

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, М.М. Азова, А. Исмаилова

Медицинский институт федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов»
ул. Миклухо-Маклая, д. 6, г. Москва, 117198, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Одной из важнейших проблем современного практического акушерства и гинекологии остается преждевременное завершение беременности, в том числе невынашивание беременности. В связи с тем что нарушение реализации программы гестации на ранних сроках и, соответственно, выкидыши на ранних сроках в 80% обусловлены генетическим сбросом — своего рода природным фильтром, представляет интерес анализ современных представлений о генетических аспектах неразвивающейся беременности.

Цель исследования — изучить частоту генотипов по генным полиморфизмам *VDR* rs10735810, *MTHFR* rs1801131, *MTHFR* rs1801133, *MTR* rs1805087, *MTRR* rs1801394, *VEGFA* rs3025039 и выявить наличие взаимосвязи данных полиморфных локусов и недостаточности витамина D у пациенток с неразвивающейся беременностью (НБ).

Методы: обследовано 178 женщин в возрасте от 18 до 41 года. Основная группа — пациентки с НБ ($n = 101$), которых разделили на I группу ($n = 58$, пациентки с первой НБ) и II группу ($n = 43$, пациентки с повторными НБ). Контрольная группа ($n = 77$) — женщины с успешно протекающей беременностью (Z34.0), которая впоследствии завершилась срочными родами живым плодом. Генотипирование по полиморфным локусам *VDR* rs10735810, *MTHFR* rs1801131, *MTHFR* rs1801133, *MTR* rs1805087, *MTRR* rs1801394, *VEGFA* rs3025039 было произведено у 177 пациенток. Уровень общего 25 (ОН)D в сыворотке крови ($n = 99$) определяли методом масс-спектрометрии. Статистический анализ данных выполнили с помощью пакетов прикладных программ StatSoft® Inc. (2011), Statistica (data analysis software system) version 10 (США).

Результаты. Установлено, что частоты генотипов по исследованным локусам среди пациенток с НБ не отличаются от таковых в группе женщин, родивших доношенных здоровых детей ($p > 0,1$). Не обнаружено взаимосвязи НБ в первом триместре и встречаемости вариантов полиморфизмов исследованных генов ($p > 0,1$). Генотип GG гена *VDR* у пациенток с повторными НБ выявляется даже реже, чем в контроле (14,0% против 23,7%; ОШ = 2,29; 95% ДИ 0,738–7,075). Генотип GG по гену *MTR* выявляется вдвое чаще у пациенток с первой НБ по сравнению с контрольной группой, однако различие не достигает статистически значимых величин (8,6% против 4,0%). Генотип TT по изучаемому полиморфизму гена *VEGF* у пациенток с первой НБ встречается даже реже, чем в группе контроля (соответственно 3,5% против 7,9%). Для пациенток с НБ в первом триместре гестации установлена взаимосвязь с наличием дефицита витамина D

и встречаемостью полиморфных вариантов генов *VDR rs10735810* ($p = 0,0304$) и *MTHFR rs1801133* ($p = 0,0180$). Для других исследованных генов такая связь отсутствует.

Заключение. Таким образом, проведенное исследование свидетельствует о том, что генные полиморфизмы *VDR rs10735810* и *MTHFR rs1801133* при дефиците витамина D патогенетически ассоциированы с неразвивающейся беременностью.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, ранние репродуктивные потери, *VDR rs10735810*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*, *VEGFA rs3025039*, витамин D

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Рамазанова Ф.У., Радзинский В.Е., Хамошина М.Б., Азова М.М., Исмаилова А. Роль полиморфных локусов *VDR rs10735810*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394* AND *VEGFA rs3025039* в патогенезе неразвивающейся беременности: проспективное когортное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2022; 29(3): 46–61. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2022-29-3-46-61>

Поступила 02.02.2022

Принята после доработки 01.04.2022

Опубликована 28.06.2022

ROLE OF POLYMORPHIC LOCI *VDR rs10735810*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*, *VEGFA rs3025039* IN MISSED ABORTION: A PROSPECTIVE COHORT STUDY

Fatima U. Ramazanova*, Viktor E. Radzinsky, Marina B. Khamoshina,
Madina M. Azova, Annagul Ismailova

*Institute of Medicine, RUDN University
Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, 117198, Russia*

ABSTRACT

Background. Premature termination of pregnancy, including miscarriage, remains among the critical problems in modern obstetrics and gynaecology practices. In the context of early gestational failure and the notion that 80% of early miscarriages are triggered by genetic reset — some natural filter — an analysis of current knowledge of the genetic aspects of missed abortion (MA) appears relevant.

Objectives. A study of the haplotype frequencies for *VDR rs10735810*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394* and *VEGFA rs3025039* polymorphic loci and their association with vitamin D deficiency in women with missed abortion.

Methods. A total of 178 women aged 18 to 41 years were examined. The main cohort consisted of MA patients ($n = 101$) who were divided between cohort I ($n = 58$; patients with primary MA) and cohort II ($n = 43$; patients with recurrent MA). The control cohort ($n = 77$) consisted of women with a successful pregnancy (Z34.0) entailing a term and live birth. Genotyping of polymorphic loci *VDR rs10735810*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394* and *VEGFA rs3025039* was performed in 177 patients. Total serum 25(OH) D ($n = 99$) was determined by mass spectrometry. Statistical analysis was carried out using the Statistica v. 10 data analysis software (StatSoft, Russia; TIBCO, USA).

Results. No differences were revealed for the frequencies of studied haplotypes between MA women and those who gave birth to healthy full-term newborns ($p > 0.1$). No association was found between first-trimester MA and the presence of polymorphic loci variants ($p > 0.1$). The GG haplotype of gene *VDR* is even less frequent in recurrent MA patients than in control (14.0% vs. 23.7%; OR = 2.29; 95% CI: 0.738–7.075). The GG haplotype of gene *MTR* has a 2-fold higher frequency in primary MA patients compared to control, albeit at no statistical significance (8.6 vs. 4.0%). Haplotype TT of the gene *VEGF* polymorphism occurs even less frequently in primary MA patients than in control (3.5 vs. 7.9%, respectively). Patients with first-trimester MA exhibited an association between vitamin D deficiency and the frequency of polymorphic variants *VDR* rs10735810 ($p = 0.0304$) and *MTHFR* rs1801133 ($p = 0.0180$). The other studied genes did not reveal such an association.

Conclusion. The study demonstrates a pathogenetic association of polymorphic variants *VDR* rs10735810 and *MTHFR* rs1801133 with missed abortion and vitamin D deficiency.

Keywords: missed abortion, early reproductive loss, *VDR* rs10735810, *MTHFR* rs1801131, *MTHFR* rs1801133, *MTR* rs1805087, *MTRR* rs1801394, *VEGFA* rs3025039, vitamin D.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Ramazanova F.U., Radzinsky V.E., Khamoshina M.B., Azova M.M., Ismailova A. Role of polymorphic loci *VDR* rs10735810, *MTHFR* rs1801131, *MTHFR* rs1801133, *MTR* rs1805087, *MTRR* rs1801394 AND *VEGFA* rs3025039 in missed abortion: A prospective cohort study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2022; 29(3): 46–61. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2022-29-3-46-61>

Received 02.02.2022

Adopted after revision 01.04.2022

Published 28.06.2022

ВВЕДЕНИЕ

В мире до сих пор не существует единой терминологии выкидыша, что, в свою очередь, сильно отражается на статистической оценке распространенности репродуктивных потерь. Согласно определению ВОЗ, выкидыш — изгнание или извлечение плода (эмбриона) весом менее 500 г, что соответствует приблизительно 22 неделям беременности¹ [1]. В Великобритании предел жизнеспособности законодательно установлен до 24 недель беременности. Американское общество репродуктивной медицины (ASRM) определяет выкидыш как клиническую потерю беременности на сроке менее 20 недель беременности [2]. Европейское общество репродукции человека и эмбриологии (ESHRE) определяет выкидыш как прерывание беременности до 22 недель беременности [3]. Выкидыш является частым исходом (12–15%) среди клинически диагностированных беременностей. Согласно данным национальных регистров и когортных исследований населения, риск выкидыша в Швеции, Дании и Финляндии составил от 12,9 до 13,5% [4].

