

Влияние экспрессии рецепторов витамина D на клинические исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск

Chuhnina E.G., Voropaeva E.E., Kazachkov E.L., Kazachkova E.A.

Influence of vitamin D receptors expression on clinical outcomes of assisted reproductive technology programs

Резюме

Цель исследования – оценить исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (BPT) у женщин старшего репродуктивного возраста с трубным фактором бесплодием в зависимости от экспрессии рецепторов витамина D (VDR) в железах и строме эндометрия. Материалы и методы. Контингент исследования: 68 женщин старшего репродуктивного возраста (36-44 года) с трубно-перитонеальным бесплодием, проходившие лечение методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и ЭКО/ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция (перенос) сперматозоида в яйцеклетку) с использованием собственных ооцитов в «свежих» циклах и криопротоколах. Сформированы группы в зависимости от исходов программ ЭКО и ЭКО/ИКСИ: I – с наступлением беременности (n=18), II – отрицательными исходами программ BPT (n=50). Частота наступления беременности (ЧНБ) составила 26,5% на перенос. Результаты исследований: выявлена статистически значимая корреляция экспрессии VDR в строме и железах эндометрия с исходами программ BPT. Определены референсные значения экспрессии VDR рецепторов в строме эндометрия в «окно имплантации» при трубно-перитонеальном факторе бесплодия у женщин старшего репродуктивного возраста, благоприятные для имплантации эмбриона. Заключение: результаты исследования позволяют расширить спектр маркеров рецептивности эндометрия при бесплодии трубного генеза женщин старшего репродуктивного возраста, открывают перспективы для разработки дополнительных подходов к подготовке эндометрия к имплантации бластоцисты

Ключевые слова: бесплодие, ЭКО и ЭКО-ИКСИ, вспомогательные репродуктивные технологии, BPT, VDR, имплантация, эндометрий, рецептивность

Для цитирования: Чухнина Е.Г., Воропаева Е.Е., Казачков Е.Л., Казачкова Э.А. Влияние экспрессии рецепторов витамина D на клинические исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий, Уральский медицинский журнал, №06 (189) 2020, с. 63 - 68, DOI 10.25694/URMJ.2020.06.15

Summary

Purpose of research. To evaluate the outcomes of assisted reproductive technology (ART) programs in older reproductive age women with tubal infertility, depending on the expression of vitamin D receptors (VDR) in the glands and endometrium stroma. Materials and methods. Study Groups 68 women of older reproductive age (36-44 years) with tubal-peritoneal infertility who were treated by in vitro fertilization (IVF) and IVF/ICSI (intracytoplasmic injection (transfer) of sperm into the egg) using their own oocytes in "fresh" cycles and cryoprotocols. Groups were formed depending on the outcomes of IVF and IVF/ICSI programs: I – with the onset of pregnancy (n=18), II – with negative outcomes of art programs (n=50). The incidence of pregnancy (CNB) was 26.5% per transfer. Results: We found out statistically significant correlation of VDR expression in the stroma and endometrial glands with the outcomes of art programs. Were determined reference values of VDR receptor expression in the endometrial stroma in the "implantation window" for tubal-peritoneal infertility in women of older reproductive age, favorable for embryo implantation. Conclusion: the results of the study allow us to expand the range of endometrial receptivity markers in infertility of tubal origin in women of older reproductive age and give possibilities for developing approaches to pathogenetic preparation of the endometrium for blastocyst implantation

Key words: infertility, IVF and IVF-ICSI, assisted reproductive technology programs, ART, VDR, implantation, endometrium, receptivity

For citation: Chuhnnina E.G., Voropaeva E.E., Kazachkov E.L., Kazachkova E.A., Influence of vitamin D receptors expression on clinical outcomes of assisted reproductive technology programs, Ural Medical Journal, No. 06 (189) 2020, p. 63 - 68, DOI 10.25694/URMJ.2020.06.15

Введение

Роль витамина D в поддержании гомеостаза фосфора и кальция, регуляции процессов остеогенеза, иммунного ответа и многих биологических процессов в организме общеизвестна [1]. Однако, стероидогенное влияние активной формы 1,25 (ОН)2D и участие в модуляции клеточной пролиферации, дифференцировке и апоптозе клеток органов репродуктивной системы доказано относительно недавно [2,3].

