НАО «Западно-Казахстанский медицинский университет» имени Марата

Оспанова

УДК: 616.71-053.36(574):378.245.2 На правах рукописи

### КИМ ИРИНА СЕРГЕЕВНА

**Клинические и генетические маркеры костного метаболизма у детей до года в казахской популяции**

8D10102 - Медицина

Диссертация на соискание степени доктора философии (PhD)

Научный консультант д.м.н., проф.

Жумалина А.К.

Зарубежный консультант MD, PhD, проф. Anna Mania

медицинский университет им. Кароля Марцинковского (Польша)

Республика Казахстан Актобе, 2024

### СОДЕРЖАНИЕ

|  |  |
| --- | --- |
| НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ | 3 |
| ОПРЕДЕЛЕНИЯ | 4 |
| ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ | 5 |
| ВВЕДЕНИЕ | 6 |
| 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР | 12 |
| 1.1 Метаболизм костной ткани | 12 |
| 1.2 Ремоделирование костной ткани | 14 |
| 1.3 Биохимические маркеры метаболизма костной ткани | 16 |
| 1.4 Влияние витамина D на костный метаболизм | 19 |
| 1.5 Полиморфизмы генов VDR, RANKL в патологии костной системы | 24 |
| 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ | 28 |
| 2.1 Характеристика исследования | 28 |
| 2.2 Анамнестическое и клиническое обследование детей | 31 |
| 2.3 Лабораторное обследование детей на костный метаболизм | 32 |
| 2.4 Обследование детей на определение полиморфизма генов VDR, RANKL | 33 |
| 2.5 Статистические методы исследования | 34 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ | 36 |
| 3.1 Характеристика анамнеза и клинико-лабораторное обследование детей до 1 года включённых в исследование | 36 |
| 3.1.1 Анамнестическое обследование детей до 1 года включённых в исследование | 36 |
| 3.1.2 Клиническое обследование детей до 1 года включённых в исследование | 37 |
| 3.1.3 Лабораторное обследование детей до 1 года включённых в исследование | 38 |
| 3.2 Диагностическая значимость показателей костного метаболизма и витамина D у детей первого года жизни в казахской популяции | 44 |
| 3.3 Частота аллельных вариантов гена VDR, RANKL и показатели костного метаболизма у детей до года в казахской популяции | 49 |
| 3.4 Алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей | 65 |
| 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ | 71 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 79 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ | 80 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ | 81 |
| ПРИЛОЖЕНИЯ | 96 |

### НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты: ГОСТ 7.32-2001 (изменения от 2006 г.). Отчет о научно-

исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание.

Общие требования и правила составления

Закон Республики Казахстан. О науке: принят 18 февраля 2011 года, №407- IV (с изменениями и дополнениями по состоянию на 01.01.2022 г.).

Приказ Министра образования и науки Республики Казахстан от 31 октября 2018 года № 604. Зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 1 ноября 2018 года № 17669.

ГОСТ 7.32-2017 (Межгосударственный стандарт). Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно- исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 15.101-98 (Межгосударственный стандарт). Система разработки и постановки продукции на производство. Порядок выполнения научно- исследовательских работ.

ГОСТ 7.12-93 – Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.54-88 – Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Представление численных данных о свойствах веществ и материалов в научно-технических документах. Общие требования.

ГОСТ 8.417-2002. Государственная система обеспечения единства измерений. Единицы величин.

### ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

**Аллель** - форма гена, содержащая информацию о том или ином варианте развития контролируемого им признака.

**Генетический маркер** – ген, детерминирующий отчетливо выраженный фенотипический признак, используемый для генетического картирования и индивидуальной идентификации организма или клеток.

**Генетический полиморфизм** - разнообразие частот аллелей гомозигот, которые заключаются в незначительных вариациях «генетического» кода одного и того же гена.

**Генотип** – сложная система, включающая совокупность всех генов и аллелей, а также виды взаимодействий между ними, их взаимное расположение в генетическом материале с учѐтом хромосомных перестроек.

**Генотипирование** - процесс определения генотипа. Гетерозигота - два разных аллеля данного гена. Гомозигота - два идентичных аллеля данного гена. **Доверительный интервал** (confidence interval) - 95%-ный доверительный интервал показывает, что с вероятностью 95% истинное

значение параметра в популяции находится в пределах этого интервала.

**Достоверность** - характеристика, указывающая на степень соответствия полученных результатов измерений истинным значениям для выборки.

**Однонуклеотидный полиморфизм** - (ОНП, англ. Single nucleotide polymorphism, SNP) - различие в последовательности одного нуклеотида ДНК в геноме представителя вида или между гомологичными участками гомологичных хромосом.

**Отношение шансов** - (ОШ, англ. OR, odds ratio) статистический показатель, используемый в эпидемиологических исследованиях для сравнения частоты воздействия факторов риска. Отношение шансов - это ретроспективное сравнение влияния данного фактора риска на две популяции.

**Генетический полиморфизм -** это генетический вариант, который остается неизменным и наследуется на протяжении всей жизни.

### ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота

ВОЗ- Всемирная организация здравоохранения ДНК - дезоксирибонукдеиновая кислота ДПИД- дезоксипиридинолин

КТ- компьютерная томография МПК- минеральная плотность кости ОК-остеокальцин

ПТГ- паратиреодный гормон

ПЦР-полимеразная цепная реакция США- Соединенные Штаты Америки Са – химический элемент кальций

СI – доверительный интервал Р- химический элемент фосфор

RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) - активатор рецептора ядерного фактора каппа - Β лиганд

Rs - обозначение полиморфизмов по референсному сиквенсу человека VDBP (Vitamin D-binding protein)- витамин D-связывающий протеин VDR (Vitamin D receptor) - рецептор витамина D

25(OH)D3- 25-гидроксихолекальциферол

### ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования**

В настоящее время проблема потери костной массы представляет собой актуальную медико-социальную проблему, в связи с чем, является объектом повышенного внимания со стороны исследователей различного направления.

Остеопороз характеризуется снижением костной массы и нарушением структуры костной ткани, повышением их хрупкости и увеличением риска переломов.Снижение костной массы, не сопровождающееся нарушением архитектоники, рассматривается как «остеопения» [1–3].

Состояние костной ткани является показателем, отражающим функциональное состояние и общий уровень здоровья ребенка [4]. Общая картина изменения костной массы у человека подразумевает ее рост в детские годы, достижением максимума в 20-летнем возрасте, затем стабилизацией и постепенным снижением после 35 лет, что в конечном итоге приводит к развитию остеопороза [4].

Остеопороз имеет высокую распространенность: в Соединенных Штатах примерно 10 миллионов людей страдают этой болезнью, а дополнительно 18 миллионов испытывают проблемы с потерей костной массы. Проведенное в Центре здоровья детей в Москве исследование денситометрии среди 1000 школьников показало, что в 40% случаев наблюдается пониженная плотность костной ткани [5,6]. В Западном Казахстане при обследовании 396 здоровых подростков в возрасте от 12 до 17 лет в 70% случаев была выявлена остеопения [7,8].

В детском развитии существуют критические периоды. Именно в них наблюдается значительная активность биологических процессов. Эти этапы характеризуются ускоренным и интенсивным ростом костей скелета на фоне линейного роста и развития костной ткани. К критическим периодам относятся первый год жизни, возраст 5-7 лет и подростковый период [9]. В связи с этим очень важно оценить возрастные особенности костного метаболизма, особенно в критические периоды роста, а именно в первый год жизни [10].

Обсуждается роль генетических факторов в модуляции риска развития нарушений костного метаболизма. Многочисленные исследования продемонстрировали, что около 60-80% максимальной костной массы и темпы ее утраты определяются генетическими факторами [11,12]. Согласно имеющимся публикациям, генетические факторы также оказывают влияние на концентрацию 25(OH)D в сыворотке крови [13,14]. Влияние генотипа на колебания уровня 25(OH)D варьирует от 23% до 80% [15]. В качестве основных кандидатов на роль ключевых генов были выделены те, мутации в которых сказываются на значении 25(OH)D. К ним относят: CYP2R1, CYP27B1,GC фВР, CYP24A1, VDR и DHCR7/ NADSYN1 [16]. Имеются также данные, что ген RANKL является биомаркером для пациентов с нарушением процессов метаболизма [17].

Роль генетических факторов при остеопенических состояниях доказана во

многих исследованиях. Однако остается достаточно вопросов о вкладе конкретных генов, контролирующих рост и развитие костей, в зависимости от возраста и этнической принадлежности.

Подобные исследования у детей в казахской популяции не проводились. С учетом вышесказанного, актуальным представляется исследование частотного распределения генотипов и аллелей для молекулярно-генетического тестирования по полиморфизмам генов VDR (rs2228570, rs1544410) и RANKL (rs9594759, rs9594738). Также важным является анализ взаимосвязи между этими молекулярно-генетическими маркерами и показателями костного метаболизма с целью создания диагностических алгоритмов.

### Цель исследования

Изучить полиморфизм генов VDR (rs2228570, rs1544410) и RANKL (rs9594759, rs9594738) и их вклад в костный метаболизм у детей до года в казахской популяции.

### Задачи исследования

1. Исследовать состояние костного метаболизма (остеокальцин, витамин D, Са, Р, кальцитонин, паратиреодный гормон, дезоксипиридинолин) у детей до года в казахской популяции.
2. Определить частоту аллельных вариантов генов VDR (rs2228570, rs1544410) и RANKL (rs9594759, rs9594738) у детей до года в казахской популяции.
3. Оценить связь между наличием аллельного полиморфизма генов VDR (rs2228570, rs1544410) и RANKL (rs9594759, rs9594738) и показателями костного метаболизма.
4. Разработать алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей.

