

**ИЗМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ IL-1В,
TNFА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА У
ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ**

Махортова К. А. ¹,
Кукина П. И. ¹,
Крыжная А. Д. ²,
Лапина П. А. ²,
Маркова Э. А. ³,
Доброхотова Ю. Э. ³,
Цымбал А. А. ²,
Свитич О. А. ^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ (Пироговский университет), Москва, Россия

**CHANGES IN THE MOLECULAR GENETIC PROFILE OF IL-1B, TNFA,
AND ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE IN WOMEN WITH
RECURRENT MISCARRIAGE**

Makhortova K. A. ^a,

Kukina P. I. ^a,

Kryzhnaya A. D. ^b,

Lapina P. A. ^b,

Markova E. A. ^c,

Dobrokhotova Yu. E. ^c,

Tsymbal A. A. ^b,

Svitich O. A. ^{a,b}

^a Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums, Moscow, Russia

^b Sechenov First Moscow State Medical University of the Russian Ministry of Health (Sechenov University), Moscow, Russia

^c Pirogov Russian National Research Medical University of the Russian Ministry of Health (Pirogov University), Moscow, Russia

Резюме

Невынашивание беременности представляет собой сложную и многофакторную патологию, причина которой примерно в 50% случаев остается неизвестной. Целью данного исследования стало изучение ассоциации полиморфных вариантов гена *eNOS* с развитием патологии невынашивания беременности, а также оценка корреляционных зависимостей между полиморфными маркерами гена *eNOS* и уровнем экспрессии генов *IL-1 β* и *TNF α* . Был изучен материал от 163 пациенток с репродуктивными потерями (соскобы со слизистых оболочек влагалища и цервикального канала, венозная кровь). Идентификация изучаемых маркеров проводилась методом ПЦР-РВ. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна–Уитни и точного критерия Фишера. В ходе исследования установлены различия в экспрессии провоспалительных цитокинов в зависимости от типа невынашивания беременности. У пациенток с привычным невынашиванием выявлено статистически значимое повышение экспрессии генов *IL-1 β* и *TNF α* в клетках слизистой цервикального канала по сравнению с группами спорадического невынашивания и контрольной группой. При спорадическом невынашивании отмечалась тенденция к повышению экспрессии гена *IL-1 β* в белых клетках периферической крови и гена *TNF α* — в клетках слизистой цервикального канала. Следует отметить, что экспрессия гена *IL-1 β* в клетках слизистой влагалища определялась исключительно в группе спорадического невынашивания, что может отражать специфику локального иммунного ответа при данной патологии. Также результаты проведенного исследования выявили прогностическую значимость полиморфных маркеров гена *eNOS* (*G894T*, *C774T* и *T786C*) гаплотипа *GTCTTC* как фактора риска развития спорадического невынашивания беременности. В свою очередь, гаплотип *GTCTTT* и генотип *T/T* полиморфизмов *G894T* и *C774T* продемонстрировали протективные свойства в отношении данной патологии. В ходе исследования выявлена ассоциация между уровнями экспрессии гена *IL-1 β* и полиморфными маркерами *G894T*, *C774T* и *T786C* гена *eNOS*. Установлено, что генотип *TT* (*T786C*) ассоциирован с низким уровнем экспрессии *IL-1 β* , тогда как генотип *CC* (*T786C*) коррелирует с повышенной экспрессией данного гена в белых клетках периферической крови. Также подтверждена связь между экспрессией *IL-1 β* в клетках слизистой цервикального канала и указанными полиморфными маркерами гена *eNOS*. Показано, что экспрессия *IL-1 β* зависит от генотипа по полиморфизму *T786C*: экспрессия гена *IL-1 β* отсутствует у носителей генотипа *TT* и регистрируется у носителей генотипа *TC*. Полученные данные могут служить основой для прогностической оценки риска невынашивания беременности.

Ключевые слова: экспрессия генов, невынашивание беременности, полиморфизм генов, врожденный иммунитет, эндотелиальная синтаза оксида азота, провоспалительные цитокины.

Abstract

Recurrent pregnancy loss is a multifactorial disorder; in about 50 % of cases, its cause is unknown. This study aimed to assess the link between eNOS gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss, as well as to explore their correlation with IL-1 β and TNF α gene expression levels. The analysis covered material from 163 patients with reproductive losses (scrapings from vaginal and cervical mucosa, venous blood). Markers were identified via real-time PCR; statistical analysis used the Mann-Whitney U test and Fisher's exact test. Key findings showed differences in proinflammatory cytokine expression depending on the type of pregnancy loss. In recurrent miscarriage patients, IL-1 β and TNF α gene expression was significantly higher in cervical mucosal cells compared to the sporadic miscarriage and control groups. In sporadic miscarriage, there was a trend toward elevated IL-1 β expression in peripheral white blood cells and TNF α expression in cervical mucosal cells. Notably, IL-1 β expression in vaginal mucosal cells occurred only in the sporadic miscarriage group, suggesting a specific local immune response in this condition. Prognostic relevance was found for eNOS gene polymorphic markers (G894T, C774T, T786C). The GTCTTC haplotype was identified as a risk factor for sporadic miscarriage, whereas the GTCTTT haplotype and the T/T genotype of G894T and C774T polymorphisms showed protective effects. An association between IL-1 β expression and eNOS polymorphisms was confirmed. The TT genotype (T786C) correlated with low IL-1 β expression, while the CC genotype (T786C) was linked to higher expression in peripheral white blood cells. For cervical mucosal cells, IL-1 β expression depended on the T786C genotype: it was absent in TT carriers but present in TC carriers. These results could help predict miscarriage risk.

Keywords: gene expression, miscarriage, gene polymorphism, innate immunity, endothelial nitric oxide synthase, proinflammatory cytokines.