Витамин D, абсорбируемый из пищи и синтезируемый под воздействием солнечного света через кожу, метаболизируется 25-гидроксилазой печени в 25-гидроксивитамин D (25(ОН)D). Фермент CYP27B1 в почках гидроксилирует 25 (ОН)D, превращая его в биологически активную форму молекулы, 1,25-дигидроксивитамин D (1,25 (ОН)2D). Обнаруженная внепочечная экспрессия мРНК CYP27B1 и ее белка в эндометрии человека свидетельствует о влиянии витамина D на функцию эндометрия [4].

Активная форма витамина D, 1,25-дигидроксивитамин D3(1,25-(ОН)2D3) определяет выраженность иммунных и гормонально-опосредованных реакций, в том числе репродуктивной системы женщины [5,6].

Рецепторы витамина D обнаружены в яичниках, миометрии, эндометрии, что не исключает их важную роль в рецептивности последнего [7,8].

VDR относится к группе ядерных рецепторов, обеспечивающих разнообразные биологические воздействия 1,25 (ОН)2D и родственных соединений. Регуляцию экспрессии VDR в тканях связывают с совокупным влиянием генетических и эпигенетических факторов [9,10]. Геномные эффекты 1,25 (ОН)2D реализуются путем образования комплекса с ядерным рецептором витамина D в цитоплазме, который транспортируется в ядро и действует как лиганд-зависимый фактор транскрипции для регуляции целевых генов. Негеномное воздействие витамина осуществляется при связывании с мембранными рецепторами клетки [11].

Экспрессия VDR в эндометрии предполагает функциональную роль системы витамин D-VDR в рецепции матки [12-16]. Витамин D, по своей природе стероидный гормон с прогестерон-подобной деятельностью, может играть роль в развитии эндометрия в менструальном цикле [17-20]. Исследования системы витамина D-VDR в типичном циклическом эндометрии и при патологических состояниях у женщин немногочисленны и противоречивы [21-24]. Ряд исследований последних лет продемонстрировал влияние витамина D на процесс имплантации [25-28]. Результаты исследований, оценивающих влияние системы витамина D-VDR на исходы программ ЭКО не менее спорны [29,30] и побуждают к дальнейшему поиску корреляционных связей экспрессии VDR в эндометрии с исходами программ ВРТ, рецептивностью эндометрия.

Цель исследования: оценить влияние уровней экс-

прессии VDR в железах и строме эндометрия у женщин старшего репродуктивного возраста с трубным фактором бесплодием на исходы программ ВРТ.

Материалы и методы

В проспективное когортное исследование были включены 68 пациенток старшего репродуктивного возраста 36-44 лет с трубно-перитонеальным фактором бесплодия, проходившие процедуру ЭКО, ЭКО/ИКСИ в центре ООО «Центр акушерства и гинекологии №1», с использованием собственных ооцитов в «свежих» циклах и криопотоколах (при отсроченном переносе эмбрионов, например, по причине предимплантационной генетической диагностики).

Критериями включения: возраст 36-44 года, трубный фактор бесплодия, нормозооспермия или незначительная патозооспермия (мужа или донора), использование собственных ооцитов.

Критерии исключения: донорство ооцитов, аденомиоз, миомы тела матки более 3 см, СПКЯ, выраженная патозооспермия, ВИЧ инфекция, гепатиты В и С.

Пациентки были стратифицированы по группам: I – с наступлением беременности (n=18), II – с отрицательными исходами в программах ВРТ (n=50).

В период предполагаемого окна имплантации (на 17-23 день менструального цикла) осуществляли забор эндометрия методом пайпель-биопсии в цикле, предшествующем проведению ЭКО. Полученные образцы эндометрия обрабатывали по стандартной методике с получением парафиновых блоков. Для дальнейшего исследования применяли депарафинированные и дегидратированные срезы толщиной 5 мкм с использованием авидин-биотинового иммунопероксидазного метода. Иммуногистохимическое исследование биоптатов эндометрия проводили с применением стандартных наборов поликлональных антител фирмы GeneTex, США (кроличьи поликлональные антитела Vitamin D receptor).

Для визуализации первичных антител применяли систему детекции N-Histofine DAB (nichirei biosciences ins. Japan), микроскоп Primo Star производство Karl Zeiss при диапазоне рабочих увеличений 200-400. Фотографирование производили с помощью цветной камеры Pixera Pro 150ES (переходник 0,5x). Морфофункциональную оценку эндометрия проводили с использованием лицензированного программного обеспечения «Морфология 5.2.».

Результаты реакции VDR рецепторов идентифицировались по окрашиванию клеток стромы с оценкой процента окрашенных клеток.

