

Açıklanamayan Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Vitamin D Düzeyi

Cihan Karadağ 
Selçuk Ayas 
Sinem Demircan Karadağ 

Vitamin D Levels in Patients with Unexplained Recurrent Pregnancy Loss

Öz

Amaç: Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) olan hastalarda Vitamin D düzeyini belirlemek amaçlanmıştır.

Yöntem: Altmış beş TGK tanılı hasta etiyolojiyi belirlemek amaçlı araştırıldı. Tüm hastalara son gebelik kaybıyla beraber dilatasyon küretaj (D&C) yapıldı ve gebelik materyalleri fetusta kromozomal anomali olup olmadığını belirlemek amaçlı genetik araştırmaya yönlendirildi. Tüm hastalarda olası kalıtsal ve kazanılmış trombofili varlığı ve olası endokrinopati varlığı araştırıldı. Kontrol grubu olarak 45 sağlıklı gebeliği olan hasta belirlendi. Tüm katılımcılar 25(OH)D, glukoz, prolaktin, TSH ve insülin seviyelerini belirlemek amaçlı kan örneği verdi.

Bulgular: Ondört TGK tanılı hastanın D&C materyalinin incelenmesi sonucunda fetal kromozom anomalisi saptandı. Trombofili tanısı 12 hastaya konuldu. İki hastada intrakaviter anomali saptandı. İki hasta hipotroidi 1 hastada yüksek kan şekeri saptandı. Geriye kalan 34 hasta açıklanamayan TGK hastası olarak değerlendirildi. Açıklanamayan TGK tanılı hastalarda ortalama 25(OH)D seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı ($p=0.022$). ROC curve analizi sonucunda 25(OH)D için cut-off değer 11 ng/mL olduğu görüldü. Spesifite %97.8 sensitivite %29.4 olarak bulundu.

Sonuç: Açıklanamayan TGK hastaları düşük Vitamin D seviyelerine sahipler ve bu sonuç Vitamin D'nin olası gebelik kayıplarında rolü olabileceğini gösterebilir. Vitamin D replasmanının açıklanamayan TGK tanısı almış hastalarda olası gebelik kaybını önleyip önlemediğini gösteren çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar kelimeler: tekrarlayan gebelik kaybı, vitamin D, trombofili

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to determine the vitamin D levels of patients diagnosed with unexplained recurrent pregnancy loss (RPL).

Method: Sixty-five patients with RPL were investigated with the aim to determine the etiology of RPL. All patients underwent dilatation curettage (D&C) and the pregnancy material was sent for genetic examination whether fetus had a chromosomal abnormality. Patients were investigated in terms of inherited and acquired thrombophilia, and potential presence of endocrinopathy. Forty-five pregnant patients who had a healthy fetus were chosen as a control group. All participants gave blood samples to determine the levels of 25(OH)D, glucose, prolactin, TSH and insulin.

Results: Fourteen patients with a diagnosis of RPL had a karyotype abnormality, Twelve patients were diagnosed with thrombophilia, 2 patients had intracavitary uterine abnormalities, 2 patients were diagnosed with hypothyroidism and 1 patient with diabetes mellitus. All of remaining 34 patients were diagnosed with unexplained RPL. The mean 25(OH)D level of unexplained RPL patients was significantly lower than controls ($p=0.022$). According to ROC curve analysis the cut-off level for 25(OH)D was determined as 11 ng/mL. The specificity, and sensitivity of the test were 97.8%, and 29.4%, respectively.

Conclusion: Unexplained RPL patients had lower vitamin D levels. These results may show the possible role of vitamin D recurrent pregnancy losses. Further studies are needed to show whether supplemental vitamin D administration can prevent the onset of pregnancy loss.

Keywords: recurrent pregnancy loss, vitamin D, thrombophilia

Received: 16 January 2019
Accepted: 20 January 2020
Publication date: 31 January 2020

Cite as: Karadağ C, Ayas S, Demircan Karadağ S. Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıplarında vitamin D düzeyi. İKSSTD 2020;12(1):28-33.