1 Введение

Невынашивание беременности определяется как самопроизвольное прерывание гестации на сроке до 22 недель. В соответствии с частотой возникновения в анамнезе выделяют две формы: спорадическое невынашивание (единичный случай) и привычное невынашивание (два и более эпизода потери беременности). Согласно имеющимся данным, распространённость спорадического невынашивания среди подтверждённых беременностей составляет 10–25 %, тогда как привычное невынашивание регистрируется у 1–5 % женщин. При этом около 80 % всех случаев выкидышей приходится на ранние сроки гестации — до 8–12 недель [14].

Невынашивание беременности представляет собой многофакторное патологическое состояние, в патогенезе которого участвуют генетические, инфекционно-воспалительные, эндокринные, аутоиммунные, анатомические и тромбофилические механизмы. Установлено, что хромосомные нарушения эмбриона или плода обуславливают 50–80 % случаев спорадического выкидыша в ранние сроки [14]. При этом этиологические факторы спорадического и привычного невынашивания могут различаться. Примерно в 50% случаев установить конкретную причину или совокупность причин прерывания беременности не представляется возможным [16]. На сегодняшний день существует большое количество публикаций об особенностях функционирования иммунной системы при физиологической беременности. Успешное зачатие и пролонгирование физиологической беременности в значительной степени определяются врожденным иммунитетом, факторы которого создают в организме матери состояние иммунологической толерантности к полуаллогенным тканям эмбриона. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что инвазия трофобласта стимулируется Th2-цитокинами и ограничивается Th1-цитокинами (IL-1 β , TNF α). Нарушение цитокинового баланса в первом триместре с преобладанием провоспалительных факторов (TNF α , IL-1 β) может вызывать дефекты развития трофобласта и формирования спиральных артерий, что, в свою очередь, приводит к таким гестационным осложнениям, как преэклампсия, преждевременные роды, задержка внутриутробного роста плода и привычное невынашивание беременности [3,8,9]. При этом, несмотря на признанную значимость провоспалительных цитокинов, количество работ, посвященных роли TNF α и IL-1 β при невынашивании беременности, остается небольшим.

Согласно имеющимся данным, экспрессия молекул врождённого иммунитета зависит от активности эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS). Предположительно данный механизм реализуется посредством сигнального пути AMPK (Adenosine monophosphate-activated protein kinase), участвующего в регуляции воспалительных процессов и продукции биологически активных соединений, в т.ч. оксида азота (NO). Синтез NO инициируется активацией eNOS. Контроль воспаления обеспечивается подавлением сигнального пути NF- κ B, что приводит к снижению выработки

провоспалительных цитокинов — IL-1 β и TNF α [13]. Таким образом, eNOS может выступать связующим звеном между регуляцией воспаления и репродуктивными процессами. С одной стороны, этот фермент участвует в контроле иммунного ответа через сигнальные пути AMPK и NF- κ B, с другой стороны, eNOS играет принципиально важную роль в обеспечении нормального течения беременности. Система оксида азота (NO), образующегося из L-аргинина под действием NOS, играет ключевую роль в васкуляризации плаценты и нормальном течении беременности [12]. NOS представлена тремя изоформами (nNOS, eNOS, iNOS), из которых eNOS (кальций-зависимая) локализована в эндотелии и других тканях. eNOS катализирует выработку NO, необходимого для имплантации, регуляции иммунитета, сосудистого тонуса и ремоделирования артерий. Нарушения синтеза NO связаны с гипоксией, эндотелиальной дисфункцией и риском прерывания беременности, а полиморфные маркеры гена *eNOS* ассоциированы с привычным невынашиванием [6,15].

Самопроизвольная потеря беременности представляет собой сложный многостадийный биологический процесс, детерминированный комплексом метаболических изменений, иммунных нарушений, а также генетических факторов. В связи с этим раскрытие молекулярных механизмов невынашивания беременности является приоритетной задачей. Целью настоящего исследования являлось изучение ассоциации полиморфных вариантов гена *eNOS* с развитием патологии невынашивания беременности, а также оценка корреляционных зависимостей между полиморфными маркерами гена *eNOS* и уровнем экспрессии генов *IL-1 β* и *TNF α* .

2 Материалы и методы

В рамках настоящего исследования была сформирована выборка из 163 женщин в возрасте от 18 до 45 лет с самопроизвольно наступившей одноплодной беременностью сроком от 5 до 12 недель, госпитализированных в отделение гинекологии ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница имени Ф.И. Иноземцева» Департамента здравоохранения города Москвы. В основную группу вошли 123 женщины с признаками потери беременности на сроке до 12 недель: 100 из них были отнесены в группу спорадического невынашивания, а 23 (с двумя и более случаями потери беременности) – в группу привычного невынашивания. Группу сравнения составили 40 женщин репродуктивного возраста с подтвержденной физиологической беременностью на сроке до 12 недель. Все женщины из данной группы были госпитализированы с целью проведения искусственного аборта.

Отбор участниц исследования осуществлялся согласно специальным характеристикам исследуемых групп – критериями включения и исключения. Критериями включения в группу были следующие аспекты: подписание пациенткой информированного добровольного согласия, самопроизвольно наступившая одноплодная маточная беременность сроком до 12 недель у пациенток в возрасте от 18 до 45 лет, подтвержденная по данным анализа крови на β -ХГЧ и с помощью УЗИ органов малого таза. Критериями

исключения являлись: пациентки с беременностью, проходившие в протоколе вспомогательных репродуктивных технологий, с тяжёлой экстрагенитальной патологией, онкологическими заболеваниями, острыми воспалительными, аутоиммунными и аллергическими заболеваниями, отказ от участия в исследовании. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при ФГБНУ «НИИВС им. И. И. Мечникова» (Протокол ЛЭК от 26.11.2025 г., №17/2025).