### Научная новизна

1. Впервые определен уровень обеспеченности витамином D детей до года казахской популяции в г. Актобе. Показана высокая частота витамин D– дефицитного состояния с максимальной выраженностью у детей периода новорожденности.
2. Впервые изучена частота различных аллельных вариантов генов VDR (rs1544410, rs2228570), RANKL (rs9594738, rs9594759) у детей до года казахской популяции.
3. Впервые доказана взаимосвязь полиморфизмов генов VDR (rs1544410, rs2228570), RANKL (rs9594738, rs9594759) и показателями костного метаболизма у детей до года в казахской популяции.
4. Впервые разработан алгоритм для донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей до года казахской популяции.

### Теоретическая и практическая значимость

* 1. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать количественное определение сывороточного витамина D и остеокальцина в качестве маркеров доклинической диагностики нарушений костного метаболизма у детей первого года жизни в казахской популяции.
  2. Генотипирование полиморфизмов генов рекомендуется к применению в практической медицине для прогнозирования риска нарушения костного метаболизма.
  3. Предложен к применению алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей до года в казахской популяции. Результаты проведенного обследования, внедрены в практическое здравоохранение. Имеются акты внедрения «Алгоритм донозологической диагностики ннарушений костного метаболизма у детей до года»:

- №7 от 10.10.2023г в ГКП «Городская поликлиника №2» на ПХВ ГУ УЗ Актюбинской области

- №8 от 10.10.2023г в ТОО ТТиК

Возможные области применения: педиатрия, генетика, неонатология.

### Основные положения, выносимые на защиту

1. Выявлены достоверные различия в уровнях показателей костного метаболизма, таких как общий кальций (р<0,001), фосфор (p<0,01), кальцитонин (p<0,001), остеокальцин (р<0,01) и витамин D (р<0,001) в различных возрастных группах.
2. Установлено, что частота генотипа GG rs1544410 полиморфного варианта гена VDR у детей до года в казахской популяции составляет 59%. В то время как, частота генотипа СС rs9594759 полиморфизма гена RANKL варьирует в пределах 43%. Возможным маркером повышенного риска развития нарушения костного метаболизма у детей до года в казахской популяции является наличие генотипа GG (p<0,05) rs1544410 полиморфизма гена VDR.
3. Выявлена достоверная средняя связь носительства генотипа GG (p<0,05) rs1544410 полиморфного варианта гена VDR со сниженным уровнем витамина D и фосфора у детей до года в казахской популяции. Обнаружена статистически значимая средняя корреляция между наличием генотипа CT rs9594759 полиморфизма гена RANKL и концентрацией кальцитонина у детей этой же группы.

### Апробация работы

Основные положения диссертации были представлены на расширенном заседании Научной проблемной комиссии ЗКМУ имени Марата Оспанова.

Результаты проведенного исследования были доложены

1. Международная научно-практическая конференция «Современная медицина: новый подход и актуальные исследования» среди медицинских организаций образования Казахстана, ближнего и дальнего зарубежья, приуроченная ко дню Всемирного дня борьбы с остеопорозом, г. Актобе,

20.10.2021г.

Доклад: «Полиморфизм генов, ассоциированный с риском развития гиповитаминоза D у детей раннего возраста казахской популяции».

1. IV Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием в рамках информационного проекта Министерства здравоохранения Саратовской области и ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Мин. России «Актуальные проблемы современной педиатрии», г.Саратов, 23.10.2021г. Доклад: «Генетический полиморфизм недостаточности витамина D у детей казахской популяции».
2. VII Международная научно-практическая конференция прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины», г.Астрахань, 24- 25.11.2022г. Доклад: «Маркеры нарушений костного метаболизма у детей казахской популяции».
3. Клиническая конференция с международным участием, ЗКМУ имени Марата Оспанова «Функциональные расстройства желудочно-кишечного тракта у детей до года», г.Актобе, 31.01.2023г. Доклад: «Статус витамина D у детей до года при различных видах вскармливания».
4. 1-й международный форум «Asfen. Forum, Новое поколение-2023», г.Алматы, 05.06.2023г. Доклад: «Диагностическая значимость остеокальцина в качестве маркера нарушений костного метаболизма у детей до года казахской популяции».
5. XVI международная научно-практическая конференция им. Атчабарова Б.А. «Экология. Радиация. Здоровье», посвященная 70-летию НАО

«Медицинский университет Семей», г.Семей, 28-29 августа 2023 г. Доклад:

«Уровень витамина D и частота аллельных вариантов гена RANKL у детей до года в казахской популяции».

### Публикации по теме диссертации

Опубликовано 17 научных работ:

3 статьи в изданиях индексированных в информационной базе Scopus.

* The Importance of Determining the Level of Bone Metabolism Markers and Vitamin D in the First Year of Life in the Kazakh Population// Akmaral Zhumalina, Balash Tusupkaliev, Anna Mania, Irina Kim, Mairamkul Zharlykasinova //J Pediatr Pharmacol Ther 2024 Vol. 29 No. 4, р. 410-416
* Features of d-vitamin status in young children in the Kazakh population// Akmaral Zhumalina, Irina Kim, Balash Tusupkaliev, Mairamkul Zharlykasinova, Botagoz Zhekeyeva// Polski Merkuriusz Lekarski, volume LII, issue 2, march -april 2024, с. 161-170
* [Vitamin D level and indicators of bone tissue metabolism in kazakh infants](https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85176732720&origin=resultslist)

//[Zhumalina, A.K.](https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57190229200), [Kim, I.S.](https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=58104702400), [Delyagin, W.M.](https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57221995289)//[Russian Family Doctor](https://www.scopus.com/sourceid/21101150441?origin=resultslist), 2023, 27(3), страницы 23–29

3 статьи в журналах рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства образования и науки Республики Казахстан (КОКСНВО):

* Vitamin D receptor gene polymorphism among children//Zhumalina A.,

Tusupkaliev B., Kim I., Zharlykasinova M.//Астана медициналық журналы

№4(106), 2020, с.97-106

* The frequency of allelic variants of the VDR gene and the level vitamin D in children under one year old in the Kazakh population//Zhumalina A., Tusupkaliev B., Kim I., Sakhanova S., Zharlykasinova M.//Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan,2023 Volume 20, Issue 1, С.61-64
* Частота аллельных вариантов гена Rankl и риски нарушений костного метаболизма у детей до года в казахской популяции//А.К. Жумалина, С.К. Саханова, И.С. Ким, Б. Тусупкалиев, М.Б. Жарлыкасинова//«Клиническая медицина и фармакология» №6 (251), 2023, с 55-59

1 патент № 6968 от 14.10.2022 «Способ доклинической диагностики недостаточности витамина D у детей до года» Жумалина Акмарал Канашевна (KZ), Тусупкалиев Балаш (KZ), Ким Ирина Сергеевна (KZ), Анна Марта Мания (PL), Жарлыкасинова Майрамкуль Буркутбаевна (KZ) (Приложение З)

1 методическая рекомендация «Витамин D и костный метаболизм у детей до года» // ISBN 9788-601-80845-8-4 //А.К. Жумалина, Б.Т. Тусупкалиев, И.С. Ким, М.Б. Жарлыкасинова (Приложение И)

1. тезиса - в сборниках Международых научно-практических конференций 2 авторских свидетельства (Приложение Е, Ж):

* №20379 от 22.09.2021 «Vitamin D receptor gene polymorphism among children» Жумалина А.К., Тусупкалиев Б.Т., Ким И.С., Жарлыкасинова М.Б.
* №28675 от 07.09.2022 «Витамин D и костный метаболизм у детей до года» Жумалина А.К., Тусупкалиев Б.Т., Ким И.С., Жарлыкасинова М.Б

1. акта внедрения:

В практическое здравоохранение (Приложение Г, Д):

* «Алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей до года» №7 от 10.10.2023г в ГКП «Городская поликлиника №2» на ПХВ ГУ УЗ Актюбинской области
* «Алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей до года» №8 от 10.10.2023г в ТОО ТТиК

В учебный процесс (Приложение К, Л):

* «Использование показателя витамина D сыворотки крови в оценке уровня нарушения метаболизма у новорожденных» Жумалина А.К., Тусупкалиев Б.Т., Ким И.С. №178 от 25.10.2021г.
* «Полиморфизм генов костного метаболизма у детей до года» Жумалина А.К., Тусупкалиев Б.Т., Замэ Ю.А., Ким И.С. №295 от 06.03.2023г.

Исследование проведено в рамках проектов:

1. «Клинические и генетические маркеры статуса витамина D у новорожденных и детей раннего возраста в казахской популяции». Внутривузовский проект, приказ № 13/2-18-124 от 26.02.2020г.
2. «Клинические и генетические маркеры D витаминного статуса у детей до года казахской популяции». МОН РК. Научно-технический проект ИРН AP09563003 № государственной регистрации 0121РК00543, приказ №255/12- 12 от 15.06.21г.
3. «Клинические и генетические маркеры костного метаболизма у детей казахской популяции». Внутривузовский проект, приказ № 13/2-18-303н/қ от 24.05.2021г.

Личный вклад автора

Автором был проведѐн тщательный анализ научных источников, относящихся к теме диссертации. Все части данной исследовательской работы, включая цели, задачи, программу исследования, обработку статистических данных, интерпретацию полученных результатов, выводы и практические рекомендации, были выполнены автором самостоятельно.

Объем и структура диссертации

Структура и содержание данной диссертации организованы в следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Методы и материалы исследования», «Результаты исследования», «Обсуждение полученных результатов» и «Заключение». Основной текст диссертации занимает 107 страниц и включает 51 таблицу, а также 15 иллюстраций. В списке использованных источников содержится 209 позиций, из которых 162 написаны на английском языке.