Неразвивающаяся беременность (НБ) входит в структуру репродуктивных потерь и занимает

одну из лидирующих позиций в современном акушерстве и гинекологии. В условиях неблагоприятной демографической ситуации в России и больших потерь желанных беременностей НБ как никогда имеет существенное медико-социальное значение. Известно несколько этиологических факторов НБ, к числу которых относятся генетические и хромосомные аномалии эмбриона, нарушение анатомии половых органов, патологические состояния эндометрия, наследственные тромбофилии, антифосфолипидный синдром и другие² [5].

Распространенность дефицита витамина D является глобальной проблемой общественного здравоохранения для всех людей, особенно для беременных женщин. В зарубежной литературе опубликованы данные обзора, включавшего 13 исследований из семи стран, согласно которым распространенность недостаточности и дефицита 25 (ОН)D колебалась в диапазоне от 39,4 до 76,5%. Наибольшую распространенность дефицита витамина D обнаружили среди женщин Китая (100%), Турции (95,6%), Ирана (89,4%) и Пакистана (89,0%) [6].

Несмотря на то что доказательства существования *VDR* были впервые предоставлены

¹ *Clinical guidelines. Miscarriage (spontaneous abortion)*. Russian Society of Obstetricians and Gynecologists. 2021. 52 p.

² *Recurrent pregnancy loss: causes, controversies, and treatment*/ed. Howard J.A. Carp; per. from English ed. V.E. Radzinsky. Moscow: GEOTAR-Media, 2017. Part 1, 21 p. Part 3, 61 p.

больше чем полвека назад³ [7] и с тех пор получен значительный объем данных о структуре и функциях *VDR*, интерес к нему не утихает и в последние годы пристальное внимание ученых и клиницистов привлекают различные аспекты витамина D. *VDR* представляет собой лиганд-зависимый фактор транскрипции, в основном обнаруживаемый в ядрах клеток, и является геномным функциональным медиатором кальцитриола (1,25 (ОН)₂D₃) [8]. Рецепторы *VDR* и *CYP27B1* (фермент 1 α -гидроксилазы) обнаружены в тканях репродуктивной системы, таких как яичники, эндометрий, гипофиз, гипоталамус и плацента [9]. При связывании витамина D с его рецептором образуется комплекс *VD+VDR*, который, в свою очередь, связывается с комплексом *RXR* (Retinoid X receptor). Образовавшийся гетеродимерный комплекс связывается с элементами ответа витамина D (*VDRE*) в промоторных областях генов, чувствительных к витамину D [10]. В последние годы ген *VDR* является наиболее активно исследуемым геном, картированным на длинном плече 12-й хромосомы (12q13.1) и содержащим 11 экзонов [11]. Ген *VDR* имеет значительное количество полиморфных вариантов, в наше время известны приблизительно 470 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), но наиболее изученными из них являются *FokI* (*rs2228570*), *BsmI* (*rs1544410*), *Apal* (*rs7975232*), *TaqI* (*rs731236*). Известно, что *rs1544410*, *rs7975232*, *rs731236* участвуют в регуляции стабильности мРНК *VDR*, причем первые два локуса расположены в интроне 8, а последний — в экзоне 9 [12]. Значимость полиморфизмов гена *VDR* доказана в патогенезе серьезных осложнений беременности, таких как преждевременные роды, преэклампсия, гестационный сахарный диабет [13–17].

Во время беременности необходима фолиевая кислота, так как она играет решающую роль в синтезе ДНК, РНК и метаболизме аминокислот. Однако она в организме неактивна и должна быть преобразована в активную молекулу 5-метилтетрагидрофолат (5-*MTHF*) — важный субстрат активной фолиевой кислоты в печени, участвующий в дальнейшем во многих метаболических реакциях, включая превращение гомоцистеина в метионин, биосинтез глицина из серина и биосинтез молекул — предшественников ДНК [18]. В метаанализе, включавшем 5888 женщин с повторными репродуктивными потерями, отражены статистически значимые данные о полиморфизме гена *MTHFR* 1298AC (*rs1801131*) с повышенным риском привычного невынашивания беременности (ПНБ) в доминантной (*AA* vs

AC+CC) ($p = 0,000$; OR = 1,58; 95% CI 1,25–1,99), и рецессивной (*AA+ AC versus CC*) ($p = 0,000$; OR = 1,66; 95% CI 1,25–2,20) моделях. Вместе с тем этот полиморфизм является сильным фактором риска ПНБ только для европейской популяции, но не для населения Восточной Азии [19].

Среди стимуляторов ангиогенеза фактор роста эндотелия сосудов (*VEGF*) имеет первостепенное значение. Он стимулирует пролиферацию, дифференцировку, миграцию и выживаемость эндотелиальных клеток. Генное семейство *VEGF* включает *VEGF-A*, *VEGF-B*, *VEGF-C*, *VEGF-D* и плацентарный фактор роста *PlGF*, которые относятся к супергенному семейству *PDGF* [20].

Цель исследования — изучить частоту генотипов по генным полиморфизмам *VDR* *rs10735810*, *MTHFR* *rs1801131*, *MTHFR* *rs1801133*, *MTR* *rs1805087*, *MTRR* *rs1801394*, *VEGFA* *rs3025039* и наличие взаимосвязи данных полиморфных локусов и недостаточности витамина D у пациенток с неразвивающейся беременностью.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В исследование вошли 178 женщин. Основную группу составили пациентки ($n = 101$) с подтвержденной (НБ). Они были разделены на I группу ($n = 58$, пациентки с первой НБ) и II группу ($n = 43$, пациентки с повторными НБ, двумя и более). 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 отвечали критериям включения (Z34.0).

Условия проведения исследования

Исследование выполнено в период 2017–2020 гг. на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» (Медицинский институт ФГАОУ ВО РУДН), в государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая больница им. В.М. Буянова» Департамента здравоохранения г. Москвы, государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая больница № 50 им. С.И. Спасокукоцкого филиал Родильный дом» Департамента здравоохранения г. Москвы и государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Городская клиническая боль-

³ Norman A. W. Vitamin D: *The Calcium Homeostatic Steroid Hormone*. New York: Academic Press, 1979.

ница № 1 им Пирогова филиал Родильный дом» Департамента здравоохранения г. Москвы.

Критерии соответствия

Критерии включения

Основная группа: репродуктивный возраст; верифицированная НБ (O02.0, O02.1), русская национальность, информированное добровольное согласие пациентки.

Контрольная группа: репродуктивный возраст, забор крови на 25-ОН витамин D в сроке 5–12 недель, срочные роды живым плодом с оценкой по шкале Апгар не ниже 8–9 баллов, русская национальность, информированное добровольное согласие пациентки на участие в исследовании.

Критерии невключения

Основная группа: соматические заболевания тяжелой и средней степени в стадии декомпенсации, генетические, анатомические, эндокринные, иммунологические, инфекционные причины НБ, онкологические заболевания, отказ от проведения необходимых лечебно-диагностических мероприятий, прием препаратов или добавок нативного витамина D в течение последних трех месяцев, беременность, наступившая с применением вспомогательных репродуктивных технологий, аборт в анамнезе.

Контрольная группа: соматические заболевания тяжелой и средней степени в стадии декомпенсации, онкологические заболевания, прием препаратов или добавок нативного витамина D в течение последних трех месяцев.

Критерии исключения — отказ от исследования.

Описание критериев соответствия (диагностические критерии)

Основными критериями соответствия проводимого исследования явились акушерско-гинекологический анамнез, репродуктивный возраст и этническая принадлежность, а в основной группе еще и отсутствие известных причин НБ в анамнезе. Для определения соответствия вышеперечисленным критериям всех пациенток анкетировали, производили выкопировку данных из медицинской документации.

Подбор участников в группы

В исследовании приняли участие 178 женщин, удовлетворявших критериям включения, которые поступили в urgentный 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). В контрольную группу вошли беременные женщины в I триместре гестации ($n = 77$).