В соответствии с клиническим протоколом при поступлении в стационар всем женщинам осуществляли забор биологического материала: соскоб со слизистой цервикального канала, соскоб со слизистой влагалища, забор венозной крови. Для дальнейшего изучения полученные биоматериалы в течение двух часов транспортировались в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» при температуре плюс 4°C, с последующим хранением при минус 70°C. Настоящее исследование включало выполнение следующих задач: определение однонуклеотидных полиморфизмов гена *eNOS* (*G894T*, *T774T*, *T786C*), а также определение уровня экспрессии генов *IL-1β*, *TNFα* клетками периферической крови, слизистых цервикального канала и влагалища методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Для оценки экспрессионного профиля молекул врожденного иммунитета (*IL-1β*, *TNFα*) использовали биоматериал в виде соскобов слизистых оболочек влагалища и цервикального канала, а также белых клеток периферической крови. Согласно протоколу, рекомендованному производителем, из полученного биоматериала была выделена тотальная РНК с использованием наборов для выделения нуклеиновых кислот РИБО-сорб (ООО «ИЛС», Москва). Реакцию обратной транскрипции и последующий анализ методом ПЦР-РВ проводили с помощью наборов «Набор для обратной транскрипции ОТ-1» и «Набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя SYBR Green I» (ЗАО «Синтол», Москва). Последовательность праймеров для генов *IL-1β*, *TNFα* подбирали с помощью программы Primer-BLAST (NCBI) [1]. Стандартизация данных, полученных методом ПЦР в режиме реального времени, осуществлялась относительно уровня экспрессии гена «домашнего хозяйства» *GAPDH*. Расчёт уровня экспрессии целевого гена выполнен с применением метода относительного количественного анализа $\Delta\Delta C_t$. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна–Уитни в программном обеспечении GraphPad Prism 8 (США). Результаты на графиках представлены в виде медианных значений.

Из белых клеток периферической крови проводилось выделение тотальной ДНК для последующей идентификации полиморфных маркеров гена *eNOS*. Процедура проводилась с применением наборов для выделения нуклеиновых кислот «РИБО-сорб» (ООО «ИЛС», Россия), основанных на методе аффинной сорбции на частицах силикагеля, в строгом соответствии с инструкцией производителя. Для исследования были отобраны следующие

133 SNP-маркеры *G894T*, *T774T*, *T786C* гена *eNOS*. Выявление однонуклеотидных
134 полиморфизмов *eNOS* проводилось методом ПЦР-РВ с использованием
135 набора реагентов «SNP-Скрин» (ЗАО «Синтол», Москва). Все этапы
136 выполнялись в соответствии с инструкцией производителя. Статистический
137 анализ полученных данных осуществлялся с помощью точного критерия
138 Фишера в программном обеспечении GraphPad Prism 8 (США).

139 3 Результаты

140 В современной научной литературе широко освещаются особенности
141 функционирования иммунной системы в условиях физиологически
142 протекающей беременности. Установлено, что на ранних сроках гестации
143 локальное воспаление необходимо для успешной имплантации эмбриона,
144 однако его чрезмерная выраженность может спровоцировать развитие
145 невынашивания беременности [4,8]. В связи с этим в настоящем исследовании
146 была определена экспрессия генов *IL-1 β* и *TNF α* белыми клетками
147 периферической крови и клетками слизистых цервикального канала и
148 влагалища у женщин с различными вариантами невынашивания
149 беременности. Полученные данные сравнения между группами представлены
150 в таб. 1.

151 Исследование экспрессии гена *IL-1 β* показало отсутствие статистически
152 значимых различий в медианах уровней экспрессии между группами как в
153 белых клетках периферической крови, так и в клетках слизистой
154 цервикального канала. При этом в клетках слизистой влагалища экспрессия
155 гена *IL-1 β* не обнаружена.

156 Оценка уровня экспрессии гена *TNF α* клетками слизистой
157 цервикального канала показала, что в группе привычного невынашивания
158 беременности медиана экспрессии в 2,3 раза выше, чем в контрольной группе
159 ($p < 0,05$). В то же время сравнение медиан экспрессии между группами
160 привычного и спорадического невынашивания не выявило статистически
161 достоверных различий.

162 Анализ экспрессии гена *TNF α* клетками слизистой влагалища показал
163 отсутствие статистически достоверных различий между медианами уровней
164 экспрессии в исследуемых группах. Однако у женщин с привычным
165 невынашиванием беременности наблюдалась тенденция к повышенному
166 уровню экспрессии исследуемого гена клетками слизистых влагалища и
167 цервикального канала, по сравнению с белыми клетками периферической
168 крови.

169 При анализе уровня экспрессии гена *TNF α* белыми клетками
170 периферической крови выявлено, что медиана данного показателя в группе
171 привычного невынашивания беременности в 1,3 раза ниже по сравнению с
172 группой сравнения ($p < 0,05$). При сопоставлении медиан уровней экспрессии
173 гена *TNF α* между группами привычного и спорадического невынашивания
174 беременности статистически значимых различий не обнаружено.

175 Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что у
176 женщин с привычным невынашиванием беременности наблюдался

