21.06.2022).

15. Органические кислоты и их метаболиты в прогнозировании перспектив восстановления фертильности после перенесенной неразвивающейся беременности / И.М. Ордянец, О. К. Молчанова, С. С. Барабашева, Ф. У. Рамазанова // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2020. – Т. 8. – № Приложение 3 (29). – С. 50-54.

16. Патогенетические аспекты привычного невынашивания беременности / Е. В. Григушкина, А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2021. – Т. 26. – № 2. – С. 30-36

17. Потапов Н. Н. Математическое моделирование потери беременности в I триместре при нормальном кариотипе эмбриона / Н. Н. Потапов, Е. В. Кудрявцева, В. В. Ковалев // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2021. – Т. 15. – № 4. –

С. 379-389.

18. Прогестерон: спорные вопросы терапии и профилактики невынашивания и недонашивания беременности / В. Е. Радзинский, М. Б. Хамошина, М. С. Тулупова [и др.] // *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения.* – 2019. – № Приложение 3 (25). С. 74-82.

19. Проект федеральных клинических рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Н.Г. Мокрышева [и др.] // *Остеопороз и остеопатии.* – 2021. – Т. 24. – № 4. – С. 4-26.

20. Радзинский В. Е. *Неразвивающаяся беременность* / под редакцией В. Е. Радзинского. – М.: ГЭОТАРМедиа, 2017. – 176 с.

21. Радзинский В. Е. *Акушерская агрессия, v. 2.0* / В. Е. Радзинский Publisher: Общество с ограниченной ответственностью «Медиабюро Статус презенс». – 2017. – 870 с.

22. Реброва О. Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA* /О. Ю. Реброва//М.: МедиаСфера. – 2002 – Т. 305

23. Роль полиморфных локусов VDR rs10735810, MTHFR rs1801131, MTHFR rs1801133, MTR rs1805087, MTRR rs1801394, VEGFA rs3025039 в патогенезе неразвивающейся беременности: проспективное когортное исследование /Ф. У. Рамазанова, В. Е. Радзинский, М. Б. Хамошина. [и др.] // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2022. – Т. 29. – №. 3. – С. 46-61.

24. Романова О. А. *Результаты комплексного молекулярно морфологического исследования abortного материала при неразвивающейся беременности первого триместра* / О. А. Романова, В. А. Печникова // *Журнал акушерства и женских болезней* – 2022. – Том 71. – №1.

25. Сведения о числе зарегистрированных родившихся, умерших, браков и разводов за январь-декабрь 2019 года. – URL: https://www.gks.ru/free_doc/2019/demo/edn12-19.htm (дата публикации: 05.02.2020).

26. Траль Т. Г. Особенности гравидарной трансформации эндометрия при привычном невынашивании беременности / Т. Г. Траль, В. В. Хобец, Г. Х. Толибова // Морфологические Ведомости. – 2022. – Т. 30. – № 4. – С. 52-59.
27. Третьякова Т. Б. Ассоциация полиморфных маркеров генов метаболизма фолатов с ранними потерями беременности / Т. Б. Третьякова, Н. С. Демченко // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2018. – Т. 12. – № 1. – С. 42-52.
28. Шелепова Е. С. Особенности обмена витамина D в плаценте / Е. С. Шелепова, И. Е. Зазерская, А. А. Костарева // Остеопороз и остеопатии. – 2023. – Т. 25. – № 3. – С. 135-136.
29. Abood E. S. MTHFR 677 C< T and 1298 A> C polymorphisms increases the risk of recurrent abortion in the Iraqi woman / E. S. Abood, M. S. Naser, R. J. Naser // Research Square. – 2021. – Vol. 1-11.
30. Adolfsson A. Cumulative incidence of previous spontaneous abortion in Sweden in 1983–2003: a register study / A. Adolfsson, P. G. Larsson // Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica. – 2006. – Vol. 85. – № 6. – P. 741-747.
31. Afefy N. A. Association between Vitamin D Deficiency and Occurrence of Miscarriage among Women. / N. A. Afefy, R. M. Aboushady, H. F Soliman // Journal of Nursing and Health Science (IOSR-JNHS) – 2019. – Vol. 8. – № 3. – P. 53-62.
32. Altered decidual and placental catabolism of vitamin D may contribute to the aetiology of spontaneous miscarriage / H. Hou, J. Y. Zhang, D. Chen [et al.] // Placenta. – 2020. – Vol. 92. – P. 1-8.
33. Ammon Avalos L. A systematic review to calculate background miscarriage rates using life table analysis / L. Ammon Avalos, C. Galindo, D. K. Li // Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology. – 2012. – Vol. 94. – № 6. – P. 417-423.
34. Association between preconception paternal health and pregnancy loss in the USA: an analysis of US claims data / A. M. Kasman, C. A. Zhang, S. Li [et al.] // Human Reproduction. – 2021. – Vol. 36. – № 3. – P. 785-793.

35. Association between maternal, fetal and paternal MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss: a comprehensive evaluation / Y. Yang, Y. Luo, J. Yuan [et al.] // Archives of gynecology and obstetrics. – 2016. – Vol. 293. – № 6. – P. 1197-1211.
36. Association between maternal vitamin D levels and risk of adverse pregnancy outcomes: A systematic review and dose–response meta-analysis / R. Zhao, L. Zhou, S. Wang[et al.]//Food & Function. – 2022. – Vol. 13. – № 1. – P. 14-37.
37. Association of fetal MTHFR C677T polymorphism with susceptibility to neural tube defects: a systematic review and update meta-analysis / R. S. Tabatabaei, N. Fatahi-Meibodi, B. Meibodi [et al.] // Fetal and Pediatric Pathology. – 2022. – Vol. 41. – № 2. – P. 225-241.
38. Association study between MTHFR and MTRR genes mutation in women with missed abortion in Mosul city /A. A. Al-baker, O. M. Hamed, R. G. Al-Sultan [et al.] // EurAsian Journal of Biosciences. – 2020. – Vol. 14. – № 1.
39. Associations of MTRR A66G polymorphism and promoter methylation with ischemic stroke in patients with hyperhomocysteinemia /D. Li, Q. Zhao, C. Zhang [et al.] // The Journal of Gene Medicine. – 2020. – Vol. 22. – № 5. – P. e3170
40. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Syrian women/ W. Al-Achkar, A. Wafa, S. Ammar [et al.] // Reproductive Sciences. – 2017. – Vol. 24. – № 9. – P. 1275-1279.
41. Association between vitamin D plasma concentrations and VDR gene variants and the risk of premature birth / L. V. Dutra, F. A. Affonso-Kaufman, F. R. Cafeo [et al.] // BMC Pregnancy and Childbirth. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 1-11.
42. Association between obesity and miscarriage among women of reproductive age in Nepal/ P. R. Ghimire, B. J. Akombi-Inyang, C. Tannous, Agho, K. E // Plos one. – 2020. – Vol. 15. – № 8. – P. e0236435.
43. Association between vascular endothelial growth factor polymorphism and recurrent pregnancy loss: A systematic review and meta-analysis / Y. Sun, M. Chen, B.