Выполнено 25 программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), 43 – ЭКО/ИКСИ [ICSI, интрацитоплазматическая инъекция (перенос) сперматозоида в яйцеклетку]. ЧНБ составила 26,5% – на перенос.

Получение ооцитов, оплодотворение, культивирование и перенос эмбрионов (не более двух), поддержку лю-

теиновой фазы препаратами прогестерона в посттрансферном периоде проводили согласно существующим стандартным рекомендациям. Учитывали только клинически подтвержденную беременность (сонографическое наличие плодного яйца).

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, проводилось после предварительного информированного согласия пациенток.

Статистический анализ был выполнен с помощью электронных таблиц Microsoft Excel, результаты исследования представлены как среднее+стандартное отклонение (M+SD), программного пакета SPSS 19 для Windows с использованием методик ROC анализа, проверка выборки на соответствие нормальному распределению выполнена с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для сравнения 2 независимых переменных применяли критерий Манна-Уитни. Для выявления связи между признаками рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона и Спирмена, в зависимости от варианта распределения переменных. Уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Возраст женщин в группах оказался сопоставим 38,66±2,30 (ДИ 95% 37,52-39,81) и 39,56±2,78 (ДИ 95% 38,76-40,35) и не оказывал влияния на исход программ ЭКО, ЭКО/ИКСИ ($p=0,262$). Корреляции между возрастом и экспрессией VDR в строме эндометрия, экспрессией VDR в железах эндометрия ($r=-0,007$, $p=0,955$; $r=-0,11$, $p=0,372$, соответственно) не установлено.

Экстрагенитальная заболеваемость женщин в группах встречалась с сопоставимой частотой (55,5% (n=10) и 62% (n=31)). Отличий в частоте аборт (39% (n=7) и 50% (n=25)) и невынашивания беременности (39% (n=7) и 26% (n=13)) выявлено не было, как и корреляции неблагоприятных репродуктивных факторов с исходами программ ВРТ.

Хронический эндометрит наблюдался у 72,2% (n=13) в I группе, у 54,4% (n=37) во второй. Влияния наличия хронического эндометрита женщин на исходы программ ЭКО, ЭКО/ИКСИ и экспрессию VDR в строме эндометрия и железах не установлено ($r=-0,038$, $p=0,755$;

$r=0,008$, $p=0,950$; $r=0,015$, $p=0,905$, соответственно).

Частота первичного и вторичного бесплодия в группах женщин с наступившей беременностью в программах ВРТ не отличалась, с неэффективными попытками вторичное бесплодие преобладало (80%, n=40). Оперативные вмешательства на матке и придатках в группе с неблагоприятными исходами программ ВРТ встречались практически в 1,5 раза чаще ($p=0,022$).

Количество неэффективных попыток ЭКО и ЭКО-ИКСИ женщин с различными исходами программ ВРТ отличалось: в I группе чаще встречалась единственная (67% (n=12)), две - 16,5% (n=3), три - 11% (n=2), более трех 5,5% (n=1) ($p=0,024$), во II – одна выполнена у 44% (n=22), две – 32% (n=16), три – 20% (n=10), 4% (n=2) – более трех попыток, однако статистически значимых различий не выявлено.

В первой группе протоколы ЭКО и ЭКО/ИКСИ выполнены с равной частотой (по 50,0%), второй – в 32,0% и 68,0% соответственно.

Стимуляцию овуляции антагонистами гонадотропинов применяли у 55,6% (n=10) женщин первой группы и 88% (n=44) – второй, модифицированный длинный протокол с половинными дозами агонистов гонадотропинов – у 22,2% (n=4) с положительными исходами программ ВРТ и 6% (n=3) – неэффективными попытками ЭКО.

Длинный классический и короткий протокол с агонистами выполняли с одинаковой частотой: в первой группе по 11,1% (n=2, n=2), соответственно и во второй 4%(n=2), 2%(n=1), соответственно. Корреляции между ЧНБ и типом протокола в программах ВРТ не обнаружено.

Экспрессия VDR в строме эндометрия в I группе составила 4,98±3,29 (ДИ 95% 3,34-6,62), во II - 7,60±2,73 (ДИ 95% 6,82-8,38), ($p=0,003$).

Экспрессия VDR в железах эндометрия в группах составила 5,23±4,37 (ДИ 95% 3,05-7,40) и 7,64±3,60 (ДИ 95% 6,61-8,66), соответственно ($p=0,031$) (таблица 1).