повышенный уровень экспрессии генов *IL-1 β* и *TNF α* клетками слизистой цервикального канала по сравнению с женщинами со спорадическим невынашиванием беременности и с физиологически протекающей беременностью (группа сравнения). Кроме того, в группе привычного невынашивания беременности отмечена тенденция к увеличению экспрессии гена *TNF α* клетками слизистой влагалища по сравнению с двумя другими группами. В тоже время у женщин со спорадическим невынашиванием беременности наблюдалась тенденция к повышению уровня экспрессии генов *IL-1 β* белыми клетками периферической крови и *TNF α* клетками слизистой цервикального канала. Также необходимо отметить, что экспрессия гена *IL-1 β* в клетках слизистой влагалища наблюдается только при спорадическом невынашивании беременности и отсутствует в случаях привычного невынашивания и в группе сравнения. Полученные данные свидетельствуют о том, что при привычном невынашивании беременности воспалительный процесс в большей степени локализуется на уровне слизистых репродуктивного тракта, при спорадическом невынашивании беременности воспалительный процесс наблюдается как на системном, так и на локальном уровнях. При физиологически протекающей беременности наблюдается более высокая экспрессия генов *IL-1 β* и *TNF α* белыми клетками периферической крови по сравнению со слизистыми репродуктивного тракта, что возможно отражает адаптивные изменения иммунной системы [2]. Экспрессия этих генов в клетках слизистой цервикального канала указывает на необходимость локальной активации провоспалительных факторов для успешной имплантации и инвазии трофобласта в полость матки [8]. При этом в клетках слизистой влагалища экспрессия *IL-1 β* отсутствует, тогда как экспрессия *TNF α* сохраняется. Таким образом, иммунная перестройка на ранних этапах беременности сочетает толерантность с ограниченным воспалением (рис. 1).

Экспрессия молекул врожденного иммунитета в условиях нормально протекающей беременности и при ее осложнениях определяется комплексом факторов, включая гормональный фон, активность регуляторных белков, а также регуляции сосудистого тонуса и ремоделирования артерий и т.д. Возможно, на экспрессию белковых молекул *IL-1 β* и *TNF α* оказывают влияние индивидуальные вариации в геноме человека, а именно полиморфные маркеры гена *eNOS*, обеспечивающее нормальное ремоделирование артерий и адекватную регуляцию иммунного ответа. В данном исследовании была проанализирована ассоциация полиморфных маркеров *G894T*, *C774T*, *T786C* гена *eNOS* с риском развития привычного и спорадического невынашивания беременности.

Анализ распределения частот генотипов полиморфного маркера *G894T* выявил, что частоты генотипов данного маркера в группе спорадического НБ и в группе сравнения составили: *G/G* 0,58 и 0,52, *G/T* 0,39 и 0,35, *T/T* 0,03 и 0,12 соответственно (рис. 2). Генотип *T/T* достоверно реже встречается в группе спорадического невынашивания беременности ($RR=0,24$, $p=0,0426$),

что может указывать на протективную роль данного фактора в отношении изучаемой патологии.

Также выявлены статистически значимые различия в распределении генотипов полиморфного маркера *C774T*. При оценке частот генотипов данного маркера зафиксированы следующие показатели в группе спорадического НБ и в группе сравнения: *C/T* 0,37 и 0,31, *C/C* 0,59 и 0,56, *T/T* 0,03 и 0,13 соответственно (рис. 3). Генотип *T/T* достоверно реже встречается в группе спорадического невынашивания беременности ($RR=0,24$, $p=0,0446$), что может свидетельствовать о его протективном свойстве в отношении данной патологии.

Анализ распределения генотипов полиморфного маркера *T786C* между исследуемыми группами не выявил статистически значимых различий.

В рамках настоящего исследования проанализирована ассоциация комплексных гаплотипов (*G894T*, *C774T*, *T786C*) гена *eNOS*, с риском привычного и спорадического невынашивания беременности. При оценке частот гаплотипа *GTCTTC* установлено, что его распределение в группе спорадического НБ и в группе сравнения составили: 0,24 и 0,08 соответственно. Таким образом, гаплотип *GTCTTC* достоверно коррелирует с развитием патологии спорадической потери беременности ($RR=3,14$, $p=0,0304$). Анализ частот гаплотипа *GTCTTT* выявил, что частота гаплотипа *GTCTTT* в группе спорадического НБ и в группе сравнения составили: 0,05 и 0,18 соответственно. Таким образом, гаплотип *GTCTTT* достоверно реже встречается в группе спорадического невынашивания беременности ($RR=0,31$, $p=0,0425$), что может свидетельствовать о его протективном свойстве в отношении данной патологии. В остальных в распределении гаплотипов полиморфных маркеров *G894T*, *C774T*, *T786C* между исследуемыми группами статистически достоверных различий не было обнаружено.

Для оценки корреляционных зависимостей между полиморфными маркерами *G894T*, *C774T*, *T786C* гена *eNOS* и уровнем экспрессии гена *IL-1 β* все исследуемые женщины были разделены на три группы на основании показателя экспрессии гена *IL-1 β* белыми клетками периферической крови. Первую группу составили женщины с низкой экспрессией гена *IL-1 β* (менее 0,9), вторую группу - со средним уровнем экспрессии исследуемого гена (0,9-1,3), третью группу - с высоким уровнем экспрессии гена *IL-1 β* (более 1,3). Анализ полученных результатов показал, что генотип *TT* (*T786C*) с частотой 0,67 был ассоциирован с низким уровнем экспрессии гена *IL-1 β* в белых клетках периферической крови, в группах с повышенным и высоким уровнем экспрессии гена *IL-1 β* частоты данного генотипа составили 0,16 и 0,33 соответственно. Другой генотип *CC* (*T786C*) коррелировал с повышенной экспрессией гена *IL-1 β* , частота его составила 0,21, в тоже время данный генотип отсутствует у групп женщин с низким и высоким уровнями экспрессии гена *IL-1 β* .

Для полиморфных маркеров *G894T* и *C774T* распределение генотипов не демонстрировало направленных изменений в зависимости от уровня

экспрессии *IL-1 β* . Полученные данные могут указывать на отсутствие влияния данного варианта на регуляцию экспрессии гена в условиях проведенного исследования. Результаты представлены в таб. 2.