Cihan Karadağ
Okan Üniversitesi Hastanesi
Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı
İstanbul - Türkiye
✉ cihankaradag2000@hotmail.com
ORCID: 0000-0002-4984-5739

S. Ayas 0000-0002-9671-4926
Okan Üniversitesi Hastanesi
Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı
İstanbul - Türkiye

S. D. Karadağ 0000-0002-2908-4530
İstanbul Medeniyet Üniversitesi
Göztepe Eğitim ve Araştırma Hast.
Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı
İstanbul - Türkiye

GİRİŞ

Vitamin D eksikliği üreme çağındaki kadınlarda çok yaygın görülen bir problemdir ⁽¹⁾. Vitamin D steroid yapıda bir hormon olup daha çok kalsiyum fosfat homeostazi ve kemik metabolizmasında rol oynadığı bilinmekteydi ⁽²⁾. Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda Vitamin D'nin yalnızca kemik metabolizmasında rol oynamadığı, Vitamin D eksikliğinin kronik hastalıklar, otoimmün hastalıklar, kanser gelişimi, kardiyovasküler enfeksiyöz hastalıklarda da rol alabileceği gösterilmiştir ⁽³⁾. Vitamin D eksikliğine gebelerde çok sık rastlanmaktadır ve sıklığı giderek artmaktadır ⁽⁴⁾. Yakın zamandaki çalışmalar gebelikte Vitamin D eksikliği ile kötü gebelik sonuçları arasında ilişki saptamış, özellikle preeklampsi, gestasyonel diyabet, intrauterin gelişme geriliği, preterm doğum ve spontan abortus ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır ⁽⁵⁻⁸⁾. Vitamin D eksikliğinin önlenilebilir ilk trimester kayıplarına yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur ^(8,9).

Tekrarlayan gebelik kayıpları (TGK), ardışık olarak 2 veya daha fazla gebeliğin, 20. gestasyonel haftadan önce düşük ile sonlanması olarak tanımlanabilir ⁽¹⁰⁾. TGK etyolojisini açıklamak için birçok neden öne sürülmüştür. Bunlar; genetik, anatomik, endokrinolojik (Hipotroidi, Diabetes Mellitus, Hiperprolaktinemi) faktörler, kalıtsal yada kazanılmış trombofililer, plental anomaliler ve enfeksiyöz faktörler olarak sıralanabilir ⁽¹¹⁻¹⁵⁾. Bu gruba ilaveten immünolojik faktörler de, özellikle otoimmün ve alloimmün faktörler, TGK açısından önemli rol oynarlar ⁽¹⁶⁾. Ancak TGK olgularının önemli bir kısmında altta yatan gerçek patofizyolojik neden hâlâ açıklanamamıştır. Vitamin D'nin immün sistem, pankreas beta hücreleri, beyin, kalp ve reproduktif dokular üzerindeki reseptörler aracılığıyla bu dokulardaki hormon sekresyonunun düzenlenmesi, immün yanıtların modülasyonu, hücrelerel diferansiyasyon ve proliferasyonun kontrolü üzerine etkileri artık bilinmektedir ⁽¹⁷⁾. Vitamin D'nin bu immün modülatör etkilerinin implantasyonda, erken gebelikte trofoblast üretiminde, lokal anti-enflamatuar yanıt oluşumunda ve desudializasyonda önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar yapılmıştır ⁽¹⁸⁻²⁰⁾.

Vitamin D'nin gebeliğin erken dönemindeki bu fonksiyonları göz önüne alındığında, eksikliği durumunda açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda etkisinin olabileceği düşünülebilir. Bu çalışma-