Целевые показатели исследования

Основной показатель исследования

Исследование частоты встречаемости генотипов генов *VDR rs10735810*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*, *VEGFA rs3025039* в изучаемой когорте и ее взаимосвязь с НБ в первом триместре гестации, а также выявление ассоциации полиморфизмов генов *VDR rs10735810*, *VEGFA rs3025039*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394* и недостаточности витамина D у пациенток с НБ.

Дополнительные показатели исследования

Дополнительные исходы дизайном исследования не предусмотрены и не выявлялись.

Методы измерения целевых показателей

Для анализа полиморфизмов генов *VDR rs10735810*, *MTHFR rs1801131*, *MTHFR rs1801133*, *MTR rs1805087*, *MTRR rs1801394*, *VEGFA rs3025039* геномную ДНК выделяли из цельной крови с помощью набора реагентов «ДНК-ЭКСТРАН-1» («Синтол», РФ) в соответствии с протоколом, полученным от производителя. Полученный раствор ДНК хранили при -20 °C. Генотипирование по изучаемым полиморфным локусам выполняли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием наборов реагентов компании «Синтол» (Россия). 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.

Переменные (предикторы, конфаундеры, модификаторы эффекта)

Для коррекции результатов исследования путем стратификации еще до начала исследования были исключены генетические, анатомические, эндокринные, иммунологические и инфекционные причины НБ.

Статистические процедуры

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Статистические методы

Для создания электронной базы данных и их математической обработки в качестве основного программного обеспечения использовали пакет модулей для обработки данных StatSoft® Inc. (2011), Statistica (dataanalysissoftwaresystem) version 10 (США). Полученные результаты обрабатывали методами математической статистики. Для сравнения двух групп по качественным переменным использовали непараметрический критерий Манна — Уитни (*U*-тест). Сравнение трех групп по качественным переменным для выявления взаимосвязи нескольких факторов (методы множественных попарных сравнений) проводили на основе непараметрического критерия Краскела — Уоллиса. Для оценки различия по группам по бинарным и номинальным показателям использовали критерии χ^2 Пирсона. Для подтверждения статистической однородности или различий дисперсии признаков в сравниваемых группах использовали однофакторный и многофакторный дисперсионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Формирование выборки исследования

Выборка была сформирована согласно репродуктивному возрасту и этнической принадлежности.

Характеристики выборки (групп) исследования

В исследование были включены 178 женщин репродуктивного возраста. Основную группу составили пациентки ($n = 101$) с подтвержденной НБ (УЗИ, ХГЧ) на госпитальном этапе. Они были разделены на I группу ($n = 58$, пациентки с первой НБ) и II группу ($n = 43$, пациентки с повторными НБ, двумя и более). Контрольную группу составили беременные женщины в I триместре ($n = 77$).

Основные результаты исследования

При проведении комплексного анализа частот аллелей и генотипов по полиморфным вариантам гена витамина D *VDR rs10735810*, генов обмена фолиевой кислоты *MTHFR rs1801133*, *MTHFR rs1801131*, *MTRR rs1801394*, *MTR rs1805087* и гена сосудисто-эндотелиального фактора роста *VEGFA rs3025039* у пациенток с НБ и пациенток контрольной группы нами полу-

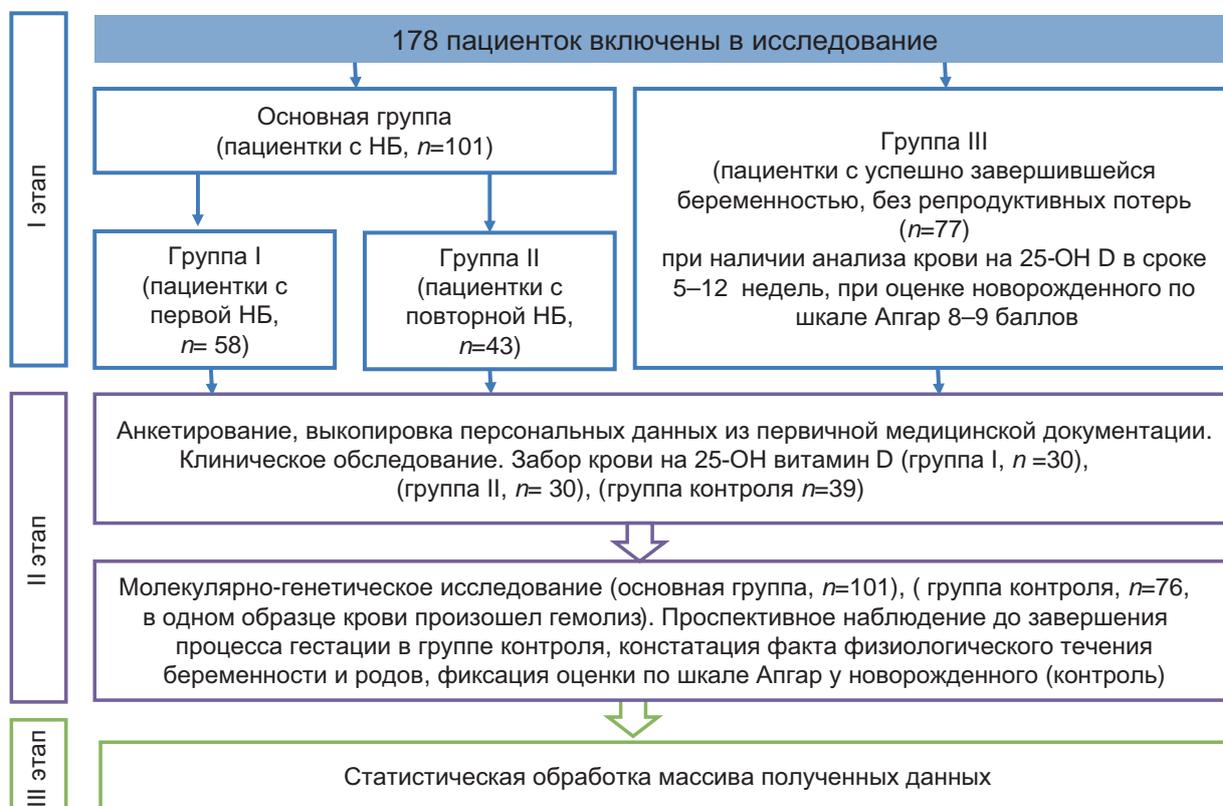


Рис. 1. Блок-схема исследования.
Fig. 1. Study design flowchart.

чены результаты, представленные в таблице 1. Не было обнаружено ассоциации НБ в первом триместре с полиморфизмом гена рецептора витамина D *VDR rs10735810*. В проведенном исследовании не выявлена ассоциация генотипов *CC* и *TT* по полиморфизму *MTHFR rs1801133* (ОШ 1–3 = 1,88, 95% ДИ 0,514–6,870; ОШ 2–3 = 1,09, 95% ДИ 0,288–4,127; ОШ 1–2 = 0,58, 95% ДИ 0,129–2,609) и генотипов *AA* и *CC* по *MTHFR rs1801131* (ОШ 1–3 = 0,58, 95% ДИ 0,213–1,584; ОШ 2–3 = 1,02, 95% ДИ 0,325–3,193; ОШ 1–2 = 1,75, 95% ДИ 0,553–5,559) с НБ. 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*, частота которого также выше среди женщин с первой НБ по сравнению с контролем (19,0% против 13,2%).

С неразвивающейся беременностью также не ассоциированы генотипы по *MTRR rs1801394* (ОШ 1–3 = 0,65, 95% ДИ 0,245–1,707; ОШ 2–3 = 1,35, 95% ДИ 0,477–3,806; ОШ 1–2 = 2,08, 95% ДИ 0,696–6,232). Вместе с тем следует отметить, что гомозиготы *AA* чаще встречаются среди пациенток с повторной НБ по сравнению с одной НБ (27,9 и 19,0% соответственно). При анализе данных по локусу *MTR rs1805087* выявлено, что гомозиготный генотип *GG* чаще встречается в группе I по сравнению с контрольной группой (8,6% против 4,0%), однако различия статистически значимых величин не достигают. Также отсутствует зависимость частоты НБ от полиморфного варианта гена *VEGF [rs3025039]* (ОШ 1–3 = 2,71, 95% ДИ 0,522–14,094; ОШ 2–3 = 1,9, 95% ДИ 0,362–10,000; ОШ 1–2 = 0,7, 95% ДИ 0,094–5,240). Следует отметить, что генотип *TT* чаще встречался в группе контроля по сравнению с первой НБ (7,9 и 3,5% соответственно).