Для определения частот генотипов полиморфных маркеров *G894T*, *C774T*, *T786C* гена *eNOS* в зависимости от уровня экспрессии *IL-1 β* в клетках слизистой цервикального канала, все исследуемые женщины были разделены на две группы. Первую группу составили женщины, у которых отсутствовала экспрессия гена *IL-1 β* , во вторую группу вошли женщины с уровнем экспрессии исследуемого гена больше 0. Анализ полученных результатов показал, что генотип *TT* (*T786C*) с частотой 0,58 был ассоциирован с отсутствием экспрессии гена *IL-1 β* в клетках слизистой цервикального канала, в группах с экспрессии гена *IL-1 β* больше 0 частота данного генотипа составила 0,18. Другой генотип *TC* (*T786C*) был ассоциирован с экспрессией гена *IL-1 β* больше 0, частота его составила 0,68, в тоже время данный генотип присутствует у групп женщин с отсутствием экспрессии гена *IL-1 β* с частотой 0,33. Для полиморфных маркеров *G894T* и *C774T* распределение генотипов не демонстрировало направленных изменений в зависимости от уровня экспрессии *IL-1 β* . Результаты исследования позволяют предположить, что рассматриваемый вариант не оказывает влияния на регуляцию экспрессии гена в условиях проведенного исследования. Полученные данные представлены в таб. 3.

При изучении распределения генотипов полиморфных маркеров *G894T*, *C774T*, *T786C* гена *eNOS* в клетках слизистой влагалища не было выявлено какой-либо зависимости от уровня экспрессии гена *IL-1 β* . Также данная зависимость отсутствует в белых клетках периферической крови, клетках слизистых цервикального канала и влагалища при экспрессии гена *TNF α* . Это свидетельствует об отсутствии системной взаимосвязи и подтверждает, что регуляция экспрессии данного гена носит преимущественно локальный характер.

4 Обсуждение

Полученные данные, демонстрирующие повышенный уровень экспрессии гена *TNF α* клетками слизистой цервикального канала, согласуются с ранее опубликованными результатами о повышенной экспрессии этого гена в клетках эндометрия у женщин с привычным невынашиванием беременности в сравнении с физиологической беременностью [5]. Кроме того, в немногочисленных работах, где проводилось сравнение экспрессии гена *TNF α* в клетках плаценты, показано, что у женщин с повторными выкидышами этот показатель выше, чем у пациенток с единичными случаями прерывания беременности [7]. Эти результаты подтверждают концепцию о том, что нарушение иммунной толерантности матери к плоду может стать причиной привычного невынашивания беременности.

Относительно уровня экспрессии гена *TNF α* клетками слизистой влагалища у женщин с привычным невынашиванием беременности наблюдалась тенденция к повышенному уровню экспрессии исследуемого

гена клетками слизистых влагалища и цервикального канала, по сравнению с белыми клетками периферической крови. Таким образом можно предположить, что при привычном невынашивании беременности воспалительный процесс локализуется на периферическом уровне, а не на системном. Провоспалительные цитокины, такие как $TNF\alpha$, необходимы для стимуляции инвазии бластоцисты и образования новых кровеносных сосудов во время имплантации, но чрезмерный провоспалительный ответ может привести к осложнениям имплантации, которые могут вызвать потерю беременности [5].

В ходе проведенного исследования выявлено статистически значимое снижение экспрессии гена $TNF\alpha$ белыми клетками периферической крови в группе привычного невынашивания беременности относительно группы сравнения. Отмечается расхождение полученных данных с результатами ранее опубликованных работ. В исследовании D. K. Hamasaeed et al. (2026) с участием 75 женщин продемонстрировано, что у пациенток с привычным невынашиванием беременности уровень экспрессии гена $TNF\alpha$ в белых клетках периферической крови достоверно превышает контрольные значения [10]. Данное расхождение, вероятно, связано с тем, что воспалительная реакция носила локальный характер, ограничиваясь клетками слизистых цервикального канала и влагалища, без распространения в системный кровоток

В ходе проведенного исследования выявлено, что гаплотип $GTCTTC$ ассоциирован с повышенным риском развития спорадического невынашивания беременности. В то же время протективными факторами, снижающими вероятность данной патологии, выступают гаплотип $GTCTTT$, а также генотип T/T полиморфизма $G894T$ и полиморфизма $C774T$. Литературные данные относительно ассоциации полиморфных маркеров гена $eNOS$ с привычным невынашиванием беременности носят неоднозначный характер. Так, в работе X. Zhao и соавт. (2019) было показано, что генотип TT полиморфизма $G894T$ ассоциирован с повышенным риском повторной потери беременности по сравнению с физиологической беременностью [17]. Однако другие исследовательские группы не обнаружили статистически значимых различий по данному полиморфизму между сравниваемыми группами [11]. На текущий момент в научной литературе отсутствуют данные о возможной связи полиморфизма $C774T$ гена $eNOS$ с привычным невынашиванием беременности, что указывает на необходимость проведения дополнительных исследований в этом направлении.

5 Заключение

В ходе исследования выявлены особенности экспрессии провоспалительных цитокинов в зависимости от типа невынашивания беременности. При привычном невынашивании зафиксировано статистически значимое повышение экспрессии генов $IL-1\beta$ и $TNF\alpha$ в клетках слизистой цервикального канала относительно группы спорадического невынашивания беременности и группы сравнения. Дополнительно отмечена тенденция к

увеличению экспрессии гена *TNF α* клетками слизистой влагалища у женщин из группы привычного невынашивания беременности. Для спорадического невынашивания характерна иная картина: наблюдается тенденция к повышению экспрессии генов *IL-1 β* в белых клетках периферической крови, *TNF α* — в клетках слизистой цервикального канала. Примечательно, что экспрессия гена *IL-1 β* в клетках слизистой влагалища регистрировалась исключительно в группе со спорадическим невынашиванием, что может свидетельствовать о специфике иммунного ответа при данной форме патологии. Таким образом, локализация воспалительного процесса различается в зависимости от типа невынашивания: при привычном он преимущественно ограничивается слизистыми репродуктивного тракта, тогда как при спорадическом затрагивает как локальные, так и системные звенья иммунной системы.