nın amacı açıklanamayan TGK tanısı almış hastalarda Vitamin D düzeyini belirlemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma 2016-2018 yılları arasında Okan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde yapılmıştır. Çalışma için 2016 yılı Kasım ayında Marmara Üniversitesi Etik Kurulundan 11.2016.102 protokol numarası ile onay alındı ve çalışmaya katılmaya gönüllü olan tüm hastaların aydınlatılmış rıza belgesi ile onamı alındı. Gebe polikliniğine başvuran, gebeliğin ilk 20 haftası içinde olan, fetal kalp atımının olmadığı belirlenen, daha önce 20. gebelik haftasından önce en az 1 gebelik kaybı yaşamış olan ve bu gebeliğinde Vitamin D replasmanı almayan 65 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastalar TGK tanısı alıp araştırmaya alındı. Tüm hastalara son gebelik kaybında sedoanaljezi altında dilatasyon küretaj yapıldı ve gelen materyaller karyotipleme amaçlı genetik laboratuvarına gönderildi. Tüm hastalardan maternal ve paternal karyotipleme için kan örnekleri alındı. Tüm hastalardan 12 saat açlığı takiben glukoz, insülin, TSH, prolaktin, Vitamin D tetkikleri istendi ile birlikte kalıtsal ve kazanılmış trombofililer panelleri istendi. Faktör 5 Leiden Mutasyonu (FVLM), Protrombin gen mutasyonu (PTGM), Plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1) mutasyonu, Homosistein, Protein C, Protein S, Antitrombin 3, Lupus Antikoagülan, Anti kardiyolipin ve Anti beta 2 glikoprotein seviyeleri istendi. Tüm hastalar dilatasyon küretaj sonrası transvajinal ultrasonografi ile olası intrauterin patoloji (endometrial polip, submuköz myom, intrakaviter septum) açısından değerlendirildi. Şüpheli hastalara histeroskopi yapıldı. Trombofililer paneli testlerinde 12 hastada en az 1 adet homozigot yada heterozigot mutasyon tespit edildiği için çalışmadan çıkartıldı. D&C sonrası incelenen materyallerde 14 hastada kromozom anomalisi saptandığı için çalışmadan çıkartıldı. Hiçbir hastada maternal ve paternal karyotiplemede anormallik saptanmadı. Uterin septum şüphesi nedeniyle yapılan histeroskopi sonrası incelemede 2 hastada septum saptandı ve bu hastalarda çalışmadan çıkartıldı. Hipotroidi 2 hastada belirlendi ve 1 hastada açlık kan şekeri 136 bulundu ve çalışma dışı tutularak Diabetes Mellitus açısından araştırılmak üzere Endokrinoloji bölümüne yönlendirildi. Geriye kalan 34 hastada tekrarlayan gebelik kaybına olası neden olabilecek bir patoloji bulunmadığı için açıklanamayan TGK nedeniyle çalışmaya dahil edildiler.

Kontrol grubuna ise çalışma grubuna uygun eşleşmiş yaş ve vücut kitle indeksine (VKİ) sahip 45 hasta dahil edildi. Kontrol grubu daha önce gebelik kaybı yaşamamış ve bu gebeliğinde de ilerleyen takiplerinde 20. gebelik haftasına kadar kayıp yaşamamış 6-20 haftalık arası ultrasonografik olarak fetal kalp atımı pozitif olan gebelerden oluşturuldu. Çoğul gebeliği olanlar, DM tanısı olanlar, tiroid disfonksiyonu olan hastalar, Sistemik lupus eritamatozus (SLE) ve benzeri sistemik ve kronik hastalığı olan gebeler, 18 yaş altında 35 yaş üstünde olan ve sigara içen gebeler çalışmaya dahil edilmedi. Kötü obstetrik sonuçlarla ilişkili olduğu için VKİ>30 kg/m² olan hastalar da çalışmaya alınmadı ⁽²¹⁾.

Kan örnekleri 8 saat açlığı takiben hastalardan alındı. Serum 25(OH)D seviyesi High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Spectra System, GmbH, Münih, Almanya) aracılığıyla ölçüldü. Prolaktin ve insülin ölçümü electrochemiluminescence immunasay (Elecsys 1010/2010/modular Analytics E170, Roche Diagnostic GmbH, D-68298, Mannheim, Almanya) yöntemi ile yapıldı. TSH ölçümü Unicel Dxl 800 Access Immunassay System (Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA) aracılığıyla yapıldı. Serum glukoz seviyesi enzimatik UV test (Hekzokinaz method, AU5800, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA) yöntemi ile belirlendi.

FVLM, PTGM ve PAI-1 mutasyonları real-time polymerase chain reaction (PCR) yöntemi aracılığıyla MagPurix Blood DNA extraction kit 200 (Zinexts Life Science Corp., Tayvan) belirlendi. Homozigot ve heterozigot mutasyonu çıkmış olan hastalar belirlendi. Protein C, Protein S, AT3, Homosistein ve LA düzeyleri STA-Compact analyzer coagulometry (Diagnostica Stago, Asnieres, Fransa) aracılığıyla belirlendi. Anti kardiyolipin ve Anti beta 2 glikoprote-

in varlığı ELİSA (EUROIMMUN, Lübeck, Almanya) yöntemi ile belirlendi.