Mao [et all] //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2017. – Vol. 211. – P. 169-176.

44. Association of two methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms (rs1801133, rs1801131) with the risk of type 2 diabetes in South-East of Iran / M. Poodineh, R. Saravani, M. Mirhosseini, & S. Sargazi // Reports of biochemistry & molecular biology. – 2019. – Vol. 8. – № 2. – P. 178.

45. Association of Genetic Variants of Enzymes Involved in Folate. One-Carbon Metabolism with Female Breast Cancer in Jordan / M. F. Sadiq, N. M. Abu Issa, M. O. Alhakim [et all] //Jordan Journal of Biological Sciences. – 2019. – Vol. 12. – № 1.

46. Association of MTHFR C677T, MTHFR A1298C, and MTRR A66G polymorphisms with neural tube defects in Tunisian parents / K. Nasri, F. Midani, A. Kallel [et all] // Pathobiology. – 2019. – Vol. 86. – № 4. – P. 190-200.

47. Associations of homocysteine status and homocysteine metabolism enzyme polymorphisms with hypertension and dyslipidemia in a Chinese hypertensive population / X. Yuan, T. Wang, J. Gao [et all] // Clinical and Experimental Hypertension. – 2020. – Vol. 42. – № 1. – P. 52-60.

48. Baczyńska-Strzecha M. Influence of Apa1 (rs7975232), Taq1 (rs731236) and Bsm1 (rs154410) polymorphisms of vitamin D receptor on preterm birth risk in the Polish population / M. Baczyńska-Strzecha, J. Kalinka // Ginekologia Polska. – 2016. – Vol. 87. – № 11. – P. 763–768.

49. Chen H. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in China: a systematic review and meta-analysis / H. Chen, X. Yang, M. Lu // Archives of gynecology and obstetrics. – 2016. – Vol. 293. – P. 283-290.

50. Charoenngam N. Immunologic effects of vitamin D on human health and disease / N. Charoenngam, M. F. Holick // Nutrients. – 2020. – Vol. 12. – № 7. – C. 2097.

51. Chromosomal polymorphisms in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis /M. S. Ralapanawe, H. Khattak, H. R. Hapangama[et al.]//Human Fertility. – 2022. – P. 1-12.

52. Combinations of calcitriol with anticancer treatments for breast cancer: an update / M. Segovia-Mendoza, J. García-Quiroz, L. Díaz, & R. García-Becerra // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 23. – P. 12741.
53. Correlation of methylation status in MTHFR promoter region with recurrent pregnancy loss / M. M. Shaker, T. A Shalabi, K. S Amr [et al] // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 19. – P. 1-9.
54. Determination of the prevalence of chromosomes 13, 18, 21, X and Y aneuploidy in spontaneous miscarriage, in Mazandaran Province, Iran / K. Babae, A. Rezaee, S. E. Norollahi [et al] // *New Zealand Journal of Medical Laboratory Science*. – 2019. – Vol. 73. – № 2. – P. 50-53.
55. Devall A. J. Sporadic pregnancy loss and recurrent miscarriage / A. J. Devall, A. Coomarasamy // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. – 2020. – Vol. 69. – P. 30-39.
56. Different effects of maternal homocysteine concentration, MTHFR and MTRR genetic polymorphisms on the occurrence of fetal aneuploidy / Q. N. Guo, L. Wang, Z. Y. Liu [et all] // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2022. – Vol. 45. – № 6. – P. 1207-1215.
57. DNA methylation and recurrent pregnancy loss: a mysterious compass? / Q. Zhou, Y. Xiong, B. Qu, [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 738962.
58. Early pregnancy losses: review of nomenclature, histopathology, and possible etiologies / M. H. Pinar, K. Gibbins, M. He [et all] // *Fetal and pediatric pathology*. – 2018. – Vol. 37, № 3. – P. 191-209.
59. Early missed abortion is associated with villous angiogenesis via the HIF-1 α /VEGF signaling pathway/ Z. Zhi, W. Yang, L. Liu [et all] // *Archives of gynecology and obstetrics*. – 2018. – Vol. 298. – № 3. – P. 537-543.
60. Effect of maternal vitamin D status on risk of adverse birth outcomes: a systematic review and dose–response meta-analysis of observational studies / R. Zhao, L. Zhou, S. Wang[et al.]//*European Journal of Nutrition*. – 2022. – Vol. 61. – № 6. – P. 2881-2907.

61. Effects of maternal and fetal vascular endothelial growth factor a single nucleotide polymorphisms on pre-eclampsia: A hybrid design study / X. Z. Chen, S. J. Yu, M. H. Wei [et al.] // *Cytokine*. – 2020. – T. 127. – C. 154995.
62. Effects of progesterone, dydrogesterone and estrogen on the production of Th1/Th2/Th17 cytokines by lymphocytes from women with recurrent spontaneous miscarriage / G. AbdulHussain, F. Azizieh, M. A Makhseed, &R. Raghupathy//*Journal of Reproductive Immunology*. – 2020. – Vol. 140. – P. 103132.
63. Effects on Serum Inflammatory Cytokines of Cholecalciferol Supplementation in Healthy Subjects with Vitamin D Deficiency / A. Fassio, D. Gatti, M Rossini[et al.]//*Nutrients*. – 2022. – Vol. 14. – № 22. – P. 4823.
64. Elevated levels of serum vascular endothelial growth factor-A are not related to NK cell parameters in recurrent IVF failure / R. Bansal, B. Ford, S. Bhaskaran [et al.] // *Journal of Reproduction & Infertility*. – 2017. – Vol. 18. – № 3. – P. 280.
65. Evaluating the Association Between Genetic Polymorphisms Related to Homocysteine Metabolism and Unexplained Recurrent Pregnancy Loss in Women / N. Nguyen Ngoc, M. Tran Ngoc Thao, S. Trieu Tien [et all] // *The Application of Clinical Genetics*. – 2022. – Vol. 15. – P. 55-62.
66. Evaluation of chromosomal structural anomalies in fertility disorders / D. Serapinas, E. Valantinavičienė, E. Machtejevienė [et all] // *Medicina*. – 2021. – Vol. 57, № 1. – P. 37.
67. Expression of vitamin D and vitamin D receptor in chorionic villous in missed abortion / O. Bepalova, M. Bakleicheva, I. Kovaleva [et al.] // *Gynecological Endocrinology*. – 2019. – Vol. 35. – № sup1. – P. 49-55.
68. Extravillous trophoblasts invade more than uterine arteries: evidence for the invasion of uterine veins /G. Moser, G. Weiss, M. Sundl. [et all] // *Histochemistry and cell biology*. – 2017. – Vol. 147. – № 3. – P. 353-366.
69. Ferdous S. Correlation between Serum Vitamin D Deficiency and Early Spontaneous Pregnancy Loss/ S. Ferdous // *Sch Int J Obstet Gynec*. – 2021. – Vol. 4. – № 4. – P. 131-135.