Результаты проведенного исследования выявили прогностическую значимость полиморфных маркеров гена *eNOS* (*G894T*, *C774T* и *T786C*) гаплотипа *GTCTTC* как фактора риска развития спорадического невынашивания беременности. В свою очередь, гаплотип *GTCTTT* и генотип *T/T* полиморфизмов *G894T* и *C774T* продемонстрировали протективные свойства в отношении данной патологии.

Также установлена ассоциация между уровнями экспрессии гена *IL-1 β* и полиморфными маркерами *G894T*, *C774T*, *T786C* гена *eNOS*. Показано, что генотип *TT* (*T786C*) ассоциирован с низким уровнем экспрессии *IL-1 β* , а генотип *CC* (*T786C*) - ассоциирован с повышенной экспрессией гена *IL-1 β* белыми клетками периферической крови. Необходимо отметить, что генотип *CC* (*T786C*) отсутствует у групп женщин с низким и высоким уровнями экспрессии гена *IL-1 β* клетками периферической крови.

Проведенный анализ подтвердил наличие ассоциации между уровнями экспрессии гена *IL-1 β* в клетках слизистой цервикального канала и полиморфными маркерами *G894T*, *C774T* и *T786C* гена *eNOS*. Отмечено, что экспрессия *IL-1 β* зависит от генотипа по полиморфизму *T786C*: экспрессия *IL-1 β* отсутствует у носителей генотипа *TT* и присутствует у носителей генотипа *TC*. Результаты проведенного исследования формируют прочный фундамент для разработки диагностических методик оценки риска невынашивания беременности.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Экспрессионный профиль молекул врожденного иммунитета (TNF α , IL-1 β) на уровне белых клеток периферической крови, слизистых цервикального канала и влагалища у беременных женщин исследуемых групп

Table 1. Expression profile of innate immune molecules (TNF α , IL-1 β) at the level of white cells of peripheral blood, cervical canal and vaginal mucosa in pregnant women of the study groups

Экспрессия гена IL-1 β Gene expression IL-1 β	Локализация Localization					
Группы Groups	Клетки периферической крови Peripheral blood cells		Клетки слизистой цервикального канала Cervical mucosal cells		Клетки слизистой влагалища Vaginal mucosal cells	
	Изменение Change	Me [Q1; Q3]	Изменение Change	Me [Q1; Q3]	Изменение Change	Me [Q1; Q3]
Группа сравнения Comparison group	1	1,1 [1,0-1,1]	1	0,6 [0-1,4]	0	0 [0-0,06]
При выкидыше Habitual miscarriage	0,9 ↓ в	1,0 [0,8-1,1]	3,0 ↑ в	1,8 [0,8-3,1]	0	0 [0]
Спонтанное выкидыш Sporadic miscarriage	1,27 ↑ в	1,4 [0,8-8,0]	0	0 [0-0,1]	0	0,2 [0-1,0]

Экспрессия гена <i>TNFα</i> Gene expression <i>TNFα</i>	Локализация Localization					
	Клетки периферической крови Peripheral blood cells		Клетки слизистой цервикального канала Cervical mucosal cells		Клетки слизистой влагалища Vaginal mucosal cells	
Группы Groups	Изменение Change	Me [Q1; Q3]	Изменение Change	Me [Q1; Q3]	Изменение Change	Me [Q1; Q3]
Группа сравнения Comparison group	1	* 1,0 [0,9-1,1]	1	* 0,7 [0,4-1,1]	1	0,3 [0,1-1,3]
При привычное НБ Habitual miscarriage	↓ в 1,3	0,7 6* [0,6-0,9]	↑ в 2,3	1,6 * [0,8-3,2]	↑ в 1,3	0,4 [0,1-0,6]
Спонтанное НБ Spontadic miscarriage	↓ в 1,7	0,6 [0,4-5,0]	↑ в 1,3	0,9 [0,1-3,4]	1	0,3 [0,1-1,0]

Примечания: ↑-увеличение уровня экспрессии относительно группы сравнения. ↓-снижение уровня экспрессии относительно группы сравнения. Серым цветом выделены достоверно значимые результаты (при $p \leq 0,05$ по тесту Манна-Уитни). Ме – медиана, Q1-Q3 – квартили, НБ - невынашивание беременности.

Notes: ↑ indicates an increase in expression level relative to the comparison group. ↓ indicates a decrease in expression level relative to the comparison group. Significant results are highlighted in gray (at $p \leq 0.05$ according to the Mann-Whitney test).

Me is the median, Q1-Q3 are quartiles, NB is miscarriage.

Таблица 2. Распределение частот генотипов полиморфных маркеров *G894T*, *C774T*, *T786C* гена *eNOS* в зависимости от уровня экспрессии *IL-1β* в белых клетках периферической крови

Table 2. Distribution of genotype frequencies of polymorphic markers *G894T*, *C774T*, *T786C* of the *eNOS* gene depending on the level of *IL-1β* expression in peripheral white blood cells

Исследуемая группа Study group		Генотип Genotype	До 0,9 Up to 0.9	0,9-1,3	Более 1,3 More than 1.3
			Частота Frequency y	Частота Frequency y	Частота Frequency y
T	G894	<i>G</i>	0,9	0,61	0,78
		<i>GT</i>	0,1	0,33	0,22
		<i>TT</i>	0,0	0,06	0,0
T	C774	<i>CT</i>	0,11	0,26	0,33
		<i>C</i>	0,89	0,68	0,67
		<i>TT</i>	0,0	0,05	0,0
C	T786	<i>TC</i>	0,33	0,63	0,67
		<i>TT</i>	0,67	0,16	0,33
		<i>C</i>	0,0	0,21	0,0

Примечания: Серым цветом выделены достоверно значимые результаты (при $p \leq 0,05$ по тесту Фишера). Сравнительные диапазоны уровня экспрессии были определены на основании расчёта квартилей (Q1, Q3).