İstatiksel analizler IBM SPSS Versiyon 20.0 (Armonk, NY: IBM Corp.) ile yapıldı. Dağılımların parametrik olup olmadığı Kolmogorow-Smirnov analizi ile belirlendi. Nümerik veriler için parametrik dağılımlı analizlerde Student T test, non-parametrik dağılımlarda Mann-Whitney U test kullanıldı. 25(OH)D seviyesinin prediktif anlamının belirlenmesinde, spesifite ve sensitivitenin değerlendirilmesinde "Receiver Operating Characteristic (ROC)" analizi kullanıldı. İstatiksel olarak anlamlılık için p<0.05 sınır alındı.

BULGULAR

Tablo 1'de grupların demografik özellikleri ve biyokimyasal veriler gösterilmiştir. Her iki grup arasında yaş ve VKİ açısından anlamlı farklılık izlenmedi.

Çalışmaya 65 TGK tanılı hasta ile başlandı. D&C materyalinin genetik incelemesi sonucunda 6 fetusda Trizomi 18, 3 fetusda trizomi 13,5 fetusda trizomi 21 tanısı konuldu. Hastalara yapılan kalıtsal ve kazanılmış trombofil paneli testlerinin sonucuna göre; 3 hastada FVLM Heterozigot, 2 hastada FVLM Homozigot, 1 hastada PTGM Heterozigot, 3 hastada Lupus antikoagülan pozitifliği ile beraber Anti Beta 2 glikoprotein IgM pozitifliği, 2 hastada hem Anti-trombin 3 eksikliği hem de protein C eksikliği, 1 hastada protein S eksikliği saptandı.

Gruplar arasında TSH, Prolaktin ve HOMA-IR değerleri arasında anlamlı farklılıklar saptanmadı. TGK tanısı almış hastalarda 25(OH)D düzeyi 13.4±5.2 ng/mL, kontrol grupta ise 19.3±6.7 ng/mL olarak belirlendi ve 25(OH)D düzeyi çalışma grubunda anlamlı derecede kontrol grubuna göre düşük saptandı (p=0.022).

Tablo 1. Demografik ve biyokimyasal bulgular.

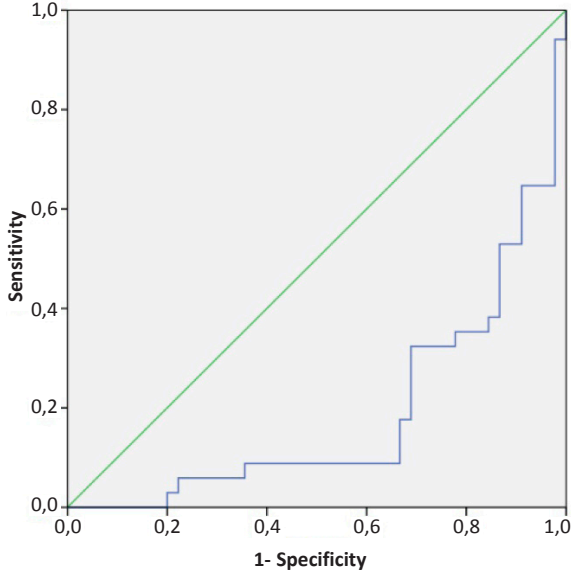
	TGK (n=34)	Kontrol (n=45)	p
Yaş (yıl)	31.2±4.8	30.2±4.5	0.380 ^b
VKİ (kg/m ²)	24.6±1.9	25.2±2.2	0.346 ^b
TSH (uIU/mL)	1.72±0.56	2.01±0.62	0.083 ^a
Açlık Kan Glukozu (mg/dL)	84.6±8.9	81.9±6.2	0.146 ^b
İnsülin (µU/mL)	8.7±2.5	7.7±2.4	0.165 ^b
Prolaktin (ng/mL)	21.8±5.2	19.7±4.8	0.345 ^a
25(OH)D (ng/mL)	13.4±5.2	19.3±6.7	0.022 ^b
HOMA-IR	1.82±1.01	1.56±0.95	0.104 ^b

TGK: Tekrarlayan Gebelik Kaybı, VKİ:Vücut kitle indeksi, TSH:Tiroid stimulating hormone

^a Mann-Whitney

^b Student t test

ROC curve analizi grafiği Resim 1’de gösterilmiştir. ROC curve analiz sonuçlarına göre 25(OH)D düzeyi için cut-off değeri 11 ng/mL olarak belirlendi. Spesifite %97.8 sensitivite %29.4 olarak bulundu.



Şekil 1. 25(OH)D düzeyi için ROC curve analizi, sensitivite ve spesifite değerleri.