70. Gene expression analysis of VEGF and its receptors and assessment of its serum level in unexplained recurrent spontaneous abortion / E. Amirchaghmaghi, A. Rezaei, A. Moini. [et al.] // *Cell Journal (Yakhteh)*. – 2015. – Vol. 16. – № 4. – P. 538.
71. Genetic Polymorphisms of Vascular Endothelial Growth Factor in Neonatal Pathologies: A Systematic Search and Narrative Synthesis of the Literature / M.G. Hășmășanu, L. M. Procopciuc, M. Matyas [et al.] // *Children*. – 2023. – Vol. 10. – №4. – C. 744.
72. Genetic variation in the maternal vitamin D receptor FokI gene as a risk factor for recurrent pregnancy loss / A. Barišić, N. Pereza, A. Hodžić [et al.] // *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. – 2021. – Vol. 34. – № 14. – P. 2221-2226.
73. Grant W. B. Review of recent advances in understanding the role of vitamin D in reducing cancer risk: breast, colorectal, prostate, and overall cancer / W. B. Grant // *Anticancer Research*. – 2020. – Vol. 40. – № 1. – P. 491-499.
74. Guideline of the European society of human reproduction and embryology / R. P. Loss // *ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group*. – 2017. – P. 1-153.
75. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency: a 2023 update in Poland / P. Płudowski, B. Kos-Kudła, M. Walczak [et al.] // *Nutrients*. – 2023. – Vol. 15. – № 3. – C. 695.
76. Haas D. M. Progestogen for preventing miscarriage in women with recurrent miscarriage of unclear etiology / D. M. Haas, T. J. Hathaway, P. S. Ramsey // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2019. – № 11
77. HELLP syndrome—holistic insight into pathophysiology / A. Petca, B. C. Miron, I. Pacu [et al.] // *Medicina*. – 2022. – T. 58. – №. 2. – C. 326.
78. Hereditary thrombophilia genetic variants in recurrent pregnancy loss / N. Ahangari, M. Doosti, N. Mousavifar [et al.] // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2019. – Vol. 300. – № 3. – P. 777–782.
79. Health Service Executive National Standards for Bereavement Care Following Pregnancy Loss and Perinatal Death // *Health Service Executive*. – Dublin 2019
80. High prevalence of severe vitamin D deficiency during the first trimester in pregnant women in Switzerland and its potential contributions to adverse outcomes in the

pregnancy / P. Christoph, P. Challande, L. Raio, D. Surbek //Swiss medical weekly. – 2020. – Vol. 150. – P. w20238.

81. Holbrook B. D. The effects of nicotine on human fetal development / B. D. Holbrook //Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews. – 2016. – Vol. 108. – № 2. – P. 181-192.

82. Homer H. A. Modern management of recurrent miscarriage /H. A. Homer//Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology. – 2019. – Vol. 59. – № 1. – P. 36-44.

83. Human extravillous trophoblast invasion: intrinsic and extrinsic regulation / E. Menkhorst, A. Winship, M. Van Sinderen, E. Dimitriadis // Reproduction, Fertility and Development. – 2016. – Vol. 28. – № 4. – P. 406-415.

84. Immunological risk factors in recurrent pregnancy loss: guidelines versus current state of the art /K. Vomstein, K. Feil, L. Strobel[et al.]//Journal of Clinical Medicine. – 2021. – Vol. 10. – № 4. – P. 869.

85. Immunomodulatory effects of vitamin D in pregnancy and beyond / F. Cyprian, E. Lefkou, K. Varoudi, & G Girardi//Frontiers in immunology. – 2019. – T. 10. – C. 2739.

86. Impact of recurrent pregnancy loss history on reproductive outcomes in women undergoing fertility treatment / J. Qiu, T. Du, W. Li [et al.] //American Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2023. – Vol. 228. – № 1. – P. 66. e1-66. e9.

87. Interaction between MTHFR 677C> T, PON1 192Q> R and PON1 55L> M polymorphisms and its effect on non-recurrent spontaneous abortion in Mexican women / J Blanco-Muñoz, M. Lacasaña, R. Gamboa [et al.] // Gene. – 2019. – Vol. 689. – P. 69-75.

88. Investigating the role of functional polymorphism of maternal and neonatal vitamin D binding protein in the context of 25-hydroxyvitamin D cutoffs as determinants of maternal-neonatal vitamin D status profiles in a sunny Mediterranean region / S. N Karras. E. Dursun. M.Alaylıoğlu [et al.] // Nutrients. – 2021. – Vol. 13. – № 9. – P. 3082.

89. Investigation of the association between C677T polymorphism of the MTHFR gene and plasma homocysteine level in recurrent fetal miscarriage / Y. Zarfe-shan Fard, O. Kooshkaki, D. Kordi Tammandani, & G. Anani Sarab // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 2019. – Vol. 45. – № 8. – P. 1442-1447.

90. Khalife D. Review of current guidelines for recurrent pregnancy loss: new strategies for optimal evaluation of women who may be superfertile / D. Khalife, G. Ghaz-eeri, W. Kutteh // *Seminars in perinatology*. – WB Saunders, 2019. – Vol. 43. – № 2. – P. 105-115.

91. Lou, C. A potential new mechanism for pregnancy loss: considering the role of LINE-1 retrotransposons in early spontaneous miscarriage / C. Lou, J. L. Goodier, R Qiang // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2020. – Vol. 18. – № 1. – P. 1-10

92. Maternal 25 (OH) D concentrations ≥ 40 ng/mL associated with 60% lower preterm birth risk among general obstetrical patients at an urban medical center / S. L. McDonnell, C. A. Baggerly, C. A. Baggerly [et al.] // *PloS one*. – 2017. – Vol. 12. – № 7. – P. e0180483.

93. Maternal candidate gene variants, epigenetic factors, and susceptibility to idiopathic recurrent pregnancy loss: A systematic review / M. Kaur, R. Kaur, K. Chhabra, P. Khetarpal // *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. – 2023.

94. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis / X. Shi, X. Xie, Y. Jia, & S. Li // *Clinical genetics*. – 2017. – Vol. 91. – № 2. – P. 265-284.