Notes: Significant results are highlighted in gray (at $p \leq 0.05$ according to Fisher's exact test). Comparative expression ranges were determined based on quartile calculations (Q1, Q3).

Таблица 3. Распределение частот генотипов полиморфных маркеров *G894T*, *C774T*, *T786C* гена *eNOS* в зависимости от уровня экспрессии *IL-1 β* в клетках слизистой цервикального канала

Table 3. Distribution of genotype frequencies of polymorphic markers *G894T*, *C774T*, *T786C* of the *eNOS* gene depending on the level of *IL-1 β* expression in the cells of the cervical canal mucosa

Исследуемая группа Study group Генотип Genotype		Экспрессия отсутствует No expression	Более 0,0 More than 0,0
		Частота Frequency	Частота Frequency
<i>G894T</i>	<i>GG</i>	0,75	0,64
	<i>GT</i>	0,25	0,32
	<i>TT</i>	0,0	0,04
<i>C774T</i>	<i>CT</i>	0,17	0,27
	<i>CC</i>	0,83	0,68
	<i>TT</i>	0,0	0,04
<i>T786C</i>	<i>TC</i>	0,33	0,68
	<i>TT</i>	0,58	0,18
	<i>CC</i>	0,08	0,14

Примечания: Серым цветом выделены достоверно значимые результаты (при $p \leq 0,05$ по тесту Фишера). Сравнительные диапазоны уровня экспрессии были определены на основании расчёта квартилей (Q1, Q3).

Notes: Significant results are highlighted in gray (at $p \leq 0.05$ according to Fisher's exact test). Comparative expression ranges were determined based on quartile calculations (Q1, Q3).

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Махортова Ксения Алексеевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Адрес: 105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а

Тел.: 8 (968) 378-53-95

ORCID: 0009-0007-1459-3854

SPIN: 7764-4777

e-mail: makhortovakseniy20@mail.ru

Makhortova K.A. - Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Address: 5a Maly Kazenny Lane Moscow 105064 Russian Federation

Tel.: 8 (968) 378-53-95

ORCID: 0009-0007-1459-3854

SPIN: 7764-4777

e-mail: makhortovakseniy20@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Крыжная А.Д. – студент 6 курса кафедры биологической химии и биотехнологий Института цифрового биодизайна и искусственного интеллекта в медицине. ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия.

Kryzhnaya A.D. - Student of the Department of Biological Chemistry and Biotechnology at the Institute of Digital Biodesign and Artificial Intelligence in Medicine. I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

ORCID:

0009-0004-0042-4468

e-mail: KryzhLina13@mail.ru

Лапина П.А. – студент 6 курса кафедры биологической химии и биотехнологий Института цифрового биодизайна и искусственного интеллекта в медицине. ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия.

Lapina P.A. - Student of the Department of Biological Chemistry and Biotechnology at the Institute of Digital Biodesign and Artificial Intelligence in Medicine. I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

ORCID:

0009-0001-8525-2500

e-mail: polinalapina.a@mail.ru

Свитич О.А. – д.м.н., профессор РАН, академик РАН, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»; профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А.А. Воробьева ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия.

Svitich O.A. - PhD, MD (Medicine), Professor of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera; Professor, A. Vorobyov Department of Microbiology, Immunology and Virology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

ORCID:

0000-0003-1757-8389;

eLibrary

SPIN:

8802-5569;

e-mail: svitichoa@yandex.ru

Маркова Э.А. - к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии Института хирургии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Markova E.A. - MD, Cand. Sci. (Medicine); Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Surgery, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation

ORCID:

0000-0002-9491-9303;

eLibrary

SPIN:

8226-2434;

e-mail: markova.eleonora@mail.ru

Доброхотова Ю.Э. - д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии Института хирургии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, лауреат премии Правительства России в области науки и техники, заслуженный врач Российской Федерации

Dobrokhotova Y.E. - MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor; Head of the Department of Obstetrics and Gynecology at the Institute of Surgery at the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Russian Ministry of Health, laureate of the Russian Government Prize in Science and Technology, and Honored Doctor of the Russian Federation

ORCID:

0000-0002-7830-2290;

eLibrary

SPIN:

2925-9948;

e-mail: pr.dobrohotova@mail.ru

Цымбал А.А. – д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии. Заместитель директора Института цифрового биодизайна и ИИ в медицине, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Tsymbol A.A. - MD, Professor, Department of Pathological Physiology. Deputy Director of the Institute of Digital Biodesign and AI in Medicine. I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

ORCID:

0000-0002-2928-1067;

eLibrary

SPIN:

8328-4966

e-mail: tsymbal_a_a@staff.sechenov.ru

Блок 3. Метаданные статьи

ИЗМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ IL-1B, TNFA И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

CHANGES IN THE MOLECULAR GENETIC PROFILE OF IL-1B, TNFA, AND ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE IN WOMEN WITH RECURRENT MISCARRIAGE

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

IMMUNOLOGICAL FEATURES OF MISCARRIAGE

Ключевые слова: экспрессия генов, невынашивание беременности, полиморфизм генов, врожденный иммунитет, эндотелиальная синтаза оксида азота, провоспалительные цитокины.

Keywords: gene expression, miscarriage, gene polymorphism, innate immunity, endothelial nitric oxide synthase, proinflammatory cytokines.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 9,

Количество таблиц – 3,

Количество рисунков – 0.