TARTIŞMA

Biz bu çalışmada TGK tanısı almış olan hastalarda diğer olası nedenleri dışladıktan sonra nedeni bilinmeyen vakalarda Vitamin D düzeylerini daha önce bilinen abortusu olmayan sağlıklı gebelerle karşılaştırdık ve Vitamin D düzeylerini TGK tanısı almış olan hastalarda anlamlı derecede düşük bulduk.

Son yıllarda Vitamin D eksikliği ve gebelik kayıpları arasındaki ilişkiyi sorgulayan çalışmalar artmıştır. Moller ve ark.’nın (22) yaptığı bir çalışmada Vitamin D düzeylerinin gebelik sonuçları ile ilişkisi değerlendirilmiş olup düşük Vitamin D düzeyleri ile missed abortus arasında bir ilişki bulunmuştur. Schneuer ve ark.’nın (23) yaptıkları bir çalışmada Vitamin D’nin gebelik sonuçlarına etkisi araştırılmış ve Vitamin D eksikliği ile missed abortus arasında bir ilişki saptanmamış. Bu çalışmada 5109 Avusturalyalı gebe yalnızca 10-14 gebelik haftası aralığında Vitamin D seviyesi bakılarak bu haftadan sonraki dönem değerlendirilmiştir, dolayısıyla 14. gebelik haftasından önceki dönemde olası Vitamin D eksikliğine bağlı gelişmiş olabilecek missed abortus vakaları çalışmaya alınmamıştır. Her ne kadar yüksek hasta popülasyonu ile yapılmış olsada bu limitasyondan dolayı bu çalışma

Vitamin D eksikliği ve missed abortus arasındaki ilişkiyi değerlendirmede yetersiz kalmıştır.

Vitamin D’nin immün regülasyonda görev aldığı bilinmektedir (24). Vitamin D reseptörleri bir çok farklı immün hücre üzerinde bulunmakta ve T hücre aktivasyonunun kontrolünde rol almaktadır (25,26). Vitamin D’nin T helper 1 reseptörlerini down regüle ettiği gösterilmiştir, ve bu özelliğinin yinelenen gebelik kayıplarında immünoterapi olarak kullanılabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (27,28). Yine bu çalışmalarda Vitamin D’nin TNF alfa, IL-6 gibi proinflatuar sitokinlerin plasentadan salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı Vitamin D sitokinler ve inflammatuar yanıt üzerine baskılayıcı etkilerinden dolayı plasentada oluşması muhtemel immün cevabı engelleyerek gebeliğin devamını sağlamada rol aldığı düşünülebilir (19).

Ota ve ark.’nın (29) yaptığı bir çalışmada 133 TGK tanılı hastada 25(OH)D<30 ng/mL olan hastalarda artmış otoimmün yanıt ve anormal hücrel immünite artışı rapor edilmiştir. Bu çalışmada TGK tanılı hastalarda Vitamin D’nin olası rolünün mutlaka değerlendirilmesi ve Vitamin D replasmanının TGK tanılı hastalarda tedavinin bir parçası olması gerektiği vurgulanmıştır. Vitamin D eksikliğinin artmış bakteriyel vajinosis ile ilişkili olduğu ve bununda TGK, preterm doğum gibi gebelik komplikasyonları ile ilişkisi de bilinmektedir (30,31). Andersen ve ark. (8) tarafından yapılan bir çalışmada Vitamin D eksikliği ile birinci trimester gebelik kayıpları arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu ifade edilmiştir. Fakat bu çalışmada 2. trimester gebelik kayıpları ile bir ilişki bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda biz 20 hafta altı gebeliklerde gebelik kaybı yaşayanları çalışmaya dahil ettik, 1. ve 2. trimester olarak ayırmadık. Zaten daha önceki çalışmalarda vurgulanan Vitamin D’nin lokal antiinflammatuar yanıt oluşumu ve immünolojik etkisi göz önüne alındığında, çalışmada saptanmış olana ilk trimester missed abortus oranı ve Vitamin D eksikliği arasındaki ilişki literatür ile uyumlu bulunmuştur. Çalışmamızda yaptığımız analizlerde Vitamin D düzeyinin belirlenmesinde spesifitenin oldukça yüksek olduğu ve sensitivitenin düşük olduğu göze çarpmaktadır. Her ne kadar çalışmamızda TGK tanılı hastalarda Vitamin D düzeyi anlamlı olarak düşük çıkmış olsada düşük sensitivite sonuçların değerlendirilmesinde bir dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır.