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

### Метаболизм костной ткани

Проблема снижения костной массы, в частности, остепения/остеопороз представляют собой важнейший раздел клинической педиатрии, в связи с чем, являются предметом масштабных научных исследований во всем мире.

По определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), остеопороз представляет собой хроническое заболевание системного характера, затрагивающее костную систему. Оно характеризуется уменьшением плотности костной массы и ухудшением еѐ качества. В результате таких изменений наблюдается рост хрупкости костей и повышенная вероятность их переломов.

Состояние, при котором костная масса снижена, но микроархитектоника не нарушена, в настоящее время расценивается как "остеопения" [1,с. 2].

Недостаточная минерализация костной ткани, которая возникает в детские годы, часто становится одной из причин развития остеопороза [14,р. 501]. Это состояние может приводить к утрате трудоспособности у людей в старшем возрасте и считается значительной клинической проблемой. Остеопороз имеет высокую распространенность: в Соединенных Штатах примерно 10 миллионов людей страдают этой болезнью, а дополнительно 18 миллионов испытывают проблемы с потерей костной массы. Проведенное в Центре здоровья детей в Москве исследование денситометрии среди 1000 школьников показало, что в 40% случаев наблюдается пониженная плотность костной ткани [5,р. 153]. В Западном Казахстане при обследовании 396 здоровых подростков в возрасте от 12 до 17 лет в 70% случаев была выявлена остеопения [7,р. 18].

В структуре причин широкой распространенности остеопении у детей значительная роль отводится экзогенным факторам, таким как несбалансированное питание, алиментарный дефицит витамина D, недостаточное поступление с пищей различных микро- и макроэлементов, а также сниженной двигательной активностью [18,19]. Разработка программ по первичной профилактике остеопении и создание соответствующих условий становятся все более важными.

Костная ткань является разновидностью соединительной ткани. Более 60% представлено неорганическими веществами. Органические компоненты составляют около 30% химического состава костной ткани [20].

Клеточный состав костной ткани включает четыре типа клеток: остеобласты, остеокласты, остеоциты и клетки-остеопрогенитаторы. Исследования, проведенные Ward L.M., показывают, что непрерывный процесс синтеза и разрушения костной ткани непосредственно связан с первыми тремя типами клеток [21].

Остеобласты производят остеокальцин, который, согласно исследованиям Fukumoto S., оказывает важное влияние на обмен веществ в организме [22].

К клеткам костной ткани, играющим ключевую роль в естественном процессе резорбции, относятся многоядерные гигантские клетки, известные как

остеокласты. Их активность увеличивается в процессе резорбции, когда они прочно фиксируются на кости. Это создает оптимальные условия для транспортировки необходимых клеточных элементов в зону резорбции. На следующем этапе в область поглощения выделяются ионы водорода и протеолитические ферменты, которые помогают разрушать костную матрицу. В то же время остаточные продукты разрушенного матрикса выводятся из организма [23].

Процесс обновления костной ткани осуществляется через преобразование остеобластов в остеоциты. Главной функцией последних является передача сигналов как к остеобластам, так и к остеокластам. Этот процесс протекает постоянно, как в обычных физиологических условиях, так и при наличии различных патологий [24].

Остеоциты проявляют повышенную активность во время резорбции костной ткани [25]. Они обладают рецепторами, восприимчивыми к ПТГ. Кроме того, синтезируют остеокальцин и фактор роста фибробластов-23. Это позволяет им активно участвовать в регулировании минерального обмена, включая кальций и фосфор [26–28].

Костная ткань осуществляет множество важных физиологических функций. Эти разнообразные способности делают ее многофункциональным типом ткани [29]. Например, кости служат поддержкой для мягких тканей, которые к ним прикрепляются, и участвуют в формировании стенок полостей, где располагаются внутренние органы. Разнообразие длины костей функционирует как рычаги и, в сочетании с мышечно-суставным аппаратом, способствует стабильному передвижению тела в пространстве [30].

Вследствие того, что кость является главной формообразующей тканью внутреннего скелета, эффективно реализуется ее протективная функция. Она заключается в защите жизненно важных органов от механических повреждений.

Структура костной ткани в морфологическом отношении представлена губчатым (трабекулярный) и плотным (пластинчатый) компонентами, каждый из которых имеет свое функциональное назначение.

В частности, функция губчатого вещества заключается в минимизации механического сотрясения в дистальных отделах кости, передаваемого из области суставов, и достигается в силу пористости структуры трабекулярного компонента. Реализация физиологической функции пластинчатого компонента достигается благодаря структуре, устойчивой к изгибам и скручиваниям.

Костная ткань играет важную роль в поддержании стабильности уровней различных химических соединений и микроэлементов в крови.

Функция депонировани костной ткани заключается в еѐ роли главного хранилища для различных минеральных веществ. При этом костная ткань имеет способность поглощать и сохранять токсичные вещества, а также тяжелые металлы, что помогает уменьшить их вредное влияние на клетки различных органов [31].

Регулирование баланса кальция и фосфора находятся под контролем таких гормонов, как кальцитонин, ПТГ и кальцитриол. Последний является активной формой витамина D3 [32].

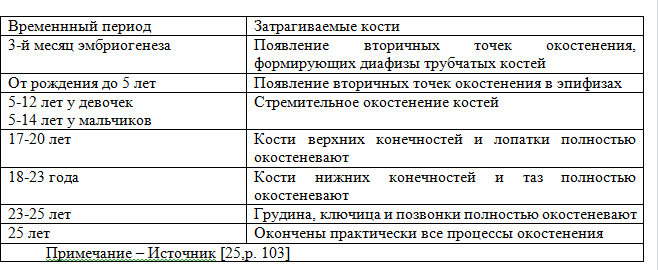
Энергетическая функция компонентов костной ткани тесно связана с остеобластами, которые продуцируют остеокальцин. Последний принимает активное участие в интенсификации синтеза адипонектина жировой ткани и инсулина β-клетками поджелудочной железы [33].

Сущность гемопоэтической функции, заключается в том, что костная ткань является вместилищем красного костного мозга – родоначальника всех клеток крови.

Остеогенез представляет собой длительный процесс, в связи с чем, приобретает актуальность оценка сроков оссификации скелета (таблица 1).

Влияние неблагоприятных факторов, как внутреннего, так и внешнего происхождения, может значительно затруднить гармоничное развитие костной системы у детей.

Таблица 1- Периоды формирования костей скелета, адаптированные Caetano- Lopes J.



### Ремоделирование костной ткани

На протяжении всего периода жизни, с момента рождения до момента гибели организма, в рамках процессов роста и развития происходит динамический процесс перестройки костной ткани.

После завершения процесса роста продолжается регулярное внутреннее преобразование, заключающееся в планомерной резорбции определенных участков костного вещества и замене их новой костной тканью.

Данный физиологический процесс связан с тем, что трабекулы губчатой кости и гаверсовы системы компактной кости не сохраняются в течение всей жизни. Как и большинство функциональных систем организма, костная ткань подвергается процессам активного динамического обновления.

Ежегодно меняется 2–4 % костной ткани; до 20–30-летнего возраста она

интенсивно накапливается.

В возрастной период от 30 до 40 лет достигается динамическое равновесие между процессами резорбции и восстановления.

По факту достижения сорокалетнего возраста инициируются процессы возрастной инволюции, в связи с чем, минеральная плотность костной ткани постепенно снижается.

Костная ткань является динамичной обновляющейся системой, которая изменяет свою структуру в широком диапазоне условий: не только под воздействием возрастных изменений, но и в зависимости от ряда внешних факторов, в частности, от региона проживания, особенностей питания и др.

Согласно мнению Vahidi G. и его коллег, костная ткань имеет значительный потенциал для адаптации, что позволяет ей менять свои характеристики в ответ на изменения окружающей среды. Такие изменения касаются как внешнего вида, так и внутренней архитектуры кости. Правильное протекание процесса постоянного ремоделирования происходит благодаря успешному выполнению адаптационной функции [34].

Последнее обозначает процесс постоянной реконструкции определѐнных зон костной ткани, который осуществляется с целью достижения необходимого объема, предотвращения повреждений, обновления костного матрикса и поддержания сбалансированного фосфорно-кальциевого гомеостаза.

Ремоделирование представляет собой совокупность асинхронно протекающих процессов последовательного разрушения и формирования костной ткани в фокальных пакетах (базовые многоклеточные единицы костного обмена), а не диффузно по всему скелету.

Во время одновременного ремоделирования у детей задействовано примерно 60% костной поверхности их скелета, тогда как у взрослых этот показатель составляет лишь 10% [35]. Ремоделирование включает несколько этапов: активацию, резорбцию, возврат и создание новой ткани [36].

На каждом этапе процесса ремоделирования воздействуют как системные, так и локальные факторы. К примеру, на обмен веществ в костях оказывают влияние не только гормональные факторы, но и ионы кальция, а также цитокины и простагландины [37,38].

Во время остеогенной фазы предшественники остеобластов в конечном итоге дифференцируются, и начинается процесс формирования новой кости.

На последней стадии ремоделирования образуется неминерализованный органический матрикс-остеоид. В процессе минерализации остеоида существенная роль отводится витамину D и его метаболитам.

Активность процессов ремоделирования костной ткани связана с возрастом. Наиболее заметные изменения происходят в раннем детстве, а также в период перед и во время подросткового возраста [39]. У детей процессы остеогенеза доминируют над резорбцией костной ткани.