95. Maternal Vitamin D receptor gene variant genotype and its influence on pre-term birth, low birth weight, and fetal death. A case-control study from Northeast India / D. Tiwari, S. S Choudhury, A Begum. [et al.] // *Gene Reports*. – 2022. – Vol. 26. – P. 101517.

96. Maternal vitamin D status and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), an under diagnosed risk factor; A review / H. Tahir, N. Munir, S. S Iqbal [et al.] // *European Journal of Inflammation*. – 2023. – Vol. 21. – P. 1721727X231161013.

97. Maternal Vitamin D level and Early Pregnancy Loss A Nested Case Control Study / A. A. El-Zayadi, El-Ghareeb, N. A. M [et al.] // The Egyptian Journal of Fertility of Sterility. – 2021. – Vol. 25. – № 1. – P. 12-19.
98. Methylenetetrahydrofolate reductase and psychiatric diseases / L. Wan, Y. Li, Z. Zhang [et al.] // Translational psychiatry. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 1-12.
99. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms are not associated with embryo chromosomal abnormalities and IVF outcomes / R. Morales, B. Lledó, J. A. Ortiz. [et al.] // Systems Biology in Reproductive Medicine. – 2021. – Vol. 67. – № 4. – P. 270-280.
100. Meza-Meza M. R. Functional effects of vitamin D: From nutrient to immunomodulator / M. R. Meza-Meza, A. I. Ruiz-Ballesteros, U. de la Cruz-Mosso // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2022. – Vol. 62, № 11. – P. 3042-3062.
101. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss / Quenby, S., Gallos, I. D., Dhillon-Smith, R. K. [et al.] // The Lancet. – 2021. – Vol. 397. – № 10285. – P. 1658–1667.
102. Missed abortion with negative biomarkers / R. Allen, A. Lee, C. Hanuscin, & A. Gleyzer // The American Journal of Emergency Medicine. – 2022. – Vol. 57. – P. 236.
103. Moderately elevated first trimester fasting plasma total homocysteine is associated with increased probability of miscarriage. The Reus-Tarragona Birth Cohort Study / P. Cavallé-Busquets, M. Inglès-Puig, J. D. Fernandez-Ballart [et al.] // Biochimie. – 2020. – Vol. 173. – P. 62-67.
104. Moghbeli, M. Genetics of recurrent pregnancy loss among Iranian population / M. Moghbeli // Molecular Genetics & Genomic Medicine. – 2019. – Vol. 7. – № 9. – P. e891.
105. MTHFR 1298A> C Substitution is a Strong Candidate for Analysis in Recurrent Pregnancy Loss: Evidence from 14,289 Subjects / P. Mehta, R. Vishvkarma, K. Singh, S. Rajender // Reproductive Sciences. – 2021. – P. 1-15.

106. MTR, MTRR and CBS gene polymorphisms in recurrent miscarriages: A case control study from North India / S. Talwar, S. Prasad, L. Kaur [et al.] // *Journal of Human Reproductive Sciences*. – 2022. – Vol. 15. – № 2. – P. 191.

107. MTHFR C677T polymorphism analysis: A simple, effective restriction enzyme-based method improving previous protocols / F. Antonaros, G. Olivucci, E. Cicchini [et al.] // *Molecular genetics & genomic medicine*. – 2019. – Vol. 7. – № 5. – P. 628

108. Multiomics studies investigating recurrent pregnancy loss: an effective tool for mechanism exploration / J. Li, L. Wang, J. Ding // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – C. 1889.

109. New insights into mechanisms behind miscarriage / E. C. Larsen, O. B. Christiansen, A. M. Kolte, N. Macklon [et al.] // *BMC medicine*. – 2013. – Vol. 11. – № 1. – P. 1-10.

110. Obesity and recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis / M. B. Cavalcante, M. Sarno, A. B. Peixoto [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 2019. – Vol. 45. – № 1. – P. 30-38.

111. Ongoing pregnancies in patients with unexplained recurrent pregnancy loss: adverse obstetric outcomes / F. Rizzello, C. Riviello, C. Romanelli [et al.] // *Human Fertility*. – 2019. – Vol. 22. – № 3. – P. 219-225.

112. Pei, C. Z. Pathogenetic factors involved in recurrent pregnancy loss from multiple aspects / C. Z. Pei, Y. J. Kim, K. H. Baek // *Obstetrics & gynecology science*. – 2019. – Vol. 62. – № 4. – P. 212-223.

113. Pharmacological interventions for promoting smoking cessation during pregnancy / R. Claire, C. Chamberlain, M. A. Davey [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2020. – № 3.

114. Placental mRNA and protein expression of VDR, CYP27B1 and CYP2R1 genes related to vitamin D metabolism in preeclamptic women / Magiełda-Stola, J., Kurzawińska, G., Ożarowski, M. [et al.] // *Applied Sciences*. – 2021. – Vol. 11. – № 24. – P. 11880.

115. Placental uptake and metabolism of 25 (OH) vitamin D determine its activity within the fetoplacental unit / B. Ashley, C. Simner, A. Manousopoulou [et al.] // *Elife*. – 2022. – T. 11. – C. e71094.
116. Polymorphisms and haplotypes in VDR gene are associated with female idiopathic infertility / J. Djurovic, G. Stamenkovic, J. Todorovic [et al.] // *Human Fertility*. – 2020. – Vol. 23. – № 2. – P. 101-110.
117. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase in recurrent pregnancy loss: an overview of systematic reviews and meta-analyses / B. Du, X. Shi, C. Yin, Feng, X // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. – 2019. – Vol. 36. – P. 1315-1328.
118. Polymorphisms C677T and A1298C of MTHFR Gene: Homocysteine Levels and Prothrombotic Biomarkers in Coronary and Pulmonary Thromboembolic Disease / Lupi-Herrera E., Soto-López M.E., Lugo-Dimas A.J. [et al.] // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2019. – Vol. 25. – P. 1076029618780344.
119. Posttraumatic stress, anxiety and depression following miscarriage and ectopic pregnancy: a multicenter, prospective, cohort study / J. Farren, M. Jalmbrant, L. Ameye [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2020. – Vol. 222. – № 4. – P. 367. e1-367. e22.
120. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion // *Fertility and sterility*. – 2012. – Vol. 98. – № 5. – P. 1103-1111.
121. Preclinical prevention trial of calcitriol: impact of stage of intervention and duration of treatment on oral carcinogenesis / V. K Vincent-Chong, H. DeJong, K Attwood [et al.] // *Neoplasia*. – 2019. – Vol. 21. – № 4. – P. 376-388.
122. Prevalent genotypes of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in recurrent miscarriage and recurrent implantation failure / Y. Zhu, T. Wu, L. Ye [et al.] // *Journal of Assisted Reproduction and genetics*. – 2018. – Vol. 35. – № 8. – P. 1437-1442.
123. Pregnancy-related complications in women with recurrent pregnancy loss: a prospective cohort study / C. Ticconi, A Pietropolli, M. Specchia [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2020. – Vol. 9. – № 9. – P. 2833.