Her ne kadar bizim çalışmamız nedeni bilinmeyen

TGK tanılı hastalarda Vitamin D'nin anlamlı olarak düşük olduğunu gösterecek çalışmaya katılan hasta popülasyonunun sayıca sınırlı olduğu unutulmamalıdır. Çalışmamızdaki bir diğer limitasyon ise Vitamin D'nin eksikliğinden dolayı olası artmış immün cevabın gösterilmesini sağlayan TNF alfa, IL ve NK hücrelerin kanda yada endometriumda arttığının gösterilememesidir. Fakat biz bu çalışmada yalnızca nedeni bilinmeyen TGK tanılı hastalarda Vitamin D seviyelerini belirlemeyi amaçlamıştık.

Sonuç olarak; TGK'nın bir çok farklı nedeni olabilmektedir. Bizim çalışmamızda açıklanamayan TGK tanılı hastalarda Vitamin D sağlıklı gebeliği olanlara göre düşük saptanmıştır. Olası nedenler dışlandıktan sonra TGK'nın araştırılmasında Vitamin D unutulmamalıdır. Vitamin D'nin immün regülasyondaki rolü göz önüne alındığında bundan sonraki çalışmalarda Vitamin D eksikliği saptanmış TGK tanılı hastalarda kanda ve endometriumda olası artmış immün yanıt araştırılmalı ve Vitamin D replasmanının bu immün yanıt üzerine etkisi bir sonraki gebelikte ortaya konarak Vitamin D'nin TGK daki rolü ortaya konmalıdır.

Etik Kurul Onayı: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 11.2016.102 protokol numarası ile onay alındı.

Çıkar Çatışması: Çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: Finansal destek yoktur.

Hasta Onamı: Her hastadan bilgilendirilmiş onay alınmıştır.

Ethics Committee Approval: Approval was obtained from Marmara University Faculty of Medicine Ethics Committee with protocol number 11.2016.102.

Conflict of Interest: There is no conflict of interest.

Funding: There is no financial support.

Informed Consent: Informed consent was obtained from each patient.

KAYNAKLAR

1. Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA, Schleicher RL, Picciano MF, Yetley EA. Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1988-1994 compared with 2000-2004. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2008;88(6):1519-27. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26182>
2. Halloran BP, Portale AA, Loneragan ET, Morris Jr C. Production and metabolic clearance of 1, 25-dihydroxyvitamin D in men: effect of advancing age. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1990;70(2):318-23. <https://doi.org/10.1210/jcem-70-2-318>
3. Holick MF. Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*. 2007;357(3):266-81. <https://doi.org/10.1056/NEJMr070553>
4. Johnson DD, Wagner CL, Hulsey TC, McNeil RB, Ebeling M, Hollis BW. Vitamin D deficiency and insufficiency is common during pregnancy. *American Journal of Perinatology*. 2011;28(01):007-12. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1262505>
5. Clifton-Bligh R, McElduff P, McElduff A. Maternal vitamin D deficiency, ethnicity and gestational diabetes. *Diabetic Medicine*. 2008;25(6):678-84. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2008.02422.x>
6. Robinson CJ, Wagner CL, Hollis BW, Baatz JE, Johnson DD. Maternal vitamin D and fetal growth in early-onset severe preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2011;204(6):556. e1- e4. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2011.03.022>
7. Bodnar LM, Catov JM, Zmuda JM, Cooper ME, Parrott MS, Roberts JM, et al. Maternal Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations Are Associated with Small-for-Gestational Age Births in White Women-3. *The Journal of Nutrition*. 2010;140(5):999-1006. <https://doi.org/10.3945/jn.109.119636>
8. Andersen LB, Jørgensen JS, Jensen TK, Dalgård C, Barington T, Nielsen J, et al. Vitamin D insufficiency is associated with increased risk of first-trimester miscarriage in the Odense Child Cohort-2. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2015;102(3):633-8. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.103655>
9. Christesen HT, Falkenberg T, Lamont RF, Jørgensen JS. The impact of vitamin D on pregnancy: a systematic review. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2012;91(12):1357-67. <https://doi.org/10.1111/aogs.12000>
10. Medicine PCotASfR. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertility and Sterility*. 2013;99(1):63. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.023>
11. Jauniaux E, Farquharson RG, Christiansen OB, Exalto N. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Human Reproduction*. 2006;21(9):2216-22. <https://doi.org/10.1093/humrep/del150>
12. Daya S. Efficacy of progesterone support for pregnancy in women with recurrent miscarriage. A meta-analysis of controlled trials. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1989;96(3):275-80. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.1989.tb02386.x>
13. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1996;174(5):1584-9. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(96\)70610-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(96)70610-5)
14. Christiansen OB, Andersen A-MN, Bosch E, Daya S, Delves PJ, Hviid TV, et al. Evidence-based investigations and treatments of recurrent pregnancy loss. *Fertility and Sterility*. 2005; 83(4):821-39. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.12.018>
15. Munné S, Chen S, Fischer J, Colls P, Zheng X, Stevens J, et al. Preimplantation genetic diagnosis reduces pregnancy loss in women aged 35 years and older with a history of recurrent miscarriages. *Fertility and Sterility*. 2005;84(2):331-5. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.02.027>
16. Kwak-Kim JY, Gilman-Sachs A, Kim CE. T helper 1 and 2 immune responses in relationship to pregnancy, nonpregnancy, recurrent spontaneous abortions and infertility of repeated implantation failures. *Immunology of Gametes and Embryo Implantation*. 88: Karger Publishers; 2005. p. 64-79. <https://doi.org/10.1159/000087821>
17. Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol-vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal*. 2009;2(75):re4-re. <https://doi.org/10.1126/scisignal.275re4>