Создание скелетных структур, которые выполняют опорные функции, происходит через несколько стадий. В этом процессе изменяются

микроструктура костного матрикса и уровень его минерализации [40]. В конечном итоге накапливается значительное количество костной ткани, что обеспечивает стабильность и прочность скелета на протяжении всей жизни. Функционально состояние костной ткани определяется значимым показателем

— прочностью костей. Этот показатель обладает сложной структурой и включает ряд взаимосвязанных аспектов, таких как нормальная анатомическая форма, достаточное количество минералов в костной ткани и оптимальное соотношение кортикального и трабекулярного слоев [41].

Снижение этого показателя является значимым и в некоторых случаях рассматривается как прогностический фактор возникновения остеопороза, проблем с осанкой и переломов [42–44].

### Биохимические маркеры метаболизма костной ткани

Оценка состояния костной системы традиционно проводится методом денситометрии, позволяющей оценить минеральное состояние костной ткани и сравнительные показатели плотности разных областей скелета с использованием рентгеновских лучей (двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, количественная компьютерная томография, двухэнергетическая компьютерная томография моноэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия ) и ультразвуковая денситометрия [45].

Именно использование рентгеновских лучей ограничивает применение данного метода, особенно у младенцев. В равной мере, широкое использование данного диагностического метода ограничено высокой стоимостью аппаратуры, отсутствием подготовленных специалистов и недостатком средств защиты от радиационного воздействия [46].

К недостаткам метода ультразвуковой диагностики относятся: невозможность исследования позвоночника, отсутствие возможности оценки динамики костной ткани [47,48]. Кроме того, по данным Rosendahl Karen, метод имеет ограничение использования у маленьких детей (0-2 лет) из-за отсутствия референсных значений [49].

Таким образом, несмотря на то, что денситометрия является «золотым стандартом» оценки состояния костного метаболизма, данный метод не может быть использован в скрининговых целях. Структурные изменения в костной ткани можно обнаружить только по истечении полугода. В то время как, биохимические показатели позволяют выявить изменения в метаболизме костей спустя всего три месяца [50]. Применение биохимических методик обеспечивает более точную оценку процессов образования и разрушения костной ткани [51].

Биохимические маркеры, связанные с метаболизмом костной ткани могут изменяться от множества факторов, включая возраст, пол, степень полового развития и уровень питания. Маркеры костного метаболизма редко используются в педиатрической практике, поскольку не имеют единых референсных значений. В отличие от взрослых, у детей концентрация

биохимических маркеров выше из-за их более быстрого роста и скорости костного метаболизма [52,53]. К биохимическим маркерам костного метаболизма относятся маркеры образования и резорбции.

По данным Komori T. и Carrié Fässler A.L., среди показателей остеосинтеза особое место занимает остеокальцин (рисунок 1). По содержанию данного показателя оценивается уровень остеогенеза [54,55].

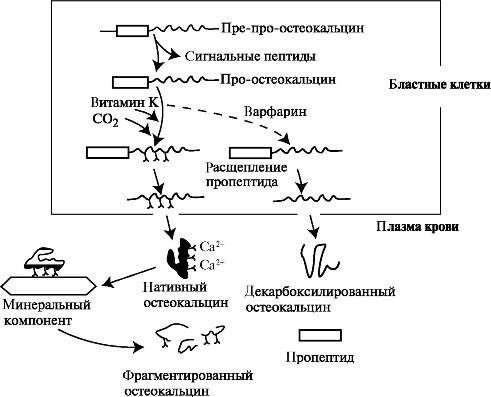


Рисунок 1 - Образование активной формы остеокальцина (адаптирован Garrie Fassier)

Остеокальцин является маркером активности остеобластов, который используется для диагностики различных заболеваний, влияющих на метаболизм костной ткани.

Он составляет четверть неколлагеновой части органического матрикса кости, что соответствует 2% от общего веса костной массы. Процесс производства остеокальцина зависит от наличия активных форм витамина D, таких как 25(OH)D, и витамина K. Эти метаболиты играют ключевую роль в карбоксилировании трѐх остатков глутамата в γ-карбоксиглутаминовой кислоте. Полная карбоксилированная форма остеокальцина обеспечивает его способность связывать кальций. Исследование Summeren M.J.H. показало, что у пациентов с остеопорозом значительная часть остеокальцина представлена в виде частично карбоксилированного формата [56].

Исследования, выполненные под руководством Wang J.S. и его команды, показали, что при тиреотоксикозе, быстром росте, половом созревании и гиперпаратиреозе увеличивается уровень остеокальцина в крови. Такое повышение связано с активным образованием костной ткани [57,58].

Снижение концентрации остеокальцина в крови может указывать на замедление процессов костеобразования. Это наблюдается у пациентов с множественной миеломой. При проведении системной терапии глюкокортикостероидами возможно значительное падение уровня

остеокальцина, что приводит к развитию остеопороза из-за подавления активности остеобластов.

По данным Vaitkeviciute D., Domazetovic V. и Мальцева С.В., уровень остеокальцина находится в тесной связи с возрастом, увеличиваясь в 5-6 лет и достигая максимума в третьем и четвертом триместрах полового созревания. Пиковая концентрация остеокальцина у девочек соответствует возрасту 10-12 лет, у мальчиков – 14-16 лет [59–62].

У детей изменение уровня остеокальцина в крови в основном обусловлено скоростью роста и процессами костеобразования. В то время как биологический возраст играет меньшую роль. В некоторых исследованиях отмечено уменьшение концентрации остеокальцина у детей, страдающих низкорослостью [63–65]. Повышенный уровень остеокальцина констатирован при целом ряде заболеваний, характеризующихся высокими темпами роста и ремоделирования костей (первичный и вторичный гипертиреоз, акромегалия).

В качестве наиболее специфичного маркера резорбции кости рассматривается дезоксипиридинолин, определение концентрации которого в моче является «золотым стандартом» в диагностике ранних стадий остеопороза [66].

Дезоксипиридинолин (ДПИД) является одним из основных структурных компонентов костной ткани. Между отдельными молекулами коллагена в костной ткани существуют поперечные связи, которые оказывают значительное воздействие на еѐ стабилизацию. Когда молекулы коллагена откладываются в матриксе, снаружи клетки формируются поперечные связи. ДПИД является внутренней сшивкой зрелого коллагена, которая не подвергается дальнейшим метаболическим изменениям. Освобождение ДПИД из костной ткани в сосудистую систему происходит вследствие еѐ разрушения (резорбции) остеокластами.

Скорость метаболизма костной ткани можно оценить путем измерения специфических продуктов деградации костного матрикса. В связи с интенсивностью протекания костного метаболизма, присущего детям, уровень ДПИД у них значительно выше, чем у взрослых [67].

Для качественной оценки состояния костного метаболизма необходимо определение статуса различных микроэлементов, среди которых особое место занимает кальций. Кальций является основным структурным компонентом костной ткани. Он имеет важное значение в процессе ее формирования и обеспечивает адекватное функционирование других органов и систем. Поддержание оптимального уровня этого микроэлемента в сыворотке крови является необходимым для сохранения гомеостаза.

В настоящее время известно, что информация о сывороточной концетрации кальция передается магний-зависимой аденилатциклазе, активность которой обратно пропорциональна концентрации данного минерала, что находит свое подтверждение в исследованиях, проведенных Захаровой И.Н. и Grob G.N. с соавторами [68,69].

Важнейшим участником минерального обмена костной ткани является фосфор, обеспечивающий в сочетании с кальцием формирование прочного матрикса и адекватную структурную организацию кости.

Для эффективной реализации механизмов кальций-фосфорного обмена необходимо подержание адекватного концентрационного соотношения описанных микроэлементов, равного 2:1, в связи с чем, любые отклонения от данной константы приводят к инициированию закономерных компенсаторных реакций. Когда уровень кальция в крови повышается, это стимулирует усиление реабсорбции фосфатов в почечных канальцах. В результате, фосфаты кальция начинают накапливаться в тканях. Таким образом, данный процесс способствует снижению уровня кальция и восстановлению оптимального равновесия между кальцием и фосфатами.

В костной ткани постоянно происходят процессы синтеза и резорбции. Они тесно взаимосвязаны. Изменения уровня кальция в крови, даже в размере 1%, запускают ряд биохимических процессов, направленных на восстановление нарушенного динамического равновесия.

Исследования Lynch M.F., Klatka M. и Bacchetta J. выяснили, что при снижении содержания кальция до 1,75 ммоль/л значительно возрастает секреция ПТГ [70–72]. Это ведет к уменьшению пролиферативной активности остеобластов, активации остеокластов и снижению синтеза коллагена. В итоге происходит выведение кальция из костной ткани в межклеточное пространство. Одним из ключевых биологических эффектов воздействия ПТГ является стимуляция синтеза кальцитриола в почках. Он необходим для переноса кальция через кишечную стенку и эпителий канальцев. Этот процесс ведет к снижению реабсорбции фосфатов в проксимальных канальцах и усилению

всасывания кальция в дистальных канальцах [65,р. 580314].

Сокращение периода полураспада ПТГ возможно благодаря активации кальцитриола, который контролирует секрецию кальцитонина С-клетками щитовидной железы. Это обеспечивает поддержание баланса между фосфатами и кальцием.

Кальцитонин синтезируется С-клетками щитовидной железы. Уровень данного гормона регулируется циркадным ритмом выраженности его гена и концентрацией кальция в сыворотке крови. Когда концентрация кальция повышается, увеличивается выработка кальцитонина. Если уровень кальция падает, его синтез уменьшается. Понижение концентрации кальция и фосфора в крови обусловлено прямым ингибирующим воздействием кальцитонина на остеокласты. Это приводит к снижению резорбции костной ткани, что, в свою очередь, уменьшает выделение кальция и фосфора почками [73].