По результатам множественных попарных сравнений изучаемых полиморфизмов генов *VDR*, *MTHFR CT*, *MTR*, *MTRR*, *VEGFA* и недостаточности витамина D у женщин с НБ установлено наличие связи полиморфизма гена *VDR* с дефицитом витамина D и тяжелым лабораторным дефицитом (табл. 2, $p_{1-2} = 0,0304$).

В ходе проведенного исследования не обнаружено взаимосвязи между частотой встречаемости генотипов по локусу *MTHFR rs1801131* и риском развития НБ ($p_{1-2} = 0,7613$, $p_3 = 0,8522$), но обнаружена (табл. 3) ассоциация генотипов по *MTHFR rs1801133* с тяжелым дефицитом витамина D ($p = 0,0180$).

Дополнительные результаты исследования

Дополнительные результаты целью исследования не предусмотрены.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Для пациенток с НБ в первом триместре гестации (независимо от паритета потерь) установлена взаимосвязь с наличием дефицита витамина D и спектром встречаемости полиморфизмов генов *VDR* ($p_{1-2} = 0,0304$) и *MTHFR CT* ($p = 0,0180$). Для других исследованных генов такая связь отсутствует [*VEGFA* ($p = 0,3693$); *MTHFR A-C* ($p = 0,7613$), *MTR* ($p = 0,9575$), *MTRR* ($p = 0,5790$)].

Ограничения исследования

Важным ограничением исследования является небольшой размер выборки и, следовательно, небольшая статистическая мощность. Необходимы дальнейшие крупные исследования по данной проблематике, посвященные выявлению роли нарушений метаболизма витамина D и его генетических детерминант при повторных репродуктивных потерях по триместрам гестации.

Интерпретация результатов исследования

На сегодняшний день опубликованы многочисленные исследования касательно роли витамина D в развитии акушерских осложнений, таких как ПНБ, преждевременные роды, преэклампсия, ГСД, и данные разнятся [21–25]. Однако работ по изучению роли витамина D именно в патогенезе НБ крайне мало [26, 37].

В данном исследовании продемонстрировано отсутствие патогенетической взаимосвязи полиморфизма гена рецептора витамина D (*VDR rs10735810*) и НБ в I триместре гестации. Как видно из таблицы 1, генотип *GG VDR* у пациенток с повторными НБ встречался даже реже в сравнении с контролем (14,0 и 23,7% соответственно, ОШ 1–3 = 1,14, 95% ДИ 0,430–3,039; ОШ 2–3 = 2,29, 95% ДИ 0,738–7,075; ОШ 1–2 = 2,00, 95% ДИ 0,602–6,642). Полученные результаты отличаются от данных исследования, проведенного среди женщин репродуктивного возраста ($n = 110$), в котором изучена встречаемость полиморфизмов гена *VDR* у пациенток с ПНБ в польской популяции. Образцы ДНК были генотипированы по полиморфизмам *VDR: FokI (rs2228570)*, *BsmI (rs1544410)*, *Apal (rs7975232)* и *TaqI (rs731236)*. Выявлены различия между основной и контрольной группами по локусу *VDR BsmI* (*GG* против *GA* и *AA*, $OR = 0,56$, 95% ДИ 0,33–0,97, $p = 0,036$; *GA*, $OR = 1,49$, 95% ДИ 1,03–2,17, $p = 0,035$ соответственно). Тогда как другие полиморфизмы генотипа *VDR* не были статистически значимы у женщин с ПНБ и в случаях репродуктивных

Таблица 1. Встречаемость генотипов и аллелей по полиморфным локусам VDR rs10735810, MTHFR rs1801133, MTHFR rs1801131, MTR rs1801394, MTR rs1805087 и VEGFA rs3025039 в исследуемых группах
Table 1. Incidence of haplotypes and alleles of polymorphic loci VDR rs10735810, MTHFR rs1801133, MTHFR rs1801131, MTR rs1801394, MTR rs1805087 and VEGFA rs3025039 in study cohorts

Полиморфный локус	Генотипы и аллели	I группа, (n = 58)		II группа, (n = 43)		Группа контроля, (n = 76)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
VDR rs10735810	AA	16	27,6	16	37,2	21	27,6	$p_{1-3} = 0,9082$ $p_{2-3} = 0,3500$ $p_{1-2} = 0,4988$
	AG	30	51,7	21	48,8	37	48,7	
	GG	12	20,7	6	14,0	18	23,7	
	A	62	53,4	53	61,6	79	52,0	$p_{1-3} = 0,8107$ $p_{2-3} = 0,1500$ $p_{1-2} = 0,2457$
G	54	46,6	33	38,4	73	48,0		
MTHFR rs1801133	CC	31	53,5	18	41,9	33	43,4	$p_{1-3} = 0,4753$ $p_{2-3} = 0,9504$ $p_{1-2} = 0,5113$
	CT	23	39,7	21	48,8	35	46,1	
	TT	4	6,9	4	9,3	8	10,5	
	C	85	73,3	57	66,3	101	66,4	$p_{1-3} = 0,2294$ $p_{2-3} = 0,9789$ $p_{1-2} = 0,2819$
T	31	26,7	29	33,7	51	33,6		
MTHFR rs1801131	AA	23	39,7	22	52,4	36	47,4	$p_{1-3} = 0,5537$ $p_{2-3} = 0,8037$ $p_{1-2} = 0,4481$
	AC	24	41,4	14	33,3	30	39,5	
	CC	11	19,0	6	14,3	10	13,2	
	A	70	60,3	58	69,0	102	67,1	$p_{1-3} = 0,2528$ $p_{2-3} = 0,7598$ $p_{1-2} = 0,2057$
C	46	39,7	26	31,0	50	32,9		
MTR rs1801394	AA	11	19,0	12	27,9	17	22,4	$p_{1-3} = 0,5660$ $p_{2-3} = 0,7957$ $p_{1-2} = 0,4143$
	AG	26	44,8	20	46,5	38	50,0	
	GG	21	36,2	11	25,6	21	27,6	
	A	48	41,4	44	51,2	72	47,4	$p_{1-3} = 0,3286$ $p_{2-3} = 0,5737$ $p_{1-2} = 0,1674$
G	68	58,6	42	48,8	80	52,6		
MTR rs1805087	AA	35	60,3	22	51,2	48	63,2	$p_{1-3} = 0,5271$ $p_{2-3} = 0,4101$ $p_{1-2} = 0,5312$
	AG	18	31,0	18	41,9	25	32,9	
	GG	5	8,6	3	7,0	3	4,0	
	A	88	75,9	62	72,1	121	79,6	$p_{1-3} = 0,4637$ $p_{2-3} = 0,1866$ $p_{1-2} = 0,5446$
G	28	24,1	24	27,9	31	20,4		
VEGFA rs3025039	CC	47	81,0	33	76,7	52	68,4	$p_{1-3} = 0,2361$ $p_{2-3} = 0,6004$ $p_{1-2} = 0,8661$
	CT	9	15,5	8	18,6	18	23,7	
	TT	2	3,5	2	4,6	6	7,9	
	C	103	88,8	74	86,0	122	80,3	$p_{1-3} = 0,0594$ $p_{2-3} = 0,2609$ $p_{1-2} = 0,5578$
T	13	11,2	12	14,0	30	19,7		

Примечание: p_{1-3} — достоверность различий между 1-й и 3-й группами, p_{1-2} — между 1-й и 2-й группами, p_{2-3} — между 2-й и 3-й группами.

Примечание: p_{1-3} — достоверность различий между 1-й и 3-й группами, p_{1-2} — между 1-й и 2-й группами, p_{2-3} — между 2-й и 3-й группами.

потерь были аналогичны таковым у пациенток в группе контроля [27].

По полученным данным взаимосвязи между НБ и полиморфизмами гена MTHFR не выявлено, что согласуется с результатами исследования Dilley [28], но не соответствуют работам Ni [29] и Wu [30], в которых при привычном невы-

нашивании беременности изучались полиморфизмы MTHFR1298A > C (rs1801131) и 677C > T (rs1801133) и было обнаружено, что они повышают риск ПНБ.