124. Pregnancy loss: French clinical practice guidelines / C. Huchon, X. Deffieux, G. Beucher [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2016. – Vol. 201. – P. 18-26.

125. Pregnancy loss: A 40-year nationwide assessment / Ø. Lidegaard, A. P. Mikkelsen, P. Egerup [et al.] // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. – 2020. – Vol. 99. – № 11. – P. 1492-1496.

126. Preterm birth after recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis / C.Q. Wu, K. Nichols, M. Carwana [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2022.

127. Prognosis for live birth in women with recurrent miscarriage: what is the best measure of success? / Lund, M., Kamper-Jørgensen, M., Nielsen, H. [et al.] // *Obstetrics & Gynecology*. – 2012. – Vol. 119. – № 1. – P. 37-43.

128. Rapid Nontranscriptional Effects of Calcifediol and Calcitriol / S. Donati, G. Palmi, C. Aurilia [et al.] // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14. – № 6. – P. 1291.

129. Recurrent pregnancy loss / E. Dimitriadis, E. Menkhorst, S. Saito, [et al.] // *Nature reviews disease primers*. – 2020. – Vol. 6. – № 1. – P.98.

130. Recurrent pregnancy loss: diagnostic workup after two or three pregnancy losses? A systematic review of the literature and meta-analysis /M. M. van Dijk, A. M. Kolte, J. Limpens [et al.] // *Human reproduction update*. – 2020. – Vol. 26. – № 3. – P. 356-367.

131. Relative Efficacy of Vitamin D2 and Vitamin D3 in improving Vitamin D status: Systematic review and meta-Analysis / R. Balachandar, R. Pullakhandam, B. Kulkarni & H. S. Sachdev // *Nutrients*. – 2021. – Vol. 13. – № 10. – P. 3328.

132. Recurrent pregnancy loss and vitamin D: A review of the literature / D. R. Gonçalves, A. Braga, J. Braga [et al.] // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2018. – Vol. 80. – № 5. – P.13-22.

133. Recurrent pregnancy loss: current perspectives /H. El Hachem, V. Crepau, P. May-Panloup[et al.] // *International journal of women's health*. – 2017. – C. 331-345.

134. Relationship between unexplained recurrent pregnancy loss and 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase) polymorphisms / Y. Xu, Y. Ban, L. Ran [et all] // *Fertility and Sterility*. – 2019. – Vol. 111. – № 3. – P. 597-603.

135. Risk of miscarriage in women receiving antidepressants in early pregnancy, correcting for induced abortions / N. D Almeida, O. Basso, M. Abrahamowicz [et al.] // *Epidemiology*. – 2016. – Vol. 27. – № 4. – P. 538-546.

136. Risk of miscarriage in women with chronic diseases in Norway: A registry linkage study / M.C. Magnus, N.H. Morken, K.A. Wensaas [et al.] // *PLoS medicine*. – 2021. – Vol. 18. – № 5. – P. e1003603.

137. Rizkia, C. P. Vitamin D and Its Role in Modulating Immune System: A Narrative Literature Review /C. P. Rizkia//*Open Access Indonesian Journal of Medical Reviews*. – 2023. – Vol. 3. – № 1. – P. 356-361.

138. Role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in human embryo implantation: clinical implications / X. Guo, H. Yi, T.C. Li [et al.] // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11. – № 2. – P. 253.

139. Role of maternal age and pregnancy history in risk of miscarriage: prospective register based study /M. C. Magnus, A. J. Wilcox, N. H. Morken[et all] // *bmj*. – 2019. – Vol. 364.

140. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Green-top Guideline Number 17. The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent First trimester and Second-trimester Miscarriage // RCOG: London, UK. – 2011.

141. Rossen L. M. Trends in risk of pregnancy loss among US women, 1990–2011 / L. M. Rossen, K. A. Ahrens, A. M. Branum // *Paediatric and perinatal epidemiology*. – 2018. – Vol. 32. – № 1. – P. 19-29.

142. Scharla, S. H. Vitamin D in reproductive medicine / S. H. Scharla//*Gynäkologische Endokrinologie*. – 2019. – Vol. 17. – P. 16-19.

143. Sharef A. A. R. Vitamin D3 deficiency and early pregnancy loss / A. A. Sharef, S. S. Hussien, F. M. Noori // *Middle East Journal of Family Medicine*. – 2020. – Vol. 7. – № 10. – P. 76.

144. Shaker, M. M. Correlation of methylation status in MTHFR promoter region with recurrent pregnancy loss / M. M. Shaker, T. A. Shalabi, & S. K. Amr//Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. – 2021. – Vol. 19. – P. 1-9.

145. Systematic review and meta-analysis of genetic association studies in idiopathic recurrent spontaneous abortion / N. Perez, S. Ostojić, M. Kapović, & B. Peterlin//Fertility and sterility. – 2017. – Vol. 107. – № 1. – P. 150-159. e2

146. Sosa-Díaz, E. The role of vitamin D on redox regulation and cellular senescence / E Sosa-Díaz, E. Y Hernández-Cruz, J Pedraza-Chaverri//Free Radical Biology and Medicine. – 2022.

147. TGF- β signaling proteins and CYP24A1 may serve as surrogate markers for progesterone calcitriol treatment in ovarian and endometrial cancers of different histological types / A. Paucarmayta, H. Taitz, Y. Casablanca [et al.] //Translational Cancer Research. – 2019. – Vol. 8. – № 4. – P. 1423.

148. The anti-inflammatory effects of vitamin D in tumorigenesis / W. Liu, L. Zhang, H. J. Xu [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2018. – Vol. 19, № 9. – P. 2736.

149. The association between maternal methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and birth defects and adverse pregnancy outcomes / Y. Zhang, X. He, X. Xiong [et al.] // Prenatal Diagnosis. – 2019. – Vol. 39. – № 1. – P. 3-9.

150. The prevalence of homozygous MTHFR polymorphism (s) in a Turkish university hospital population that necessitated MTHFR polymorphism investigation / F. Gumruk, G. ORGUL, Dogan P. [et al.] // Electronic Journal of General Medicine. – 2018. – Vol. 15. – № 4.

151. The relationship between vitamin D receptor (VDR) rs2228570 and rs7975232 genetic variants and the risk of recurrent pregnancy loss / Z. Salari, N. Saleh-Gohari, M. Rezapour [et al.] // Meta Gene. – 2021. – Vol. 27. – P. 100833

152. The Role of Vitamin D and Vitamin D Receptor in Placenta Accreta Spectrum: A Literature Review / K. Murti, P. Mirani, P. M. Lestari[et al.]//Indonesian Journal of Obstetrics & Gynecology Science. – 2023. – Vol. 6. – № 1. – P. 20-27.