### Влияние витамина D на костный метаболизм

Витамин D объединяет группу веществ с прогормональной активностью и свойствами. На современном этапе известны несколько форм витамина D, в том числе пять природных и четыре синтетических. К малоизвестным формам

относятся: эргокальциферол, 22-дигидроэргокальциферол и цитокальциферол, т.е. витамин D1, D4, D5 соответственно [74–77].

В основе действия витамина D лежат геномные и внегеномные механизмы реакций [78]. В связи с широким распространеним рецепторов витамина D их роль в контроле функциональных свойств систем организма значительна [76,с. 17]. Согласно исследованиям последних лет, было выявлено, что рецепторы витамина D (VDR) присутствуют практически во всех органах и тканях [79–82]. В частности, работы Eggemoen A.R. и Holick M.F. демонстрируют, что витамин D участвует в регуляции секреции инсулина, оказывает влияние на функционирование мышечных волокон, нервных клеток и лимфоцитов [83–88]. На сегодняшний день также изучены механизмы воздействия активных форм витамина D на сердечно-сосудистую систему. В частности, на ренин- ангиотензиновую и альдостероновую системы, воздействуя на различные аспекты регуляции артериального давления [89–93]. В связи с тем, что в кардиомиоцитах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках присутствует значительное количество рецепторов для витамина D, его активные метаболиты играют важную роль в регулировании и сокращений сердечной мышцы [94–98]. Также они играют значительную роль в функционировании иммунной системы. В частности, активации фагоцитоза, усилении процессов клеточной пролиферации, что нашло прямое отражение в исследованиях Ao T., Shakoor H

[99,100].

Установлено, что иммунокомпетентные клетки способны синтезировать гормонально-активный витамин D. Oh S., Абатуров А.Е. и др.доказали связь между дефицитом витамина D среди населения и заболеваемостью инфекциями дыхательных путей. Они отметили, что применение витамина D для профилактики респираторных инфекций и воспалительных поражений верхних дыхательных путей дает положительную динамику в показателях заболеваемости [101,102].

Однако наибольшее количество публикаций посвящено изучению влияния витамина D на костную систему. Кальцитриол способствует поддержке и улучшению функций опорно-двигательного аппарата на протяжении всей жизни. Когда уровень кальцитриола соответствует норме, организм усваивает примерно 80% фосфора и около 40% кальция из пищи. В случае недостатка кальцитриола, этот показатель значительно снижается, и организм способен усвоить только 10-15% кальция и 60% фосфора [103,104].

Таким образом, в настоящее время витамин D признан гормоном, регулирующим практически весь обмен веществ, и изучение его действия в организме человека важно для понимания патогенеза костного метаболизма.

Предшественником кальцитриола является холекальциферол [105–107]. Являясь гормональным соединением, у человека он синтезируется в коже под воздействием ультрафиолетового излучения в результате фотохимических реакций или поступает через питание. У детей источники холекальциферола строго ограничены [108].

Около 90% холекальциферола, после того, как он абсорбируется в тонком кишечнике или образуется в коже, связывается с белком. Далее осуществляется его транспортировка к ораганам-мишеням. Большая часть холекальциферола поступает в печень, где происходит его гидроксилирование.

Эта химическая реакция приводит к образованию кальцидиола, который является промежуточным метаболитом [109]. Последний поступает из печени к почкам с помощью транспортных белков. После химических преобразований в проксимальных канальцах почек кальцидиол превращается в кальцитриол [74,с. 733]. Оставшийся холекальциферол связывается с альбумином и подвергается метаболическим процессам. Лишь около 1% находится в свободном состоянии в кровотоке [110]. Запасы витамина D находятся в мышцах и жировой ткани [111].

Кальцитриол способствует усиленному транспорту ионизированного кальция из клеток кишечника в межклеточное пространство [112]. Исследования подтверждают его роль в стимуляции роста и укреплении костной ткани.

Под влиянием кальцитриола снижается синтез и секреция ПТГ [113]. Исследовательская группа под руководством Jacquillet G. С. показала, что кальцитриол способствует снижению формирования предшественников ПТГ. Это приводит к повышению уровня матричной РНК кальцитонина [114].

Когда уровень витамина D опускается ниже 30 нг/мл, начинает усиливаться секреция ПТГ. Данный процесс сопровождается заметным уменьшением всасывания кальция в кишечнике. Одновременно почки усиливают преобразование кальцидола в кальцитриол и повышают реабсорбцию Ca в канальцах. ПТГ играет роль в процессе дифференцировки и пролиферации остеокластов. В результате развивается остеопения и возрастает риск возникновения переломов [115].

Под влиянием кальцитриола в костной ткани запускаются два взаимосвязанных процесса. Первый повышает концентрацию кальция и фосфора в крови. Он же усиливает активность остеокластов, приводя к резорбции костной ткани и образованию гидроксиапатита. Второй стимулирует остеобласты под действием кальцитриола. Это запускает последовательное увеличение синтеза остеокальцина, коллагена и остеопонтина. Все они необходимы для минерализации и нормального функционирования вновь образованной костной ткани [116].

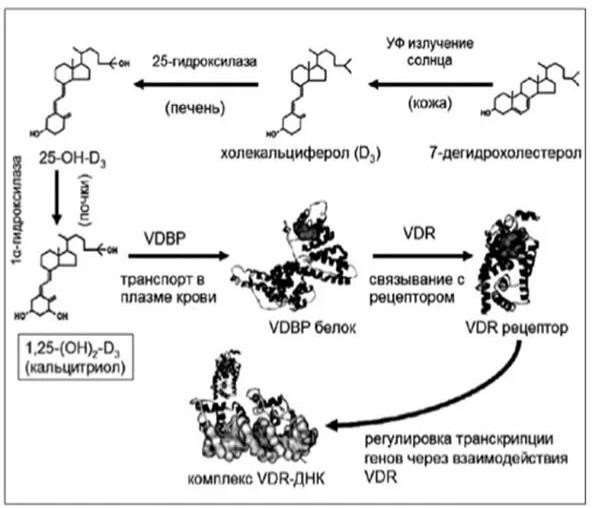


Рисунок 2 - Метаболизм витамина D в организме человека.

Адаптирован национальной программой «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции»

Примечание – Источник [90,с. 96]

В настоящее время общеизвестно существование прямой корреляции между концентрацией витамина D и кальцитриола. Когда концентрация витамина D снижается, синтез кальцитриола также уменьшается. Поэтому адекватное содержание витамина D может поддерживать необходимый уровень кальция в крови и нормализовать костный метаболизм.

По данным Herrmann M., Kim Y.A., Gupta P. и др., обеспеченность витамином-D населения различных стран снижена [117–120]. Статистическая оценка распространенности гиповитаминоза витамина D составляет от 1 % до

78 % от общей популяции [121]. Лабораторные критерии выявления гиповитаминоза D основаны на измерении содержания кальцидиола в крови. Период полураспада кальцидиола (25(OH)D) составляет 10-21 день, тогда как период полураспада кальцитриола (1,25(OH)D2) составляет 4-6 часов, следовательно определение кальдиола в крови является более информативным [122–125]. Короткое время циркуляции 1,25(OH)D2 в крови ограничивает использование его концентрации для определения статуса витамина D у детей различного возраста.

Помимо вышеизложенного, измерение статуса витамина D с применением его активных метаболитов ограничивается ПТГ. В связи с тем, что он жестко регулирует уровень фосфора и кальция в крови [126].

По этой причине в большинстве лабораторий мира для определения статуса витамина D у детей измеряется уровень кальцидиола [127,128].

В таблице 2 представлены мировые данные интерпретации уровней витамина D, полученные из различных источников [129-133].

Таблица 2 – Рекомендации уровня витамина D согласно международным данным

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Наименование организации / документа | Критерии обеспеченности витамином D | | |
| Дефицит | Недостаточное содержание | Достаточная обеспеченность |
| Институт медицины США | <30 нмоль/л  (<12 нг/мл) | 30-50 нмоль/л  (12-20 нг/мл) | >50 нмоль/л  (>20 нг/мл) |
| Практические рекомендации  Национального общества Великобритании по лечению остеопороза, 2013 г. | <30 нмоль/л  (<12 нг/мл) | 30-50 нмоль/л  (12-20 нг/мл) | >50 нмоль/л  (>20 нг/мл) |
| Национальная программа Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации:  современные подходы к коррекции, 2018 г. | <20 нмоль/л | 21-30 нмоль/л | >30 нмоль/л |
| Испанское общество исследования костей и минерального обмена | <50 нмоль/л  (<20 нг/мл) | 51-74 нмоль/л  (20-30 нг/мл) | >75 нмоль/л  (>30 нг/мл) |
| Рекомендации Российской Ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита  витамина D у взрослых, 2015 г. | <20 нмоль/л | 20-30 нмоль/л | >30 нмоль/л |
| Клинические рекомендации  Эндокринологического общества США, 2011 г. | <50 нмоль/л  (<20 нг/мл) | 51-74 нмоль/л  (20-30 нг/мл) | >75 нмоль/л  (>30 нг/мл) |
| Федеральная комиссия по питанию Швейцарии | <50 нмоль/л  (<20 нг/мл) | 51-74 нмоль/л  (20-30 нг/мл) | >75 нмоль/л  (>30 нг/мл) |
| Рекомендации Европейского общества по клиническим и экономическим аспектам остеопорозаи остеоартроза (ESCEO) при поддержке Международного фонда остеопороза (IOF), 2013 г. | <25 нмоль/л  (<10 нг/мл) | 50 нмоль/л  (20 нг/мл) | >50-75 нмоль/л  (>20-30 нг/мл) |

Наряду с низким уровнем метаболитов витамина D, генетические вариации рецепторов витамина D, такие как Bsm I, Folc I и Taq I, также оказывают влияние на развитие костной патологии [134–136]. Учитывая физиологическую значимость и многообразие биологических эффектов, реализуемых действием витамина D для организма, чрезвычайно важным

является необходимость динамического мониторинга и оценки сывороточной концентрации, особенно в детской популяции.