Также не была выявлена взаимосвязь между генотипами по MTR rs1801394 и НБ, тогда как в исследовании Zhang [31] доказана поло-

Таблица 2. Генотипы по полиморфизму VDR rs10735810 и уровень витамина D
Table 2. Haplotypes of VDR rs10735810 polymorphism and vitamin D values

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

Примечание: * различия статистически значимы ($p < 0,05$).
Note: * differences statistically significant ($p < 0.05$).

Таблица 3. Генотипы по полиморфизмам MTHFR rs1801133 и MTHFR rs1801131 и уровень витамина D
Table 3. Haplotypes of MTHFR rs1801133 and MTHFR rs1801131 polymorphisms and vitamin D values

Генотип		Уровень 25 (ОН)D							
		Тяжелый дефицит		Дефицит		Недостаток		Норма	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Пациентки с НБ (n = 60)									
MTHFR rs1801133	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)									
MTHFR rs1801133	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)									
MTHFR rs1801131	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)									
MTHFR rs1801131	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

Примечание: * различия статистически значимы ($p < 0,05$).
Note: * differences statistically significant ($p < 0.05$).

жительная корреляция между данным локусом и невынашиванием беременности (OR = 1,38, 95% CI = 1,10–1,73, $p = 0,006$).

По частоте встречаемости генотипов по MTR rs1805087 также не было различий между пациентками с НБ и группой контроля ($p > 0,05$), однако согласно данным Kwon доказана роль генотипа MTR rs1805087 GG ($p = 0,031$) с исходом гестации в виде преждевременных родов [32].

В ходе комплексного анализа не выявлены различия по встречаемости генотипов по VEGF rs3025039 в исследуемых группах ($p > 0,05$). Полученные данные сопоставимы с результатами исследования Ahmed [33], в котором достоверных различий в распределении генотипов и аллелей полиморфизма VEGFA rs3025039 у 100 женщин с идиопатическим невынашиванием беременности по сравнению с контролем не выявлено.

Однако в исследовании Li [34] доказано что генотипы *VEGF* rs3025039 играют значимую роль в развитии ПНБ ($\chi^2 = 9,7256$, $p = 0,0018$, ОШ = 1,6492, 95 % ДИ = 1,2023–2,2622).

К настоящему времени известны несколько исследований [3, 35], в которых изучалось влияние полиморфизмов гена *VDR* на сывороточный уровень витамина D, однако до сих пор мало что известно о корреляции между полиморфизмами *VDR* и репродуктивными потерями. В результате множественных попарных сравнений полиморфизмов генов *VDR*, *MTHFR* AC, *MTHFR* CT, *MTR*, *MTRR*, *VEGFA* и недостаточности витамина D у женщин с НБ в представленном исследовании установлено, что для пациенток с НБ в первом триместре гестации (независимо от паритета потерь) существует ассоциация между дефицитом витамина D и полиморфизмами генов *VDR* ($p_{1-2} = 0,0304$) и *MTHFR* rs1801133 ($p = 0,0180$). Для других исследованных генов такая связь отсутствует [*VEGFA* ($p = 0,3693$); *MTHFR* rs1801131 ($p = 0,7613$), *MTR* ($p = 0,9575$), *MTRR* ($p = 0,5790$)]. В исследовании Ding-Yuan [36] не было обнаружено статистически значимой корреляции между пятью полиморфизмами гена *VDR* (rs7975232, rs1544410, rs2189480, rs2228570 и rs2239179) и репродуктивными потерями, хоть и была выявлена разница между уровнем витамина D и повторными выкидышами (ОШ 4,282, 95 % ДИ 1,789–10,253, $p = 0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенного исследования показали отсутствие взаимосвязи между НБ в первом триместре и полиморфными локусами *VDR* rs10735810, *MTHFR* rs1801131, *MTHFR* rs1801133, *MTR* rs1805087, *MTRR* rs1801394, *VEGFA* rs3025039. Однако при дальнейшем изучении сывороточного уровня витамина D и генотипов по указанным полиморфизмам выявлены статистически значимые отличия в случае локусов *MTHFR*

rs1801133 и *VDR* rs10735810 ($p < 0,05$). Противоречивость результатов при анализе литературных данных может быть обусловлена как этническими особенностями когорт исследований, так и объемами исследованных выборок. Необходимы дальнейшие рандомизированные контролируемые исследования. Перспективными по данной проблематике 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.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено Этическим комитетом федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» Медицинский институт (ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия), протокол № 27 от 21.12.2017 г. Все лица, вошедшие в исследование, подписали письменное информированное добровольное согласие.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

The study complies with the standards of the Declaration of Helsinki and was approved by the Committee for Ethics of the Institute of Medicine, RUDN University (Miklukho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia), Minutes No. 27 of 21.12.2017. All patients enrolled provided a written informed consent of participation in the study.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии спонсорской помощи при проведении исследования.

FINANCING SOURCE

The authors declare that no sponsorship was received for this study.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Quenby S., Gallos I.D., Dhillon-Smith R.K., Podesek M., Stephenson M.D., Fisher J., Brosens J.J., Brewin J., Ramhorst R., Lucas E.S., McCoy R.C., Anderson R., Daher S., Regan L., Al-Memar M., Bourne T., MacIntyre D.A., Rai R., Christiansen O.B., Sugiura-Ogasawara M., Odendaal J., Devall A.J., Bennett P.R., Petrou S., Coomarasamy A. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss. *Lancet*. 2021; 397(10285): 1658–1667. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00682-6
2. ESHRE Guideline Group on RPL, Bender Atik R., Christiansen O.B., Elson J., Kolte A.M., Lewis S., Middeldorp S., Nelen W., Peramo B., Quenby S., Vermeulen N., Goddijn M. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss. *Hum. Reprod. Open*. 2018; 2018(2): hoy004. DOI: 10.1093/hropen/hoy004
3. Ghosh J., Papadopoulou A., Devall A.J., Jeffery H.C., Beeson L.E., Do V., Price M.J., Tobias A., Tunçalp Ö., Lavelanet A., Gülmezoglu A.M., Coomarasamy A., Gallos I.D. Methods for managing miscarriage: a network meta-analysis. *Cochrane Database. Syst. Rev*. 2021; 6(6): CD012602. DOI: 10.1002/14651858.CD012602.pub2
4. Magnus M.C., Wilcox A.J., Morken N.H., Weinberg C.R., Häberg S.E. Role of maternal age and