153. The role and mechanism of vitamin D-mediated regulation of Treg/Th17 balance in recurrent pregnancy loss / J. Ji, H. Zhai, H. Zhou [et al.] // *American journal of reproductive immunology*. – 2019. – Vol. 81. – № 6. – P. e13112.

154. Thiele D. K. High prevalence of maternal serum 25-hydroxyvitamin D deficiency is not associated with poor birth outcomes among healthy white women in the Pacific Northwest / D. K. Thiele, E. N. Erickson, J. M. Snowden. // *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing*. – 2019. – Vol. 48. – № 2. – P. 163-175.

155. Toward optimal emotional care during the experience of miscarriage: an integrative review of the perspectives of women, partners, and health care providers / Lee, L., Ma, W., Davies, S., & Kammers, M. // *Journal of Midwifery & Women's Health*. – 2023. – T. 68. – № 1. – C. 52-61.

156. Trends in the incidence, rate and treatment of miscarriage—nationwide register-study in Finland, 1998–2016 / Linnakaari, R., Helle, N., Mentula, M., Bloigu, A [et all] // *Human Reproduction*. – 2019. – Vol. 34. – № 11. – P. 2120-2128.

157. Tur-Torres M. H. Genetics of recurrent miscarriage and fetal loss / M. H. Tur-Torres, C. Garrido-Gimenez, J. Alijotas-Reig // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. – 2017. – Vol. 42. – P. 11-25.

158. VDR gene polymorphisms as a significant factor in unexplained infertility / E. Isbilen, H. Ulusal, K. Karaer [et al.] // *Gene Reports*. – 2020. – Vol. 21. – P. 100962.

159. Vitamin D metabolic loci and vitamin D status in Black and White pregnant women / K. M. Baca, M. Govil, J. M. Zmuda [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2018. – Vol. 220. – P. 61-68.

160. Vitamin D and assisted reproductive treatment outcome: a systematic review and meta-analysis / J. Chu, I. Gallos, A. Tobias [et al.] // *Human reproduction*. – 2018. – Vol. 33. – № 1. – P. 65-80.

161. Vitamin D: Effect on Haematopoiesis and Immune System and Clinical Applications / M. Medrano, E. Carrillo-Cruz, I. Montero, J. A. Perez-Simon // *Int J Mol Sci*. – 2018. – Vol. 19, № 9. – P 2663.

162. Vitamin D, PCOS and androgens in men: a systematic review / C. Trummer, S. Pilz, V. Schwetz // *Endocrine Connections*. – 2018. – Vol. 7. – № 3. – P. R95-R113.

163. Vitamin D in the prevention, development and therapy of oncological diseases / A. Vassallo, F. Finelli, M. G. Bonomo [et all] // *Pharmacologyonline*. – 2021. – Vol. 2. – P. 267-276.
164. Vitamin D receptor gene polymorphisms and haplotypes in the etiology of recurrent miscarriages / H. Wolski, G. Kurzawińska, M. Ożarowski [et all] // *Scientific reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 1-10.
165. Variants c. 677 C> T, c. 1298 A> C in MTHFR, and c. 66 A> G in MTRR Affect the Occurrence of Recurrent Pregnancy Loss in Chinese Women / Y, Zhang, W. Zhan, Q. Du [et all] // *Genetic testing and molecular biomarkers*. – 2020. – Vol. 24. – № 11. – P. 717-722.
166. Vitamin D-binding protein in pregnancy and reproductive health / M. Fernando, S. J. Ellery, C. Marquina [et all] // *Nutrients*. – 2020. – Vol. 12. – № 5. – P. 1489.
167. Vitamin D promotes trophoblast cell induced separation of vascular smooth muscle cells in vascular remodeling via induction of G-CSF / J. Y. Zhang, P. Wu, D. Chen [et all] // *Frontiers in cell and developmental biology*. – 2020. – Vol. 8. – P. 601043.
168. Vitamin D and miscarriage: a systematic review and meta-analysis / J. A. Tamblyn, N. S. Pilarski, A.D. Markland [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2022. – Vol. 118. – № 1. – P. 111-122.
169. Vitamin D receptor FokI polymorphism is a determinant of both maternal and neonatal vitamin D concentrations at birth / S. N. Karras, T. Koufakis, V. Antonopoulou [et al.] // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. – 2020. – Vol. 199. – P. 105568.
170. Vitamin D insufficiency as a risk factor for reproductive losses in miscarriage / V. E. Radzinsky, F. U. Ramazanova, M. B. Khamoshina [et al.] // *Gynecological Endocrinology*. – 2021. – T. 37. – №. sup1. – C. 8-12.
171. Vitamin D and assisted reproductive treatment outcome: a prospective cohort study / J. Chu, I. Gallos, A. Tobias. [et al.] // *Reproductive health*. – 2019. – Vol. 16. – № 1. – P. 1-10.

172. Vitamin D effects on the immune system from periconception through pregnancy / B. Schröder-Heurich, C. J. P. Springer, & von F. Versen-Höynck//Nutrients. – 2020. – Vol. 12. – № 5. – P. 1432.

173. Vitamin D receptor polymorphisms in spontaneous preterm birth: a case-control study / M. Gašparović Krpina. A. Barišić. A. Peterlin [et al.] //Croatian medical journal. – 2020. – Vol. 61. – № 4. – P. 338-345.

174. Vitamin D, respiratory infections, and chronic disease: Review of meta-analyses and randomized clinical trials / D. Ganmaa, D. Enkhmaa, E. Nasantogtokh [et al.]// Journal of Internal Medicine. – 2022. – T. 291. – №. 2. – C. 141-164.

175. Vitamin D attenuates COVID-19 complications via modulation of proinflammatory cytokines, antiviral proteins, and autophagy / S. J. Gilani, M. N. Bin-Jumah, M. S. Nadeem, I. Kazmi//Expert Review of Anti-Infective Therapy. – 2022. – Vol. 20. – № 2. – P. 231-241.

176. Vitamin D and Vitamin D Receptor in Female Infertility: VD and VDR in female infertility /N. Farooqui, M. Ashraf, A. Azhar[et al.]//Journal of Aziz Fatimah Medical & Dental College. – 2021. – Vol. 3. – № 2. – P. 61-64.

177. Vitamin D receptor gene Polymorphisms (fok1 and taq1) among Sudanese women with recurrent miscarriages / N.E. Babiker, S. E. Babiker, N. osmanyusuf [et al.]//International Journal of Medical Science and Clinical Invention. – 2022. – Vol. 9. – № 07. – P. 6175-6182.