Женщин с благоприятными исходами в программах ЭКО и ЭКО/ИКСИ отличала сниженная экспрессия рецепторов VDR в железах и строме эндометрия (рисунок 1).

Определена сильная положительная корреляция экспрессии VDR между стромой и железами эндометрия ($r=0,656$, $p=0,000$), отрицательная экспрессией VDR в

Таблица 1. Экспрессия VDR в строме и железах эндометрия с различными исходами программ ЭКО и ЭКО/ИКСИ

Группы	I (n=18)	II (n=50)	p
экспрессия VDR в строме	4,98±3,29	7,60±2,73	0,003
экспрессия VDR в железах	5,23±4,37	7,64±3,60	0,031

Таблица 2. AUC экспрессии VDR в строме и железах эндометрия

AUC		p
в железах	0,672±0,079	0,031
в строме	0,739±0,063	0,003

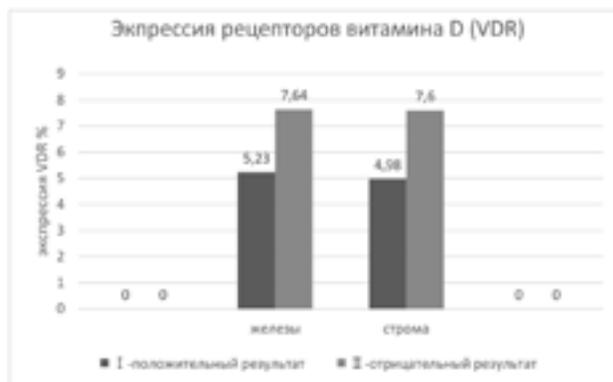


Рисунок 1. Экспрессия VDR в строме и железах в зависимости от исходов результатов ВРТ

строме и исходами программ ВРТ ($r=-0,37$, $p=0,001$), так и в железах ($r=-0,26$, $p=0,03$).

На рис. 2,3 (Примечание редактора: Эти и последующий рисунки находятся на цветной вкладке) представлены варианты гистологических картин при разных клинических исходах.

Площадь под ROC-кривой (AUC), рассчитанная методом ROC-анализа, позволяет выверить прогностические коэффициенты наступления клинической беременности и экспрессии VDR рецепторов в строме и железах эндометрия.

AUC экспрессии VDR в железах и строме эндометрия составила $0,672 \pm 0,079$ (ДИ 95%: $0,518-0,827$; $p=0,031$) и $0,739 \pm 0,063$ (ДИ 95%: $0,616-0,862$; $p=0,003$) соответственно (таблица 2).

Значения AUC экспрессии VDR и в железах, и в строме эндометрия являются статистически достоверными, однако экспрессия VDR в строме эндометрия оказалась более значимой (рисунок 4).

Пороговое значение экспрессии VDR рецепторов в строме эндометрия в точке cut-off составило 8,7%. При значении ROC-порогового параметра менее 8,7% эндометрий охарактеризовали как рецептивный, благоприятный для имплантации; $\geq 8,7\%$ неблагоприятный для имплантации. Чувствительность и специфичность метода составила 100% и 40% соответственно.

Установлено, что снижение экспрессии VDR в строме на 1% повышает шанс на благоприятный исход в 1,3 раза.

Полученные нами данные не согласуются с указанием некоторых авторов на взаимосвязь повышенной экспрессии VDR с положительными исходами программ ЭКО и ЭКО/ИКСИ [24]. J. Guo et al. [24] оценили рецептивность эндометрия у бесплодных женщин в программах ВРТ, экспрессию VDR в слизистой матки при различных исходах. В исследование были включены 16 женщин с регулярным менструальным циклом до 40 лет (средний возраст 34,6 года), с нормальным овариальным резервом. Образцы эндометрия были взяты в обе фазы менструального цикла (по 8 в каждой). Перенос эмбрионов осуществляли в криопроводе. Экспрессия VDR у беременных оказалась выше, но без значимых статистических различий ($p=0,083$), беременные женщины были значительно моложе небеременных ($p=0,032$). Кроме того, маленький размер выборки (16 участников), исследование образцов

эндометрия в различные фазы менструального цикла у разных женщин являются факторами, ограничивающими значимость результатов данного исследования.

Полученные результаты объясняют данные исследований, указывающих на снижение экспрессии VDR в средней стадии фазе секреции (в период “окна имплантации”) у здоровых женщин и снижение антипролиферативного эффекта при низких уровнях экспрессии VDR [22].