- pregnancy history in risk of miscarriage: prospective register based study. *BMJ*. 2019; 364: I869. DOI: 10.1136/bmj.l869
5. Popravka E.S., Dyatlova A.S., Lin'kova N.S., Krylova Y.S., Polyakova V.O., Kvetnoi I.M. Role of LIF Cytokine and CD34 Angiogenesis Marker in Non-Developing Pregnancy. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2017; 163(6): 772–776. DOI: 10.1007/s10517-017-3900-1
 6. van der Pligt P., Willcox J., Szymlek-Gay E.A., Murray E., Worsley A., Daly R.M. Associations of Maternal Vitamin D Deficiency with Pregnancy and Neonatal Complications in Developing Countries: A Systematic Review. *Nutrients*. 2018; 10(5): 640. DOI: 10.3390/nu10050640
 7. Daryanto B., Purnomo B.B., Gunawan A., Mayasari E.D., Kusumaningrum A.G., Tamara F., Hutama S.A., Fajar J. The association between vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of nephrolithiasis: A meta-analysis. *Meta Gene*. 2020; 23: 100628. DOI: 10.1016/j.mgene.2019.100628
 8. Isbilen, E., Ulusal, H., Karaer, K., Kul, S., Yaman, D.M., Tepe, N.B., Kanbur, H.C., Tarakcioglu, M., Ozyurt, A.B. VDR gene polymorphisms as a significant factor in unexplained infertility. *Gene Reports*. 2020; 21: 100962. DOI: 10.1016/j.genrep.2020.100962
 9. Рамазанова Ф.У., Хамошина М.Б., Гигани О.О., Туплова М.С. Витамин D и его рецепторы в патогенезе акушерских осложнений: современный взгляд на проблему. *Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение*. 2020; 3(29): 75–80. DOI: 10.24411/2303-9698-2020-13011
 10. Taymans S.E., Pack S., Pak E., Orban Z., Barsony J., Zhuang Z., Stratakis C.A. The human vitamin D receptor gene (VDR) is localized to region 12cen-q12 by fluorescent in situ hybridization and radiation hybrid mapping: genetic and physical VDR map. *J. Bone Miner. Res.* 1999; 14(7): 1163–1166. DOI: 10.1359/jbmr.1999.14.7.1163
 11. Uitterlinden A.G., Fang Y., Van Meurs J.B., Pols H.A., Van Leeuwen J.P. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*. 2004; 338(2): 143–156. DOI: 10.1016/j.gene.2004.05.014
 12. Rosenfeld T., Salem H., Altarescu G., Grisaru-Granovsky S., Tevet A., Birk R. Maternal-fetal vitamin D receptor polymorphisms significantly associated with preterm birth. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017; 296(2): 215–222. DOI: 10.1007/s00404-017-4412-y
 13. Javorski N., Lima C.A.D., Silva L.V.C., Crovella S., de Azêvedo Silva J. Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms are associated to spontaneous preterm birth and maternal aspects. *Gene*. 2018; 642: 58–63. DOI: 10.1016/j.gene.2017.10.087
 14. Rezavand N., Tabarok S., Rahimi Z., Vaisi-Raygani A., Mohammadi E., Rahimi Z. The effect of VDR gene polymorphisms and vitamin D level on blood pressure, risk of preeclampsia, gestational age, and body mass index. *J. Cell Biochem.* 2019; 120(4): 6441–6448. DOI: 10.1002/jcb.27934
 15. Farajian-Mashhadi F., Eskandari F., Rezaei M., Eskandari F., Najafi D., Teimoori B., Moradi-Sharbak M., Salimi S. The possible role of maternal and placental vitamin D receptor polymorphisms and haplotypes in pathogenesis of preeclampsia. *Clin. Exp. Hypertens.* 2020; 42(2): 171–176. DOI: 10.1080/10641963.2019.1601203
 16. Siqueira T.W., Araujo Júnior E., Mattar R., Daher S. Assessment of Polymorphism of the VDR Gene and Serum Vitamin D Values in Gestational Diabetes Mellitus. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2019; 41(7): 425–431. DOI: 10.1055/s-0039-1693678
 17. Ferrazzi E., Tiso G., Di Martino D. Folic acid versus 5-methyl tetrahydrofolate supplementation in pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2020; 253: 312–319. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2020.06.012
 18. Mehta P., Vishvkarma R., Singh K., Rajender S. MTHFR 1298A>C Substitution is a Strong Candidate for Analysis in Recurrent Pregnancy Loss: Evidence from 14,289 Subjects. *Reprod. Sci.* 2022; 29(4): 1039–1053. DOI: 10.1007/s43032-021-00530-5
 19. Guo X., Yi H., Li T.C., Wang Y., Wang H., Chen X. Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Human Embryo Implantation: Clinical Implications. *Biomolecules*. 2021; 11(2): 253. DOI: 10.3390/biom11020253
 20. Liu D.Y., Li R.Y., Fu L.J., Adu-Gyamfi E.A., Yang Y., Xu Y., Zhao L.T., Zhang T.F., Bao H.Q., Xu X.O., Gao X.H., Yang X.N., Ding Y.B. SNP rs12794714 of CYP2R1 is associated with serum vitamin D levels and recurrent spontaneous abortion (RSA): a case-control study. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2021; 304(1): 179–190. DOI: 10.1007/s00404-021-06004-y
 21. Wang S., Xin X., Luo W., Mo M., Si S., Shao B., Shen Y., Cheng H., Yu Y. Association of vitamin D and gene variants in the vitamin D metabolic pathway with preterm birth. *Nutrition*. 2021; 89: 111349. DOI: 10.1016/j.nut.2021.111349
 22. Magiełda-Stola J., Kurzawińska G., Ożarowski M., Karpiński T.M., Drews K., Seremak-Mrozikiewicz A. The Significance of VDR Genetic Polymorphisms in the Etiology of Preeclampsia in Pregnant Polish Women. *Diagnostics (Basel)*. 2021; 11(9): 1698. DOI: 10.3390/diagnostics11091698
 23. Liu J., Dai Q., Li W., Guo Y., Dai A., Wang Y., Deng M., Tang Z., She L., Chen X., Yang M. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with gestational diabetes mellitus—a case control study in Wuhan, China. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2021; 21(1): 142. DOI: 10.1186/s12884-021-03621-y
 24. Zhou Q., Wen S., Liu M., Zhang S., Jin X., Liu A. Association between Gene Polymorphisms of Vitamin D Receptor and Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 18(1): 205. DOI: 10.3390/ijerph18010205
 25. Siqueira T.W., Araujo Júnior E., Mattar R., Daher S. Assessment of Polymorphism of the VDR Gene and Serum Vitamin D Values in Gestational Diabetes Mel-

- litus. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2019; 41(7): 425–431. DOI: 10.1055/s-0039-1693678
26. Radzinsky V.E., Ramazanova F.U., Khamoshina M.B., Azova M.M., Orazov M.R., Orazmuradov A.A. Vitamin D insufficiency as a risk factor for reproductive losses in miscarriage. *Gynecol. Endocrinol.* 2021; 37(sup1): 8–12. DOI: 10.1080/09513590.2021.2006451
27. Wolski H., Kurzawińska G., Ożarowski M., Mrozikiewicz A.E., Drews K., Karpiński T.M., Bogacz A., Seremak-Mrozikiewicz A. Vitamin D receptor gene polymorphisms and haplotypes in the etiology of recurrent miscarriages. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 4646. DOI: 10.1038/s41598-021-84317-3
28. Dilley A., Benito C., Hooper W.C., Austin H., Miller C., El-Jamil M., Cottrell S., Benson J., Evatt B.L., Patterson-Barnett A., Eller D., Philipp C. Mutations in the factor V, prothrombin and MTHFR genes are not risk factors for recurrent fetal loss. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2002; 11(3): 176–182. DOI: 10.1080/jmf.11.3.176.182
29. Ni W., Li H., Wu A., Zhang P., Yang H., Yang X., Huang X., Jiang L. Lack of association between genetic polymorphisms in three folate-related enzyme genes and male infertility in the Chinese population. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015; 32(3): 369–374. DOI: 10.1007/s10815-014-0423-9
30. Wu X., Yang K., Tang X., Sa Y., Zhou R., Liu J., Luo Y., Tang W. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015; 32(5): 797–805. DOI: 10.1007/s10815-014-0408-8
31. Zhang Y., Zhan W., Du Q., Wu L., Ding H., Liu F., Yin A. Variants c.677 C>T, c.1298A>C in MTHFR, and c.66A>G in MTRR Affect the Occurrence of Recurrent Pregnancy Loss in Chinese Women. *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* 2020; 24(11): 717–722. DOI: 10.1089/gtmb.2020.0106
32. Kwon B.N., Lee N.R., Kim H.J., Kang Y.D., Kim J.S., Park J.W., Jin H.J. Folate metabolizing gene polymorphisms and genetic vulnerability to preterm birth in Korean women. *Genes Genomics.* 2021; 43(8): 937–945. DOI: 10.1007/s13258-021-01082-3
33. Ahmed A.A.M., Azova M.M. Association of VEGFA, factor V and prothrombin gene polymorphisms with early pregnancy loss. *Research Results in Biomedicine.* 2021; 7(2): 111–116. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-2-0-1
34. Li L., Donghong L., Shuguang W., Hongbo Z., Jing Z., Shengbin L. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene associated with recurrent spontaneous miscarriage. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2013; 26(7): 686–690. DOI: 10.3109/14767058.2012.746305
35. Rahmadhani R., Zaharan N.L., Mohamed Z., Moy F.M., Jalaludin M.Y. The associations between VDR BsmI polymorphisms and risk of vitamin D deficiency, obesity and insulin resistance in adolescents residing in a tropical country. *PLoS One.* 2017; 12(6): e0178695. DOI: 10.1371/journal.pone.0178695
36. Liu D.Y., Li R.Y., Fu L.J., Adu-Gyamfi E.A., Yang Y., Xu Y., Zhao L.T., Zhang T.F., Bao H.Q., Xu X.O., Gao X.H., Yang X.N., Ding Y.B. SNP rs12794714 of CYP2R1 is associated with serum vitamin D levels and recurrent spontaneous abortion (RSA): a case-control study. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2021; 304(1): 179–190. DOI: 10.1007/s00404-021-06004-y
37. Енькова Е.В., Атякшин Д.А., Гайская О.В., Хоперская О.В. Оценка популяции тучных клеток децидуальной ткани и статуса витамина D у женщин с неразвивающейся беременностью в эмбриональном периоде. *Вестник новых медицинских технологий.* 2018; 25 (3): 21–27. DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16141