178. Wagner, C. L. Early-life effects of vitamin D: A focus on pregnancy and lactation / C. L Wagner. B. W Hollis//Annals of Nutrition and Metabolism. – 2020. – Vol. 76. – № 2. – P. 16-28.

179. Yamamoto E. Immunological effects of vitamin D and their relations to autoimmunity / E.Yamamoto, T. N. Jørgensen. // Journal of autoimmunity. – 2019. – Vol. 100. – P. 7-16.

180. Yu, W. Association of male factors with recurrent pregnancy loss / W. Yu, & S. Bao//Journal of Reproductive Immunology. – 2022. – C. 103758.

181. Yatsenko, S. A. Genetics of human female infertility / S. A. Yatsenko, A. Rajkovic//Biology of reproduction. – 2019. – Vol. 101. – № 3. – P. 549-566

182. Zimmer M. Polish Society of Gynecologists and Obstetricians recommendations on supplementation during pregnancy / M. Zimmer, P. Sieroszewski, P. Oszkowski // *Ginekologia Polska*. – 2020. – Vol. 91. – № 10. – P. 644-653.

183. Zchneuer. Effects of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the first trimester on subsequent pregnancy outcomes in an Australian population / F.J. Zchneuer, C.L. Roberts, C. Guilbert // *The American journal of clinical nutrition*. – 2014. – Vol. 99. – №. 2. – P. 287-295.

184. Zandersen L.B. Vitamin D insufficiency is associated with increased risk of first-trimester miscarriage in the Odense Child Cohort / L.B. Zandersen, J.S. Jorgensen, T.K. Jensen // *Am J Clin Nutr*, 2015, 102 633-638.

Приложение А (справочное).

Анкета

Кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии РУДН проводит АНОНИМНОЕ анкетирование в рамках исследования здоровья женщин Российской Федерации и факторах, его формирующих. Нашей целью является улучшение репродуктивного здоровья женщин.

Мы Вам очень признательны, за согласие ответить на вопросы анкеты. Здоровья Вам и Вашим близким

1	В каком городе и области вы живете?	
2	Ваша национальность:	
3	Ваш возраст:	
4	Ваши показатели:	Вес _____ кг Рост _____ см ОТ _____ см ОБ _____ см ИМТ _____ АД _____ мм.рт.ст. Пульс _____ уд в '
5	Ваше образование:	<input type="checkbox"/> Высшее <input type="checkbox"/> Неоконченное высшее <input type="checkbox"/> Среднее профессиональное <input type="checkbox"/> Среднее общее
6	Ваша профессия:	
7	Характеристики вашего менструального цикла: Ваш возраст, когда пришла первая менструация (12-15 лет)	
8	Сколько дней у Вас обычно длится менструальное кровотечение (2-7)	
9	Сколько дней длится Ваш менструальный цикл (21-35), если менструальный цикл нерегулярный, то укажите минимальный и максимальный	
10	Характер менструаций (нужное подчеркнуть):	скудные/ умеренные/ обильные; болезненные/ безболезненные.
11	При болезненной менструации принимаете ли Вы обезболивающие препараты, если да, то какие?	<input type="checkbox"/> Да <input type="checkbox"/> Нет, не принимаю.
12	Страдаете ли Вы какими-либо гинекологическими заболеваниями (подчеркните все правильные ответы, укажите заболевание)	<input type="checkbox"/> 1) Нет, я здорова <input type="checkbox"/> 2) Хронические воспалительные заболевания придатков матки (аднексит, сальпингит, сальпингоофорит) <input type="checkbox"/> 3) Заболевания шейки матки и

		<p>влагалища (кольпит, эрозия (эктопия) шейки матки, цервицит, бартолинит, вульвовагинит, бактериальный вагиноз</p> <p>4) Заболевания молочных желез</p> <p>€ 5) Миома матки (_____ недель)</p> <p>€ 6) Эндометриоз (матки, шейки, придатков, брюшины)</p> <p>€ 7) Бесплодие (первичное, вторичное)</p> <p>€ 8) Невынашивание беременности</p> <p>€ 9) Нарушения менструального цикла</p> <p>€ 10) Пороки развития половых органов</p> <p>€ 11) Неправильные положения матки (загиб, опущение)</p> <p>€ 12) Нейроэндокринные синдромы (Нейрообменноэндокринный синдром, адреногенитальный синдром, синдром поликистозных яичников, другие</p> <p>€ 11) Прочие (указать, какие)</p>
13	<p>Страдаете ли Вы каким-либо хроническим заболеванием (исключая гинекологическую патологию) (подчеркните правильный ответ)</p>	<p>€ Да</p> <p>€ Нет.</p>
14	<p>Какими хроническими заболеваниями Вы страдаете (подчеркните все правильные ответы)</p>	<p>1) Заболевания сердца</p> <p>2) Заболевания сосудов (включая гипертонию, гипотонию)</p> <p>3) Заболевания печени и желчного пузыря</p> <p>4) Заболевания желудочно-кишечного тракта</p> <p>5) Заболевания почек</p> <p>6) Туберкулез, в том числе в анамнезе и контакт с туберкулезом</p> <p>7) Заболевания щитовидной железы</p> <p>8) Сахарный диабет</p> <p>9) Ожирение</p> <p>10) Заболевания ЛОР-органов и органов дыхания («ухо-горло-нос», верхние дыхательные пути, легкие)</p> <p>11) Анемия</p> <p>12) Заболевания кожи</p> <p>13) Аллергические заболевания и нарушения иммунитета</p> <p>14) инфекционные заболевания</p> <p>15) Миопия, болезни глаз</p> <p>16) Заболевания суставов</p> <p>17) Прочие (указать, какие)</p>
15	<p>Случались ли у вас эпизоды повышения артериального давления?</p>	<p>Да</p> <p>Нет</p> <p>АД</p> <p>рабочее _____</p> <p>АД</p> <p>максимальное _____</p>
16	<p>Какие операции были у вас в течение жизни и по какому поводу? (удаление</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>

	желчного пузыря, аппендикса, маточной трубы, шунтирование желудка и др)	_____ _____ _____ € Нет, никогда не было
17	Были ли у Вас выскабливания слизистой тела матки? (нужное подчеркнуть)	Раздельное диагностическое выскабливание слизистой тела матки/ гистероскопия/ удаление полипа эндометрия/ выскабливание слизистой тела матки по поводу аборта/ остатков плодного яйца/ неразвивающейся беременности/ после родов. € Нет, никогда не было
18	Живете ли вы половой жизнью?	€ Да € Нет
19	Ваш возраст начала половой жизни?	€ _____
20	Количество половых партнеров:	€ 1 € 2 € 3 € 4 € 5 и более
21	Каким методом контрацепции Вы пользовались?	€ Я не предохранялась от беременности € Я использовала сочетание гормональных препаратов с презервативом (укажите, какой гормональный препарат вы используете) _____ _____ € Я использовала гормональные препараты (укажите какой) _____ € Я использовала в качестве контрацепции презерватив и спермициды € Я использовала в качестве контрацепции презерватив € У меня был установлен внутриматочный контрацептив (спираль) с по _____гг € Я использовала в качестве контрацепции спермициды € Я использовала прерванный половой акт как средство контрацепции € Я постоянно не использую метод контрацепции € Другое _____
22	Принимали ли Вы когда-либо гормональные препараты с целью лечения или контрацепции, если да, то какие и как долго?	€ Да _____ _____ _____ _____ € Нет, никогда не принимала.
	В каком возрасте у Вас наступила первая	€ _____лет