### Полиморфизмы генов VDR, RANKL в патологии костной системы

Сегодня медицина переходит к профилактическим методам. Своевременная ранняя диагностика и профилактика являются залогом сохранения индивидуального и общественного здоровья. Современное молекулярно-генетическое тестирование позволяет предсказать риск развития определенных заболеваний с самого рождения [137]. Мутации, затрагивающие один аллель гена, индуцируют доминантно наследуемое заболевание; мутации, локализованные в двух аллелях – являются причиной рецессивно наследуемого заболевания. При реализации многофакторных механизмов создаются условия для так называемых полигенных заболеваний [138].

Генетические полиморфизмы возникают при количественных изменениях частоты аллелей у гомозигот, при которых различия между аллелями одного и того же гена возникают в результате небольших изменений в генетическом коде.

Наиболее распространенные генетические полиморфизмы возникают при измененении количественных характеристик повторяющихся фрагментов ДНК или при замене одного нуклеотида на другой.

Объяснение данному феномену заключается в том, что заболевания человека в определенной степени ассоциированы с генетическими признаками или наследственными детерминантами.

Представление о существовании "генов предрасположенности" с мутантными аллелями, совместимыми с нормальным жизнеобеспечением после рождения, должны использоваться для достоверного прогнозирования течения болезни, в особенности, в неблагоприятных условиях.

Достоверная интерпретация результатов молекулярно-генетических исследований гарантирует выявление генов, мутации в которых являются основой ряда наследственных заболеваний, а также генов, детерминирующих предрасположенность к этим заболеваниям [139].

В процессе онтогенетического развития организма ряд генов последовательно принимает участие в развитии организма, что приводит к диффернцировке клеток и появлению специализированных тканей и органов [140,141].Многочисленные научные исследования установили, что максимальная костная масса определяется генетическими факторами. Одновременно с этим, скорость утраты костной массы также до 80% случаев обусловлена генами [13,р. 401].

В то же время существует ряд исследований, который выявил важные экологические факторы риска развития остеопороза и подтвердил многофакторный патогенез остеопороза.

В 2008 году в результате проведения двух полногеномных ассоциаций

[142] при исследовании более 300 000 одиночных нуклеотидных

полиморфизмов были обнаружены 9, определяющих состояние минеральной плотности кости. На формирование костной ткани действуют как внутренние, так и внешние факторы. Внутренние факторы включают в себя рассовую принадлежность, гендерные различия, гормоны. Сохраняется интерес к исследованию генетической основы состояния костной ткани. К внешним факторам относятся питание, физическая активность, хронические заболевания и использование лекарств [143–146].

По данным Senosi M.R., Ekhzaimy A.A., Lin J. И. др., возможными важными факторами, определяющими нормальное и патологическое развитие костной ткани, признаны следующие одиночные нуклеотидные полиморфизмы: VDR [147], SOST [148].LRP5 [149,150], COL1A1 [151], TNFRSF11 B [152],

ESR1 [153], TNFSF11[154], TNFRSF11A [155] и PTH [156,157].

В настоящее время установлено, что центральную роль в регуляции костного метаболизма играют белки С / RANК / OPG. Ключевой момент данного процесса заключается в том, что фактор активации и дифференцировки остеокластов (RANKL) взаимодействует с трансмембранным белком RANK - рецептором для этого фактора на цитомембранах. В результате активируется нуклеарный фактор kB (NFkB), что ведет к усиленному размножению и дифференцировке остеокластов, в конечном итоге способствуя резорбции костной ткани.

Marcadet L. подтверждает, что остеопротегерин секретируется клетками- предшественниками остеокластов/стромальными клетками. Он представляет группу ингибиторов остеокластогенеза, блокирующих взаимодействие RANK/RANKL и действующих как decoy-рецептор для RANKL, приводящих к значительному снижению интенсивности резорбции кости [158,159].

«Ген TNFSF11» (синоним RANKL) кодирует одноименный мембранный белок, представляющий собой цитокин семейства факторов некроза опухоли и лиганд для рецепторов TNFRSF11B (остеопротегерин) и TNFRSF11A (RANK). Последний, активируя остеокласты, играет важную роль в метаболизме костной ткани [160].

Наблюдается повышенная экспрессия гена TNFSF11 в остеокластах и лимфатических узлах, которые участвуют в регуляции иммунного ответа T- клеток [161]. Мутации внутри гена TNFSF11 приводят к дефициту белка, что вызывает нарушение функционирования остеокластов и процесса резорбции костей (процесса дегенерации костной ткани, необходимого для регенерации костей, их роста и развития) [162].

Внутриклеточный рецептор витамина D также является фактором транскрипции. Этот рецептор кодируется геном VDR и специфически связывается с активной формой витамина D (1,25(OH)2D3), осуществляя его эффекты [163]. В клетке VDR локализуется в ядре, цитоплазме и на плазматической мембране. Мутации в гене VDR приводят к таким заболеваниям, как витамин D-зависимый рахит типа 2A, остеопороз и остеоартрит [164].

Экспрессия гена VDR наблюдается в тканях большинства основных функциональных систем, включая кишечник, почки, паращитовидные железы и кости. Интегральной характеристикой, объединяющей обозначенные системы, является активное участие в гомеостазе кальция.

Фактор транскрипции VDR входит в число стероидных/тиреоидных ядерных рецепторов [165]. Белок имеет пять участков полипептидной цепи, выполняющие различные функции (домены). Это ДНК-связывающий, домен сигналов ядерной локализации, гормон-связывающий домен, домен димеризации, домен трансактивации [166]. Действуя как трансактиватор, VDR связывается с лигандом и перемещается в ядро. Там он образует либо гомодимеры, либо гетеродимеры с одним из трѐх ретиноидных X-рецепторов. Тем самым приводит к активации генов-мишеней и взаимодействию с элементами ответа на витамин D [167].

Прогормон витамин D, рецептор гена витамина D и его метаболические ферменты, участвуют в совместном производстве биоактивной формы гормона, являются основными участниками D-эндокринной системы. По данным Zhao X.-Q, эта система играет важную роль в метаболизме костной ткани, способствует абсорбции кальция в кишечнике, а также в метаболических путях, которые участвуют в реакциях иммунной системы [168].

Образовавшийся комплекс 1,25(OH)2D3 и VDR принимает участие в процессах регуляции множества целевых генов, некоторые из которых способствуют адекватной минерализации костей посредством обеспечения эффективного фосфорно-кальциевого метаболизма.

В условиях дефицита активного витамина D или функциональной недостаточности рецепторов VDR происходит нарушение всасывания кальция в организме, что неизбежно приводит к проблемам с минерализацией костей. Это создает благоприятные условия для развития рахита у детей и остеомаляции у взрослых [169]. Мутации в VDR запускают каскад патогенетических процессов, приводящих к редкой генетической патологии - витамин D-зависимому рахиту типа 2A [170].

Результаты исследований, направленных на выявление причинно- следственных связей между полиморфизмами гена VDR и вероятностью развития патологии костной ткани, позволили достоверно установить вклад предполагаемой взаимосвязи в развитие остеопороза и остеоартритов [171,172]. Полиморфизмы гена VDR часто варьируются в зависимости от этнической и расовой принадлежности. Исследование, проведенное среди населения Пакистана, выявило связь между полиморфизмами VDR (rs10735810, rs7975232, rs731236 и rs1544410) и вероятностью развития ревматоидного артрита и остеоартрита. Аналогичные связи этих полиморфизмов были замечены и среди других групп: жителей Туниса (rs10735810), Канады (rs10735810), Египта (rs7975232, rs731236 и rs1544410), а также Франции (rs10735810) [173].

Полиморфизмы VDR выделяют по соответствующим сайтам

распознавания эндонуклеаз (рестриктаз). При изучении исходной последовательности гена, открытой в 1988 г., были обнаружены два потенциальных сайта инициации трансляции (ATG). Дальнейшие сравнения последовательностей показали, что при первом потенциальном стартовом сайте существует полиморфизм T-C (ATG-ACG) [174].

Могут существовать два варианта белка, соответствующие двум доступным стартовым сайтам: длинная версия белка VDR и белок, укороченный на три аминокислоты. До настоящего времени это единственный известный полиморфизм VDR, который сказывается на структуре белка и, соответственно, влияет на последовательность аминокислот (т. н. белковый полиморфизм). Еще один, так называемый Cdx2, полиморфизм найден в промоторе VDR. Во 2-м экзоне гена обнаружен полиморфизм Fokl (rs10735810). Между VIII и IX экзонами расположены полиморфизмы BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232) и TaqαI (rs731236) [175,176].

Изучение влияния генетических факторов на развитие остеопении проведено многими учеными, однако остаются нерешенные вопросы по выявлению, картированию и анализу генов, регулирующих рост и развитие костной ткани. Особое внимание следует уделить возрастным изменениям и этническим различиям. Важность идентификации генетических маркеров, ответственных за возникновение и различные проявления остеопении, высока и представляет значительный теоретический и практический интерес в области клинической педиатрии.