Заключение

Экспрессия рецепторов витамина D в железах и строме коррелирует. Большая прогностическая значимость определена для экспрессии рецепторов в строме эндометрия. Благоприятные исходы программ ВРТ определяет снижение экспрессии рецепторов рецепторов витамина D. Оценка концентрации VDR рецепторов в строме эндометрия выступает дополнительным маркером рецептивности эндометрия: при снижении на 1% шансы на благоприятный исход возрастают в 1,3 раза.

Результаты нашего исследования позволяют расширить представления о влиянии экспрессии рецепторов витамина D на исходы беременности в программах ВРТ. ■

Чухнина Елена Галиевна – аспирант кафедры патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, **Воропаева Екатерина Евгеньевна** – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, **Казачков Евгений Леонидович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, **Казачкова Элла Алексеевна** – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск.

Автор, ответственный за переписку: Чухнина Елена Галиевна, 454092, Россия, Челябинск, ул. Воровского, 64; Телефон: +7 (919) 306-74-84; E-mail: chuhninaeg@yandex.ru

Литература:

1. Pilz S, Tomaschitz A, Pieber TR, Lafer I, Drechsler C, Meinitzer A, Grammer TB, Marz W. Vitamin D: clinical implications beyond musculoskeletal diseases. *LABORATORIUMSMEDIZIN*. 2011; 35:211–6. doi:10.1515/jlm.2011.025
2. Voulgaris N, Papanastasiou L, Ptiditis G, et al. Витамин D и аспекты женской фертильности. Гормоны (Афины). 2017;16(1):5-21. doi: 10.14310 / horm.2002.1715
3. Monastra G, De Grazia S, De Luca L, Vittorio S, Unfer V. Vitamin D: a steroid hormone with progesterone-like activity. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(8):2502-2512. doi:10.26355/eurrev_201804_14845
4. Viganò P, Lattuada D, Mangioni S, et al. Cycling and early pregnant endometrium as a site of regulated expression of the vitamin D system. *J Mol Endocrinol*. 2006;36(3):415-424. doi:10.1677/jme.1.01946
5. Wagner C.L., Taylor S.N., Dawodu A., Johnson D.D., Hollis B.W. Vitamin D and its role during pregnancy in attaining optimal health of mother and fetus. *Nutrients*. 2012; 4(3):208-30. doi: 10.3390/nu4030208.
6. Franasiak JM, Molinaro TA, Dubell EK, Scott KL, Ruiz AR, Forman EJ, Werner MD, Hong KH, Scott RT Jr. Vitamin D levels do not affect IVF outcomes following the transfer of euploid blastocysts. *Am J Obstet Gynecol* 2015;212(3): 315.e1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2014.09.029.
7. Hewison M, Freeman L, Hughes SV, et al. Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol*. 2003;170(11):5382-5390. doi:10.4049/jimmunol.170.11.5382
8. Lin R, White JH. The pleiotropic actions of vitamin D. *Bioessays*. 2004;26(1):21-28. doi:10.1002/bies.10368
9. Katayama Y. Vitamin D receptor: A critical regulator of inter-organ communication between skeletal and hematopoietic systems. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019; 190:281-283. doi:10.1016/j.jsmb.2019.02.001
10. Saccone D, Asani F, Bornman L. Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics. *Gene*. 2015;561(2):171-180. doi:10.1016/j.gene.2015.02.024
11. Grzesiak M, Waszkiewicz E, Wojtas M, Kowalik K, Franczak A. Expression of vitamin D receptor in the porcine uterus and effect of 1,25(OH)2D3 on progesterone and estradiol-17β secretion by uterine tissues in vitro. *Theriogenology*. 2019; 125:102-108. doi:10.1016/j.theriogenology.2018.10.026
12. Du H, Daftary GS, Lalwani SI, Taylor HS. Direct regulation of HOXA10 by 1,25-(OH)2D3 in human myelomonocytic cells and human endometrial stromal cells. *Mol Endocrinol*. 2005;19(9):2222-2233. doi:10.1210/me.2004-0336
13. Sayem ASM, Giribabu N, Karim K, Si LK, Muniandy S, Salleh N. Differential expression of the receptors for thyroid hormone, thyroid stimulating hormone, vitamin D and retinoic acid and extracellular signal-regulated kinase in uterus of rats under influence of sex-steroids. *Biomed Pharmacother*. 2018; 100:132-141. doi:10.1016/j.biopha.2018.02.008
14. Jang H, Choi Y, Yoo I, et al. Vitamin D-metabolic enzymes and related molecules: Expression at the maternal-conceptus interface and the role of vitamin D in endometrial gene expression in pigs. *PLoS One*. 2017;12(10): e0187221. Published 2017 Oct 31. doi:10.1371/journal.pone.0187221
15. Zarnani AH, Shahbazi M, Salek-Moghaddam A, et al. Vitamin D3 receptor is expressed in the endometrium of cycling mice throughout the estrous cycle. *Fertil Steril*. 2010;93(8):2738-2743. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.09.045
16. Emam MA, Abouelroos ME, Gad FA. Expression of calbindin-D9k and vitamin D receptor in the uterus of Egyptian buffalo during follicular and luteal phases. *Acta Histochem*. 2016;118(5):471-477. doi:10.1016/j.acthis.2016.04.009
17. Cermisoni GC, Alteri A, Corti L, et al. Vitamin D and Endometrium: A Systematic Review of a Neglected Area of Research. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2320. Published 2018 Aug 8. doi:10.3390/ijms19082320
18. Ganguly A, Tamblyn JA, Finn-Sell S, et al. Vitamin D, the placenta and early pregnancy: effects on trophoblast function. *J Endocrinol*. 2018;236(2): R93-R103. doi:10.1530/JOE-17-0491
19. Yoshizawa T, Handa Y, Uematsu Y, et al. Mice lacking the vitamin D receptor exhibit impaired bone formation, uterine hypoplasia and growth retardation after weaning. *Nat Genet*. 1997;16(4):391-396. doi:10.1038/ng0897-391
20. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology*. 2000;141(4):1317-1324. doi:10.1210/endo.141.4.7403
21. Vienonen A, Miettinen S, Bläuer M, et al. Expression of nuclear receptors and cofactors in human endometrium and myometrium. *J Soc Gynecol Investig*. 2004;11(2):104-112. doi:10.1016/j.jsgi.2003.09.003
22. Zelenko Z, Aghajanova L, Irwin JC, Giudice LC. Nuclear receptor, coregulator signaling, and chromatin remodeling pathways suggest involvement of the epigenome in the steroid hormone response of endometrium and abnormalities in endometriosis. *Reprod Sci*. 2012;19(2):152-162. doi:10.1177/1933719111415546
23. Bergadà L, Pallares J, Maria Vittoria A, et al. Role of local bioactivation of vitamin D by CYP27A1 and CYP2R1 in the control of cell growth in normal endometrium and endometrial carcinoma. *Lab Invest*. 2014;94(6):608-622. doi:10.1038/labinvest.2014.57