23.06.2026

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Абрамова Н.Д., Меремьянина Е.А., Калюжная Н.О., Поддубиков А.В., Костинов М.П., Греченко В.В., Свитич О.А. Экспрессия и продукция цитокинов у пациентов с тяжелым течением SARS-CoV-2 // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 4. С. 603-610.	Abramova N.D., Meremyanina E.A., Kalyuzhnaya N.O., Poddubikov A.V., Kostinov M.P., Grechenko V.V., Svitich O.A. Cytokine expression and production in severe cases of SARS-CoV-2 infection. Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology, 2023, Vol. 26, no. 4, pp. 603-610. (In Russ.)	doi:10.46235/1028-7221-13957-CEA
2	Замятина С.В., Ельчанинова С.А., Раевских В.М., Дударева Ю.А., Раченкова Т.В. Цитокины при нормальном течении беременности и невынашивании // Проблемы репродукции, 2024. Т. 30, № 1. С. 72-81.	Zamyatina S.V., Elchaninova S.A., Raevskikh V.M., Dudareva Yu.A., Rachenkova T.V. Cytokines in normal pregnancy and recurrent pregnancy loss. Problemy reproduktivnoy = Russian Journal of Human Reproduction, 2024, Vol. 30, no. 1, pp. 72-81. (In Russ.)	doi:10.17116/repro20243001172
3	Макаров О.В., Бахарева И.В., Ганковская Л.В., Романовская В.В., Ганковская О.А. TOLL-подобные рецепторы в генезе невынашивания беременности // Акушерство и гинекология, 2008. №2. С. 22-27.	Makarov O.V., Bakhareva I.V., Gankovskaya L.V., Romanovskaya V.V., Gankovskaya O.A. TOLL-like receptors in the genesis of Miscarriage. J. Akusherstvo i ginekologiya = Russian Obstetrics and gynecology, 2008, no. 1, pp. 22-27. (In Russ.)	-

4	Свитич О.А., Краснопрошина Л.И., Ганковская Л.В., Шибина Л.В., Зайцева И.А. Исследование изменения уровней экспрессии генов TLRs в эпителиальных клетках цервикального канала женщин с воспалительными заболеваниями органов малого таза // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 3. С. 269-274.	Svitich O.A., Krasnoproshina L.I., Gankovskaya L.V., Shibina L.V., Zaitseva I.A. Changes of TLR gene expression in cervical epithelium from the patients with urogenital inflammatory diseases. J. Meditsinskaya Immunologiya = Russian Medical Immunology, 2015, Vol. 17, no. 3, pp. 269-274. (In Russ.)	http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2015-3-269-274
5	Banerjee P., Jana S.K., Pasricha P., Ghosh S., Chakravarty B., Chaudhury K. Proinflammatory cytokines induced altered expression of cyclooxygenase-2 gene results in unreceptive endometrium in women with idiopathic recurrent spontaneous miscarriage. J. Fertil Steril., 2013, Vol. 99, no. 1, pp. 179-187.	-	doi:10.1016/j.fertnstert.2012.08.034
6	Budani M.C., Tiboni G.M. Novel insights on the role of nitric oxide in the ovary: a review of the literature. J. Environ Res Public Health, 2021, Vol. 18, no. 3, pp. 980.	-	doi: 10.3390/ijerph18030980
7	El Far M., El Sayed I.H., El Motwally A.E., Hashem I.A., Bakry N. Serum levels of TNF-alpha and antioxidant enzymes and placental TNF-alpha expression in unexplained recurrent spontaneous	-	doi: 10.1007/BF03179068

	miscarriage. J. Physiol. Biochem., 2009, Vol. 65, no. 2, pp. 175-181.		
8	Erlebacher A. Immunology of the maternal–fetal interface. J. AnnuRev Immunol., 2013, Vol. 31, pp. 387–411.	-	https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-100003
9	Haider S., Knofler M. Tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. J. Placenta, 2009, Vol. 30, no. 2, pp. 111-123.	-	doi:10.1016/j.placenta.2008.10.012
10	Hamasaed D.K., Jalal P.J. C3 and TNF-a as potential biomarkers in recurrent spontaneous abortion: insights from integrated protein and gene expression analysis. J. Mol Biol Rep., 2026, Vol. 53, no. 1, pp. 313.	-	doi: 10.1007/s11033-026-11480 z
11	Karvela M., Papadopoulou S., Tsaliki E., Konstantakou E., Hatzaki A., Florentin Arar L., Lamnissou K. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in recurrent spontaneous abortions. J. Arch Gynecol Obstet, 2008, Vol. 278, no. 4, pp. 349–352.	-	doi: 10.1007/s00404-008 0577 8
12	Luo Y., Zhu Y., Basang W., Wang X., Li C., Zhou X. Roles of nitric oxide in the regulation of reproduction: a review. J. Front Endocrinol., 2021, Vol. 12.	-	doi: 10.3389/fendo.2021.752410
13	Rodríguez C., Munoz M., Contreras C., Prieto D. AMPK, metabolism, and vascular	-	doi: 10.1111/febs.15863

	function. J. FEBS., 2021, Vol. 288, no. 12, pp. 3746–3771.		
14	Tomkiewicz J., Darmochwał-Kolarz D. The Diagnostics and Treatment of Recurrent Pregnancy Loss. J. Clin Med, 2023, Vol. 12, no. 14, pp. 4768.	-	doi: 10.3390/jcm12144768
15	Tsui K.H., Li H.Y., Cheng J.T., Sung Y.J., Yen M.S., Hsieh S.L., Wang P.H. The role of nitric oxide in the outgrowth of trophoblast cells on human umbilical vein endothelial cells J. Obstet Gynecol., 2015, Vol. 54, no. 3, pp. 227-231.	-	doi: 10.1016/j.tjog.2013.11.010
16	Yu N., Kwak Kim J., Bao S. Unexplained recurrent pregnancy loss: Novel causes and advanced treatment. J. Reprod Immunol, 2023, Vol. 155.	-	doi: 10.1016/j.jri.2022.103785
17	Zhao X., Li Q., Yu F., Lin L., Yin W., Li J., Feng X. Gene polymorphism associated with endothelial nitric oxide synthase (4VNTR, G894T, C786T) and unexplained recurrent spontaneous abortion risk: a meta analysis. J. Medicine, 2019, Vol. 98, no. 4, e14175.	-	doi:10.1097/MD.00000000014175