23	беременность	
24	Чем закончилась Ваша первая беременность (подчеркните правильный ответ)	1) родами живым плодом 2) родами мертвым плодом 3) самопроизвольным выкидышем в раннем сроке 4) самопроизвольным выкидышем в большом сроке 5) замершей беременностью 6) абортom по собственному желанию 7) абортom по медицинским показаниям 8) прерыванием беременности в позднем сроке 9) криминальным абортom 10) внематочной беременностью 11) нет, это первая беременность.
25	Были ли у Вас роды? (если да, то указать в каком году, роды через естественные родовые пути или кесарево сечение, вес и пол ребенка)	€ Да _____ _____ _____ _____ € Нет, у меня никогда не было родов.
26	Были ли у Вас осложнения во время беременности? (токсикоз, угроза прерывания беременности, госпитализации "на сохранение", другое, чем закончилась беременность).	€ Да _____ _____ _____ € Нет, не было.
27	Были ли у Вас осложнения после родов? (сгустки в полости матки, проводилось ли выскабливание, лактационный мастит, воспаление послеоперационного шва, другое).	€ Да _____ _____ _____ € Нет, не было.
28	Были ли у Вас случаи рождения ребенка с врожденными пороками развития или наследственными заболеваниями (подчеркните правильный ответ)	1) да, неоднократно 2) да, однажды 3) нет €
29	Были ли у Вас аборты, если да, то каким методом – медикаментозный аборт (при помощи таблеток) или вакуум аспирация (оперативно), количество.	€ Да € Нет.
30	Были ли у Вас выкидыши (если да, то в каком сроке и проводилось ли выскабливание слизистой тела матки).	€ Да € Нет, не было.
31	Были ли у Вас неразвивающиеся беременности (если да, то на каком сроке замерла, проводилось ли выскабливание слизистой тела матки)	€ Да € Нет, не было.
32	Если случались потери беременности, проходили ли вы реабилитацию в стационаре (провокация пирогеналом, физиотерапия, УФО, плазмоферез)	€ Да € Нет.

33	Вы курите?	€ Нет, никогда не курила € Нет, курила ранее € Да, курю по праздникам € Да, курю до 5 сигарет в день € Да, курю до 10 сигарет в день € Да, курю до 20 сигарет в день € Да, курю более 20 сигарет в день
34	Принимаете ли Вы в настоящее время какие-либо препараты? (укажите названия препаратов, какими курсами и в какой дозировке принимаете).	€ Да € Нет, не принимаю.
35	Наблюдались ли Вы в женской консультации в период беременности (подчеркните правильный ответ)	€ 1) да, регулярно 2) не всегда, не регулярно 3) нет
36	Как Вы вынашивали беременности (подчеркните все правильные ответы)	1) всегда без патологии 2) боли внизу живота 3) изменения мазках из влагалища 4) изменения в анализах мочи 5) кровянистые выделения 6) накладывали шов(кольцо) на шейку матки 7) повышение давления 8) большая прибавка в весе во второй половине 9) головная боль 10) несоответствие матки сроку беременности 11) отеки 12) болезненное мочеиспускание 13) боли в поясничной области 14) субфебрильная температура 15) кожный зуд 16) частая рвота по утрам 17) похудание в первой половине 18) резус-конфликт 19) ухудшение шевеления и(или) сердцебиения плода 20) многоводие 21) многоплодие 22) тазовое предлежание плода 23) косое или поперечное положение плода 24) лежала на сохранении 25) положили заранее в роддом на подготовку к родам 26) иное
37	Как часто Вы посещаете врача гинеколога	€ Регулярно посещаю 1 раз в 6 месяцев € Регулярно посещаю 1 раз в год € Посещаю нерегулярно, но в течение последнего года была у гинеколога € Гинеколога посещаю нерегулярно € Была последний раз у гинеколога более 2

		лет назад € Посещаю гинеколога только при появлении жалоб € Не была ни разу
38	Отмечаете ли вы у себя следующие симптомы?	€ Мышечная слабость, мышечные судороги € Повышенная раздражительность, € Бессонница, € Депрессивные состояния, € Выпадение и разрушение зубов € Боли в области суставов
39	Принимали ли вы когда-либо витамин D	€ Да € Нет
40	Принимаете ли Вы какие-либо витаминные и/или минеральные добавки или препараты (подчеркните правильный ответ)	€ 1) да, постоянно € 2) периодически € 3) нет
41	С какой целью Вы принимаете какие-либо витаминные и/или минеральные добавки или препараты (подчеркните)	1) укрепление защитных сил организма 2) очищение организма и улучшение обмена веществ 3) защита от стрессов 4) другие цели (укажите) 5) я их не принимаю

Приложение Б
(справочное).

Форма информированного согласия

**Информированное согласие на сбор биологического материала и
генетическое тестирование**

Сотрудниками кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского института РУДН проводится сбор биологического материала (крови) и проведение генетических исследований. Все исследования проводятся с соблюдением Хельсинкской декларации о проведении медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта. Результаты этих исследований могут иметь как нейтральный (не имеющий клинического значения) характер, так и представлять определенную ценность для понимания патогенеза заболевания, уточнения диагноза и/или прогноза, оптимизации лечения. Возможно, некоторые из этих результатов будут иметь практическое значение для Вас или Ваших родственников.

Подписывая данную форму, Вы подтверждаете, что даете свое согласие на забор биологического материала и будущие генетические исследования добровольно, обладая достаточной информацией, и что у Вас была возможность задать все вопросы, которые могли у Вас возникнуть относительно генетического тестирования. Все Ваши личные данные являются конфиденциальными и не могут быть переданы другим лицам. Вы можете отозвать свое согласие в любое время без дополнительных объяснений.

Дата _____ Подпись _____ / _____ /

Анкета № _____

Ф.И.О. _____

Дата рождения _____ Контактный телефон _____

Этническая принадлежность, место рождения _____

Этническая принадлежность отца _____

Этническая принадлежность матери _____

Количество выкидышей и срок _____

Количество нормально протекавших беременностей _____

Сопутствующие
заболевания _____

Подпись