18. 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. *Molecular Endocrinology*. 2005;19(9):2222-33. <https://doi.org/10.1210/me.2004-0336>
19. Díaz L, Noyola-Martínez N, Barrera D, Hernández G, Avila E, Halhali A, et al. Calcitriol inhibits TNF- α -induced inflammatory cytokines in human trophoblasts. *Journal of Reproductive Immunology*. 2009;81(1):17-24. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.02.005>
20. Barrera D, Avila E, Hernández G, Méndez I, González L, Halhali A, et al. Calcitriol affects hCG gene transcription in cultured human syncytiotrophoblasts. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2008;6(1):3. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-6-3>
21. Sebire NJ, Jolly M, Harris J, Wadsworth J, Joffe M, Beard R, et al. Maternal obesity and pregnancy outcome: a study of 287 213 pregnancies in London. *International Journal of Obesity*. 2001;25(8):1175. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801670>
22. Møller U, Streym S, Heickendorff L, Mosekilde L, Rejnmark L. Effects of 25OHD concentrations on chances of pregnancy and pregnancy outcomes: a cohort study in healthy Danish women. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2012; 66(7):862. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.18>
23. Schneuer FJ, Roberts CL, Guilbert C, Simpson JM, Algert CS, Khambalia AZ, et al. Effects of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the first trimester on subsequent pregnancy outcomes in an Australian population-. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2013;99(2):287-95. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.065672>
24. Lagishetty V, Liu NQ, Hewison M. Vitamin D metabolism and innate immunity. *Molecular and cellular endocrinology*. 2011;347(1-2):97-105. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.04.015>
25. Hewison M. Vitamin D and immune function: autocrine, paracrine or endocrine? *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2012;72(sup243):92-102. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/00365513.2012.682862>
26. Von Essen MR, Kongsbak M, Schjerling P, Olgaard K, Ødum N, Geisler C. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nature immunology*. 2010;11(4):344. <https://doi.org/10.1038/ni.1851>
27. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nature Reviews Rheumatology*. 2008;4(8):404. <https://doi.org/10.1038/ncprheum0855>
28. Bubanovic I. 1 α , 25-dihydroxy-vitamin-D3 as new immunotherapy in treatment of recurrent spontaneous abortion. *Medical hypotheses*. 2004;63(2):250-3. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2003.11.037>
29. Ota K, Dambaeva S, Han A-R, Beaman K, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity. *Human reproduction*. 2013;29(2):208-19. <https://doi.org/10.1093/humrep/det424>
30. Bodnar LM, Krohn MA, Simhan HN. Maternal vitamin D deficiency is associated with bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy. *The Journal of Nutrition*. 2009;139(6):1157-61. <https://doi.org/10.3945/jn.108.103168>
31. Hay PE, Lamont RF, Taylor-Robinson D, Morgan DJ, Ison C, Pearson J. Abnormal bacterial colonisation of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage. *BMJ* 1994;308(6924):295-8. <https://doi.org/10.1136/bmj.308.6924.295>