REFERENCES

1. Quenby S., Gallos I.D., Dhillon-Smith R.K., Podesek M., Stephenson M.D., Fisher J., Brosens J.J., Brewin J., Ramhorst R., Lucas E.S., McCoy R.C., Anderson R., Daher S., Regan L., Al-Memar M., Bourne T., MacIntyre D.A., Rai R., Christiansen O.B., Sugiura-Ogasawara M., Odendaal J., Devall A.J., Bennett P.R., Petrou S., Coomarasamy A. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss. *Lancet.* 2021; 397(10285): 1658–1667. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00682-6
2. ESHRE Guideline Group on RPL, Bender Atik R., Christiansen O.B., Elson J., Kolte A.M., Lewis S., Middeldorp S., Nelen W., Peramo B., Quenby S., Vermeulen N., Goddijn M. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss. *Hum. Reprod. Open.* 2018; 2018(2): hoy004. DOI: 10.1093/hropen/hoy004
3. Ghosh J., Papadopoulou A., Devall A.J., Jeffery H.C., Beeson L.E., Do V., Price M.J., Tobias A., Tunçalp Ö., Lavelanet A., Gülmezoglu A.M., Coomarasamy A., Gallos I.D. Methods for managing miscarriage: a network meta-analysis. *Cochrane Database. Syst. Rev.* 2021; 6(6): CD012602. DOI: 10.1002/14651858.CD012602.pub2
4. Magnus M.C., Wilcox A.J., Morken N.H., Weinberg C.R., Häberg S.E. Role of maternal age and pregnancy history in risk of miscarriage: prospective register based study. *BMJ.* 2019; 364: l869. DOI: 10.1136/bmj.l869
5. Popravka E.S., Dyatlova A.S., Lin'kova N.S., Krylova Y.S., Polyakova V.O., Kvetnoi I.M. Role of LIF Cytokine and CD34 Angiogenesis Marker in Non-Developing Pregnancy. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2017; 163(6): 772–776. DOI: 10.1007/s10517-017-3900-1
6. van der Pligt P., Willcox J., Szymlek-Gay E.A., Murray E., Worsley A., Daly R.M. Associations of Maternal Vitamin D Deficiency with Pregnancy and Neonatal Complications in Developing Countries: A Systematic Review. *Nutrients.* 2018; 10(5): 640. DOI: 10.3390/nu10050640

7. Daryanto B., Purnomo B.B., Gunawan A., Mayasari E.D., Kusumaningrum A.G., Tamara F., Hutama S.A., Fajar J. The association between vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of nephrolithiasis: A meta-analysis. *Meta Gene*. 2020; 23: 100628. DOI: 10.1016/j.mgene.2019.100628
8. Isbilen, E., Ulusal, H., Karaer, K., Kul, S., Yaman, D.M., Tepe, N.B., Kanbur, H.C., Tarakcioglu, M., Ozyurt, A.B. VDR gene polymorphisms as a significant factor in unexplained infertility. *Gene Reports*. 2020; 21: 100962. DOI: 10.1016/j.genrep.2020.100962
9. Ramazanov F.U., Khamoshina M.B., Gigani O.O., Tulupova M.S. Vitamin D and its receptors in the pathogenesis of obstetric complications: a modern view of the problem. *Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training*. 2020; 8 (3): 75–80 (In Russ., English abstract). DOI: 10.24411/2303-9698-2020-13011
10. Taymans S.E., Pack S., Pak E., Orban Z., Barsony J., Zhuang Z., Stratakis C.A. The human vitamin D receptor gene (VDR) is localized to region 12cen-q12 by fluorescent in situ hybridization and radiation hybrid mapping: genetic and physical VDR map. *J. Bone Miner. Res.* 1999; 14(7): 1163–1166. DOI: 10.1359/jbmr.1999.14.7.1163
11. Uitterlinden A.G., Fang Y., Van Meurs J.B., Pols H.A., Van Leeuwen J.P. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*. 2004; 338(2): 143–156. DOI: 10.1016/j.gene.2004.05.014
12. Rosenfeld T., Salem H., Altarescu G., Grisaru-Granovsky S., Tevet A., Birk R. Maternal-fetal vitamin D receptor polymorphisms significantly associated with preterm birth. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017; 296(2): 215–222. DOI: 10.1007/s00404-017-4412-y
13. Javorski N., Lima C.A.D., Silva L.V.C., Crovella S., de Azêvedo Silva J. Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms are associated to spontaneous preterm birth and maternal aspects. *Gene*. 2018; 642: 58–63. DOI: 10.1016/j.gene.2017.10.087
14. Rezavand N., Tabarok S., Rahimi Z., Vaisi-Raygani A., Mohammadi E., Rahimi Z. The effect of VDR gene polymorphisms and vitamin D level on blood pressure, risk of preeclampsia, gestational age, and body mass index. *J. Cell Biochem.* 2019; 120(4): 6441–6448. DOI: 10.1002/jcb.27934
15. Farajian-Mashhadi F., Eskandari F., Rezaei M., Eskandari F., Najafi D., Teimoori B., Moradi-Sharbabak M., Salimi S. The possible role of maternal and placental vitamin D receptor polymorphisms and haplotypes in pathogenesis of preeclampsia. *Clin. Exp. Hypertens.* 2020; 42(2): 171–176. DOI: 10.1080/10641963.2019.1601203
16. Siqueira T.W., Araujo Júnior E., Mattar R., Daher S. Assessment of Polymorphism of the VDR Gene and Serum Vitamin D Values in Gestational Diabetes Mellitus. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2019; 41(7): 425–431. DOI: 10.1055/s-0039-1693678
17. Ferrazzi E., Tiso G., Di Martino D. Folic acid versus 5-methyl tetrahydrofolate supplementation in pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2020; 253: 312–319. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2020.06.012
18. Mehta P., Vishvkarma R., Singh K., Rajender S. MTHFR 1298A>C Substitution is a Strong Candidate for Analysis in Recurrent Pregnancy Loss: Evidence from 14,289 Subjects. *Reprod. Sci.* 2022; 29(4): 1039–1053. DOI: 10.1007/s43032-021-00530-5
19. Guo X., Yi H., Li T.C., Wang Y., Wang H., Chen X. Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Human Embryo Implantation: Clinical Implications. *Biomolecules*. 2021; 11(2): 253. DOI: 10.3390/biom11020253
20. Liu D.Y., Li R.Y., Fu L.J., Adu-Gyamfi E.A., Yang Y., Xu Y., Zhao L.T., Zhang T.F., Bao H.Q., Xu X.O., Gao X.H., Yang X.N., Ding Y.B. SNP rs12794714 of CYP2R1 is associated with serum vitamin D levels and recurrent spontaneous abortion (RSA): a case-control study. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2021; 304(1): 179–190. DOI: 10.1007/s00404-021-06004-y
21. Wang S., Xin X., Luo W., Mo M., Si S., Shao B., Shen Y., Cheng H., Yu Y. Association of vitamin D and gene variants in the vitamin D metabolic pathway with preterm birth. *Nutrition*. 2021; 89: 111349. DOI: 10.1016/j.nut.2021.111349
22. Magiełda-Stola J., Kurzawińska G., Ożarowski M., Karpiński T.M., Drews K., Seremak-Mrozikiewicz A. The Significance of VDR Genetic Polymorphisms in the Etiology of Preeclampsia in Pregnant Polish Women. *Diagnostics (Basel)*. 2021; 11(9): 1698. DOI: 10.3390/diagnostics11091698
23. Liu J., Dai Q., Li W., Guo Y., Dai A., Wang Y., Deng M., Tang Z., She L., Chen X., Yang M. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with gestational diabetes mellitus—a case control study in Wuhan, China. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2021; 21(1): 142. DOI: 10.1186/s12884-021-03621-y
24. Zhou Q., Wen S., Liu M., Zhang S., Jin X., Liu A. Association between Gene Polymorphisms of Vitamin D Receptor and Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 18(1): 205. DOI: 10.3390/ijerph18010205
25. Siqueira T.W., Araujo Júnior E., Mattar R., Daher S. Assessment of Polymorphism of the VDR Gene and Serum Vitamin D Values in Gestational Diabetes Mellitus. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2019; 41(7): 425–431. DOI: 10.1055/s-0039-1693678
26. Radzinsky V.E., Ramazanov F.U., Khamoshina M.B., Azova M.M., Orazov M.R., Orazmuradov A.A. Vitamin D insufficiency as a risk factor for reproductive losses in miscarriage. *Gynecol. Endocrinol.* 2021; 37(sup1): 8–12. DOI: 10.1080/09513590.2021.2006451
27. Wolski H., Kurzawińska G., Ożarowski M., Mrozikiewicz A.E., Drews K., Karpiński T.M., Bogacz A., Seremak-Mrozikiewicz A. Vitamin D receptor gene polymorphisms and haplotypes in the etiology of recurrent miscarriages. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 4646. DOI: 10.1038/s41598-021-84317-3