Дальнейшие исследования патофизиологической роли генетических факторов значительно расширят наше понимание метаболизма костной ткани.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Характеристика исследования

Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (LXIV Генеральная Ассамблея ВМА, Форталеза, Бразилия, октябрь 2013 г.). Диссертационная работа прошла локальную комиссию по биоэтике при Западно-Казахстанском медицинском университете имени Марата Оспанова (ЗКМУ) г. Актобе от 04/12/2020 г. протокол №10.

Протокол исследования зарегистрирован на ClinicalTrials.gov. Это крупнейшая база данных клинических исследований, которая находится в ведении Национальной медицинской библиотеки США (NLM) при Национальном институте здравоохранения. Идентификационный номер: NCT05375331 (Приложение М).

Диссертационное исследование было выполнено на кафедре Детских болезней №1 с неонатологией ЗКМУ имени Марата Оспанова в период с 2021 г. по 2023г., и представляет собой прикладное научное исследование.

Дизайн исследования: описательное одномоментное поперечное исследование. Дизайн представлен на рисунке 3.

# этап:

### Отбор детей, согласно критериям включения и исключения:

* Анкетирование родителей
* Анализ анамнестических данных детей
* Оценка состояния здоровья ребенка

# этап:

### Оценка ремоделирования костной ткани

* Исследование крови: Кальций, Фосфор, Паратгормон,Остеокальцин, Витамин D, Кальцитонин
* Исследование мочи: Дезоксипиридинолин

1. этап:

### Исследование на генетические маркеры:

* + VDR rs1544410
  + VDR rs2228570
  + RANKL rs9594738
  + RANKL rs9594759

## этап

### Разработка алгоритма донозологической

**диагностики нарушений костной системы у детей**

Рисунок 3 - Дизайн исследования

В соответствии с целью и задачами исследования были обследованы 250 детей до 1 года казахской популяции. Все дети рождены в г. Актобе. Расчет объема выборки был сделан с учетом программы «Epi Info7.2.5.0».

(N-13500, p = 16% n = 208 + 20% (42) = 250 детей.

N - общая рождаемость детей по городу Актобе; р- частота встречаемости

n - количество детей, которое должно быть взято + 20% потерь (объем выборки).

Набор детей осуществлялся с помощью метода вероятностной выборки в г. Актобе. Было проведено клиническое и лабораторное обследование детей до года в казахской популяции. Перед проведением исследования, родители детей подписывали информированное согласие для разрешения обработки персональных данных обследуемых в научных целях.

Среди них мальчиков- 94 (37,6%) CI (31,6 – 43,6); девочек-156(62,4%) CI

(56,4 – 68,4).

Распределение детей по возрасту представлено на рисунке 4.

62

99

новорожденные

(0-28 дней)

с 1 до 6 мес

после 6 до 12 мес

89

Рисунок 4 - Возрастное распределение детей

Все дети, прошедшие исследование, были разделены на возрастные группы. В первую попали новорожденные в возрасте от 0 до 28 дней. Во вторую группу включили младенцев от 1 до 6 месяцев, а третью группу составили дети старше 6 месяцев.

При формировании возрастных групп исследуемых детей учитывалась специфика экзогенного потребления витамина D.

В частности, предполагалось, что в первой группе детей содержание витамина D напрямую зависит от аналогичного показателя матери. Количественное содержание витамина D во второй группе обследованных не зависит от внешних поступлений, так как дети данной возрастной группы не получали прикорм. Третью группу составили дети старше 6 месяцев. Предполагалось, что у них имело место дополнительное поступление витамина D из продуктов прикорма.

Набор детей, включенных в исследование, проводился согласно критериям включения и исключения.

### Критерии включения

* Дети от рождения до 12 месяцев, относящиеся к 1 и 2 группам здоровья (Приказ МЗ РК № 264 от 15 декабря 2020 года) казахской популяции;
* Удовлетворительное состояние здоровья на момент проведения исследования;
* Отсутствие у детей органической патологии и генетических синдромов;
* Возможность забора крови для анализов;
* Наличие подписанного родителями или законными представителями информированного согласия.

Для определения принадлежности ребенка к казахской популяции заполнялась анкета и оценивалась генеалогия в трех поколениях (Приложение А).

### Критерии исключения:

* Дети старше одного года;
* Недоношенные дети;
* Наличие тяжелых хронических соматических заболеваний;
* Наследственные заболевания опорно-двигательного аппарата;
* Дети с инвалидностью вследствие других заболеваний;
* Дети, принимающие терапевтические дозы витамина D;
* Отказ родителей от участия в исследовании.

### Анамнестическое и клиническое обследование детей

Родители обследуемых детей заполняли информированное согласие (Приложение Б). На каждого ребенка заполнялась индивидуальная регистрационная карта (Приложение В), которая была разработана согласно целям и задачам исследования.

Индивидуальная регистрационная карта содержала паспортные данные, включая дату рождения матери и ребенка, пол ребенка, место проживания и контактную информацию для дальнейшего наблюдения за ребенком. Также указывались сведения о количестве предыдущих беременностей и родов, информация о текущей беременности и родах, наличие хронических заболеваний или вредных привычек у матери, прием лекарственных средств во время беременности и информация о том, принимала ли мать добавки витамина D или препараты кальция.

В ходе сбора анамнеза выяснялись вес и рост ребенка при рождении, тип вскармливания, очередность введения прикормов и меры по профилактике рахита.

В дальнейшем была проведена оценка показателей физического развития детей и объективное обследование для исключения соматической патологии.

Оценка физического развития заключалась в измерении массы тела, длины тела (или роста) ребѐнка и сравнения измеренных показателей с нормами развития с использованием центильных шкал, разработанных ВОЗ [177].

Длина тела у детей до 1 года измерялась горизонтальным ростомером в положении лежа (ростомер детский медицинский RDM-01, погрешность ± 4 мм).

Для определения массы тела были использованы медицинские электронные весы ВМЭ-1-15М, с точностью измерения ± 0,25 г. При этом за норму принимали значения, характерные здоровым детям данного пола и возраста в интервалах 25-50-75 центилей. При клиническом обследовании детей определяли их биологическую зрелость и морфофункциональный статус. Биологическая зрелость оценивалась по индексу "длина тела/возраст". Значение индекса "длина тела/возраст" в диапазоне 25-75 цетилей означает, что физическое развитие по биологической зрелости соответствует паспортному возрасту, значение индекса " длина тела/возраст" 75 центилей и более означает, что биологический возраст старше паспортного. Если индекс "длина тела/возраст" находится в диапазоне 25 центилей и менее, биологический возраст отстает от паспортного. Морфофункциональный статус оценивали с помощью индекса "масса /рост". Он считался соответствующим, если индекс "

масса/рост" находился в пределах 25-75 центилей, дисгармоничным, если ≤ 25 и ≥75 центилей, и резко дисгармоничным, если ≤10 и ≥90 центилей.

### Лабораторное обследование детей на костный метаболизм

В ходе работы для оценки состояния костного метаболизма детям проводилось биохимическое исследование крови на определение сывороточной концентрации кальция, фосфора, паратгормона, остеокальцина, витамина D, кальцитонина, а также дезоксипиридинолина в моче.

Лабораторные исследования пациентов в 2020г. были выполнены в лаборатории «Инвиво» по адресу: пр. Абылхайыр хана, д. 62, корп. 3 г. Актобе, лаборантом Поповой М.А. Заведующая лаборатории Бактыгулова К.В. Исследование проводилось в рамках проекта: «Клинические и генетические маркеры статуса витамина D у новорожденных и детей раннего возраста в казахской популяции». Внутривузовский проект, приказ № 13/2-18-124 от 26.02.2020г.

В 2021г лабораторные исследования проводились в клинике «Айгерим» по улице Маресьева 87, лаборантом Чистяковой Н. В. Заведующая лаборатории Нестеренко Г.А. Исследование проведено в рамках проекта: «Клинические и генетические маркеры D витаминного статуса у детей до года казахской популяции». Научно-технический проект ИРН AP09563003 № государственной регистрации 0121РК00543, приказ №255/12-12 от 15.06.21г.

Для исследования бралась сыворотка крови ребенка. Образцы крови для биохимического анализа брались в процедурном кабинете медицинского учреждения в соответствии с обычными правилами забора венозной крови, согласно приказа "Об утверждении минимальных стандартов оснащения организаций здравоохранения медицинскими изделиями" от 29 октября 2020 года № ҚР ДСМ-167/2020.

Образцы крови брались натощак, у новорожденных за 2 часа до приема пищи. При этом использовалась вакуумная система VACUETTE® с красной маркировкой в объеме, составляющим не более 5 мл. Для уменьшения риска возникновения гемолиза и вспенивания образцов крови использовались активаторы коагуляции.

После взятия крови медсестра выполняла процедуру смешивания собранной сыворотки с активным гелем в соответствии с официальной инструкцией вакуумной системы. Пробирки помещали на подставки, фиксировали в вертикальном положении и давали постоять 40-60 мин. до образования сгустка. Затем образцы центрифугировали при 1800 g в течение 10 мин. при комнатной температуре. Затем образцы сыворотки подвергали заморозке при температуре -20°C. и отправляли в центральную лабораторию.

Методы исследования костного метаболизма:

* Уровень кальция (Ca) в сыворотке определялся методом колориметрической фотометрии с использованием биохимического автоматического анализатора ВА 400, 2021 года выпуска. Производитель:

Испания. Референсные значения 2,2-2,7 ммоль/л.