24. Guo, J., Liu, S., Wang, P. et al. Characterization of VDR and CYP27B1 expression in the endometrium during the menstrual cycle before embryo transfer: implications for endometrial receptivity. *Reprod Biol Endocrinol* 18, 24 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00579-y>
25. Weisman Y, Harell A, Edelstein S, David M, Spirer Z, Golander A. 1 alpha, 25-Dihydroxyvitamin D3 and 24,25-dihydroxyvitamin D3 in vitro synthesis by human decidua and placenta. *Nature*. 1979;281(5729):317-319. doi:10.1038/281317a0
26. Panda DK, Miao D, Tremblay ML, et al. Targeted ablation of the 25-hydroxyvitamin D 1alpha-hydroxylase enzyme: evidence for skeletal, reproductive, and immune dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(13):7498-7503. doi:10.1073/pnas.131029498
27. Rebut-Bonneton C, Demignon J. Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on in vitro lymphocyte reactions: arguments for a role at the maternofetal interface. *Gynecol Obstet Invest*. 1991;32(3):134-138. doi:10.1159/000293014
28. Evans KN, Nguyen L, Chan J, et al. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on cytokine production by human decidual cells. *Biol Reprod*. 2006;75(6):816-822. doi:10.1095/biolreprod.106.054056
29. Rudick BJ, Ingles SA, Chung K, Stanczyk FZ, Paulson RJ, Bendikson KA. Influence of vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes in donor-recipient cycles. *Fertil Steril*. 2014;101(2):447-452. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.10.008
30. Воронаева Е.Е., Чухнина Е.Г., Казачкова Э. А., Казачков Е.Л. Влияние витамина D на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы). *Уральский медицинский журнал*. 2019;10:8-15. doi:10.25694/URMJ.2019.10.03