28. Dilley A., Benito C., Hooper W.C., Austin H., Miller C., El-Jamil M., Cottrell S., Benson J., Evatt B.L., Patterson-Barnett A., Eller D., Philipp C. Mutations in the factor V, prothrombin and MTHFR genes are not risk factors for recurrent fetal loss. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2002; 11(3): 176–182. DOI: 10.1080/jmf.11.3.176.182
29. Ni W., Li H., Wu A., Zhang P., Yang H., Yang X., Huang X., Jiang L. Lack of association between genetic polymorphisms in three folate-related enzyme genes and male infertility in the Chinese population. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015; 32(3): 369–374. DOI: 10.1007/s10815-014-0423-9
30. Wu X., Yang K., Tang X., Sa Y., Zhou R., Liu J., Luo Y., Tang W. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015; 32(5): 797–805. DOI: 10.1007/s10815-014-0408-8
31. Zhang Y., Zhan W., Du Q., Wu L., Ding H., Liu F., Yin A. Variants c.677 C>T, c.1298A>C in MTHFR, and c.66A>G in MTRR Affect the Occurrence of Recurrent Pregnancy Loss in Chinese Women. *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* 2020; 24(11): 717–722. DOI: 10.1089/gtmb.2020.0106
32. Kwon B.N., Lee N.R., Kim H.J., Kang Y.D., Kim J.S., Park J.W., Jin H.J. Folate metabolizing gene polymorphisms and genetic vulnerability to preterm birth in Korean women. *Genes Genomics.* 2021; 43(8): 937–945. DOI: 10.1007/s13258-021-01082-3
33. Ahmed A.A.M., Azova M.M. Association of VEGFA, factor V and prothrombin gene polymorphisms with early pregnancy loss. *Research Results in Biomedicine.* 2021; 7(2): 111–116. DOI: 10.18413/2658-6533-2021-7-2-0-1
34. Li L., Donghong L., Shuguang W., Hongbo Z., Jing Z., Shengbin L. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene associated with recurrent spontaneous miscarriage. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2013; 26(7): 686–690. DOI: 10.3109/14767058.2012.746305
35. Rahmadhani R., Zaharan N.L., Mohamed Z., Moy F.M., Jalaludin M.Y. The associations between VDR BsmI polymorphisms and risk of vitamin D deficiency, obesity and insulin resistance in adolescents residing in a tropical country. *PLoS One.* 2017; 12(6): e0178695. DOI: 10.1371/journal.pone.0178695
36. Liu D.Y., Li R.Y., Fu L.J., Adu-Gyamfi E.A., Yang Y., Xu Y., Zhao L.T., Zhang T.F., Bao H.Q., Xu X.O., Gao X.H., Yang X.N., Ding Y.B. SNP rs12794714 of CYP2R1 is associated with serum vitamin D levels and recurrent spontaneous abortion (RSA): a case-control study. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2021; 304(1): 179–190. DOI: 10.1007/s00404-021-06004-y
37. Enkova E.V., Atiakshin D.A., Gaiskaya O.V., Hoper-skaya O.V.. Evaluation of the population of the mast cells of the decidual tissue and the status of vitamin d in women with undeveloped pregnancy in the embryonic period. *Journal of new medical technologies.* 2018; 25 (3): 21–27. (In Russ., English abstract). DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16141

ВКЛАД АВТОРОВ

Рамазанова Ф.У.

Разработка концепции — формирование идеи, формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Проведение статистического анализа — применение статистических, математических и вычислительных методов.

Радзинский В.Е.

Разработка концепции — формирование идеи, формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценных замечаний интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все виды работ, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Хамошина М.Б.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценных замечаний интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все виды работ, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Азова М.М.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценных замечаний интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все виды работ, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление реагентов.

Исмаилова А.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценных замечаний интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все виды работ, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Ramazanov F.U.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript; contribution to the scientific layout.

Approval of the final manuscript — acceptance of responsibility for all aspects of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

Statistical analysis — application of statistical, mathematical and computational methods.

Radzinsky V.E.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — critical revision of the manuscript draft with a valuable intellectual investment.

Approval of the final manuscript — acceptance of responsibility for all types of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

Khamoshina M.B.

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — data interpretation.

Text preparation and editing — critical revision of the manuscript draft with a valuable intellectual investment.

Approval of the final manuscript — acceptance of responsibility for all types of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

Azova M.M.

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — data interpretation.

Text preparation and editing — critical revision of the manuscript draft with a valuable intellectual investment.

Approval of the final manuscript — acceptance of responsibility for all types of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of research — provision of reagents.

Ismailova A.

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis.

Text preparation and editing — critical revision of the manuscript draft with a valuable intellectual investment.

Approval of the final manuscript — acceptance of responsibility for all types of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Рамазанова Фатима Умаровна* — аспирант кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов».

<https://orcid.org/0000-0002-4574-3874>

Контактная информация: e-mail: fatimasiren@yandex.ru; тел.: +7 (925) 417-98-23;

ул. Миклухо-Маклая, д. 6, г. Москва, 117198, Россия.

Fatima U. Ramazanov* — postgraduate student, Chair of Obstetrics and Gynaecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University.

<https://orcid.org/0000-0002-4574-3874>

Contact information: e-mail: fatimasiren@yandex.ru; tel.: +7 (925) 417-98-23;

Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, 117198, Russia.

Радзинский Виктор Евсеевич — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов».

<https://orcid.org/0000-0003-4956-0466>

Хамошина Марина Борисовна — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов».

<https://orcid.org/0000-0003-1940-4534>

Азова Мадина Мухамедовна — доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологии и общей генетики Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов».

<https://orcid.org/0000-0002-7290-1196>

Исмаилова Аннагуль — аспирант кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов».

<https://orcid.org/0000-0001-6149-7127>

Viktor E. Radzinsky — Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Honoured Worker of Science of the Russian Federation, Head of the Chair of Obstetrics and Gynaecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University.

<https://orcid.org/0000-0003-4956-0466>

Marina B. Khamoshina — Dr. Sci. (Med.), Prof., Chair of Obstetrics and Gynaecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University.

<https://orcid.org/0000-0003-1940-4534>

Madina M. Azova — Dr. Sci. (Biol.), Prof., Head of the Chair of Biology and General Genetics, Institute of Medicine, RUDN University.

<https://orcid.org/0000-0002-7290-1196>

Annagul Ismailova — postgraduate student, Chair of Obstetrics and Gynaecology with course of perinatology, Institute of Medicine, RUDN University.

<https://orcid.org/0000-0001-6149-7127>

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author