* Концентрация фосфора (P) в сыворотке измерялась посредством колориметрического метода с аммоний молибдатом на биохимическом автоматическом анализаторе ВА 400, 2021 года выпуска. Производство: Испания. Референсные показатели фосфора у детей до 12 лет составляют 1,45– 2,16 ммоль/л.
* Уровень остеокальцина определялся методом иммунохроматографии с использованием анализатора Siemens Immulite 2000 Xpi, 2013 года выпуска. Производитель: США. Нормальные значения остеокальцина: 2,8-41 нг/мл.
* Концентрация кальцитонина в сыворотке измерялась методом иммунохроматографии с помощью анализатора Immulite 2000 Xpi, 2013 года выпуска. Производитель: Siemens, США. Нормальные показатели: менее 50 нг/л.
* Уровень паратгормона (ПТГ) определялся путем иммунохроматографического метода на анализаторе Immulite 2000 Xpi, 2013 года выпуска. Страна производства: США. Нормальные значения: 15-65 пг/мл.
* Концентрация дезоксипиридинолина в сыворотке измерялась методом иммунохроматографии на анализаторе Immulite 2000 Xpi, 2013 года выпуска. Производство: США. Нормальные уровни: 13,7-41,0 нмоль/ммоль.
* Концентрация 25(OH)D в сыворотке определялась методом иммунохемилюминесценции с использованием анализатора Iflash/2022 года выпуска. Страна производства: Китай. Референсные значения уровня витамина D приведены в таблице 3.

Таблица 3 - Референсные значения уровней витамина D в сыворотке крови у детей (адаптирована "Российской Ассоциацией Эндокринологов ")

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Концентрация 25(OH)D | <21 нг/мл | 21-30 нг/мл | >30-75 нг/мл |
| ЗаключениеБ | Дефицит | Недостаточность | Адекватная концентрация |
| Примечание – Источник [178] | | | |

### Обследование детей на определение полиморфизма генов

Определяли VDR (rs544410, rs2228570), RANKL (rs9594738, rs9594759) в

Научно-практическом центре ЗКМУ имени Марата Оспанова, руководитель центра Саханова С.К.

Биоматериал для исследования был представлен цельной кровью в объеме 2 мл, взятой в вакуумную пробирку с антикоагулянтом ЭДТА.

У каждого ребенка, участвовавшего в исследовании, были взяты образцы венозной крови для проведения молекулярно-генетического анализа. Выделение геномной ДНК из периферической крови проводилось с использованием набора реагентов "ДНК/кровь/М/100" производства ООО "ТестГен" (Россия), который основан на принципе обратимого связывания

нуклеиновых кислот на магнитных частицах.

В рамках технологии генотипирования полиморфизмов VDR (rs1544410, rs2228570) и RANKL (rs9594738, rs9594759) использовался метод ПЦР с коммерческим набором реагентов и амплификатором DT-Prime («ДНК/Технологии», Россия) для проведения анализа в режиме реального времени, который основан на применении метода флуоресцентной детектции разрушаемых олигонуклеотидных зондов с использованием синтетических аналогов олигонуклеотидов.

В основе технологии амплификации ДНК лежит метод проведения многократных циклов изменения температуры для денатурации ДНК с последующим присоединением праймеров с комплементарными последовательностями и достраиванием полинуклеотидных цепей с помощью фермента Taq-полимеразы. В ходе исследования для всех вариантов обнаруженного генетического полиморфизма (мутации) в амплификационную смесь добавляли сигнальный зонд с флуоресцентными метками FAM и HEX. При завершении ПЦР уровень флуоресценции изменялся после температурного плавления дуплекса, сформированного ампликоном и сигнальным зондом.

Это регистрировалось программным обеспечением ампликона и отражалось в виде графика.

### Статистические методы исследования

Результаты проведенного исследования были внесены в таблицу, созданную в Microsoft Excel 2016. Таблица включала в себя данные из индивидуальных регистрационных карт и другие результаты исследования.

Степень нормальности распределения количественных переменных оценивалась при проведении теста Шапиро-Уилка.

С целью описания количественных переменных в случае их нормального распределения было рассчитано среднее арифметическое значение количественного показателя, представленного в тексте как M ± SD (M - среднее арифметическое, SD - стандартное отклонение). В случае отсутствия нормального распределения показателей использовались средние значения и интерквартильные диапазоны, а качественные переменные представлялись в виде абсолютных частот и процентов.

Различия между группами в количественных переменных анализировались с использованием U-теста Манна-Уитни, рангового анализа Kruskal-Wallis и медианного теста в случае нескольких независимых переменных. Для оценки качественных переменных применялся критерий Пирсона Хи-квадрат, меру связи оценивали при помощи критерия Cramer V, рассчитывались отношения шансов (ОШ) и 95% доверительные интервалы. Для всех анализов статистически значимым считалось значение p<0,05. Для статистической обработки данных использовалась программа Gene Expert ([http://gen-](http://gen-exp.ru/calculator_or.php) [exp.ru/calculator\_or.php](http://gen-exp.ru/calculator_or.php)).

Также для изучения рисков возникновения нарушений костного

метаболизма при сочетании нескольких факторов использовали метод «Древо решений» (метод построения: исчерпывающий chaid, позволяющий использовать переменные в узлах нескольких уровней). Используемая программа - IBM SPSS «STATISTICA 10.0» фирмы StatSoft, Inc. и SPSS 25.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Характеристика анамнеза и клинико-лабораторное обследование детей до 1 года включѐнных в исследование

* + 1. Анамнестическое обследование детей до 1 года включѐнных в исследование

На начальной стадии исследования была рассмотрена возрастная категория матерей, процесс протекания беременности и родов, а также оценены меры витаминно-минеральной профилактики, осуществленные в период беременности, и типы кормления.

Анализ возрастного аспекта матерей обследуемых детей показал, что на момент зачатия он колебался от 18 до 43 лет. Средний возраст составил 29,9 года. 3,2% (n=8) матерей (95% CI confidence interval:1,0 – 5,4) были в возрасте 18-20 лет; 68,8% (n=172) (95% CI: 2,93 – 63,1) - 21-30 лет; 22,8% (n=57) (95%

CI: 17,6 – 28,0) - 31-40 лет; 5,2% (n=13) (95% CI: 2,4 – 8,0) - старше 40 лет.

При изучении анамнеза 250 матерей было выявлено, что в 80,4 %; (n=201) (95% CI: 75,5 – 85,3) случаев имели место отклонения в состоянии здоровья женщин (таблица 4).

Таблица 4 - Течение беременности матерей, обследуемой группы

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Нозологическая форма патологии | Кол-во( n ) | % | 95% CI |
| Анемия | 117 | 46,8 | 40,6 – 53,0 |
| Гестоз 1 половины | 106 | 42,4 | 36,3 – 48,5 |
| Гестоз 2 половины | 54 | 21,6 | 16,5 – 26,7 |
| Угроза прерывания | 45 | 18 | 13,2 – 22,8 |
| Инфекционная патология матери | 94 | 37,6 | 31,6 – 43,6 |
| Соматическая патология матери | 78 | 31,2 | 25,5 – 36,9 |

Как видно из таблицы 4, практически каждая вторая женщина имела гестоз 1 половины беременности, анемию. В большом проценте случаев выявлялась инфекционная и/или соматическая патология матерей (37,6% и 31,2% соответственно).

Количество женщин, принимавших во время беременности витаминно- минеральный комплекс, включающий 400 МЕ витамина D и 125-200 мг кальция составило 29,6% (n=74) (95% CI: 23,9 – 35,3). 14,8% женщин (n =37)

(95% CI: 10,4 – 19,2) получали изолированно кальций; 55,6% (n =139) (95% CI: 49,4 – 61,8) не получали витаминно-минеральную профилактику.

От 1 беременности родилось 26,4% (n=66) (95% CI: 20,9 – 31,9) детей, от 2

- 32,4% (n=81) (95% CI: 26,6 – 38,2), от 3 - 20,4% (n=51) (95% CI: 15,4 – 25,4), от

4 и более - 20,8% (n=52) (95% CI: 15,8 – 25,8).

Все дети в исследуемой группе были доношенными, их гестационный возраст при рождении колебался от 37 до 41 недели. Средняя масса тела при

рождении составила 3312,0 ±22,7г, средняя длина - 51,3 ±0,3 см.

Постнатальная профилактика витамином D проводилась у 40,4% (n=101) (95% CI: 34,3 – 46,5) детей, включенных в исследование. При этом профилактика витамином D, составляющая 500 МЕ имела место в 83,2% (n=84) (95% CI: 27,7–39,5) случаев. У 16,8% (n=17) (95% CI: 3,7–9,9) детей

профилактическая доза составила 1000 МЕ. В 59,6% (n=149) (95% CI: 53,5– 65,7) случаев профилактика витамином D не проводилась.

Анализ видов вскармливания показал, что 39,2% (n=98) (95% CI: 33,1–45,3) детей находились на исключительно грудном вскармливании; 16,8% (n=42) (95% CI: 12,2–21,4) - на искусственном вскармливании; 31,6% (n=79) (95% CI: 25,8–37,4) имели грудное вскармливание и получали прикорм и 12,4% (n=31) (95% CI: 8,3–16,5) были на искусственном вскармливании и получали прикорм.

### Клиническое обследование детей до 1 года включѐнных в исследование

Клиническое обследование ребенка начинали с оценки физического развития и определения морфофункционального статуса.

Анализ длины тела в зависимости от возраста среди всех детей показал, что 69,2% детей (n=173) (95% CI: 63,5-74,9) имели показатели длины тела в пределах 25‰ - 75‰, у 19,6% детей (n=49) (95% CI:14,7–24,5) значения превышали 75‰, и у 11,2% (n=28) (95% CI:7,3–15,1) - были ниже 25‰.

При оценке массы тела по отношению к возрасту выявлено, что дефицит массы тела более 10-20% у детей в казахской популяции отмечался только у 2% (n=5) (95% CI: 0,3-3,7). Избыток массы тела более 10-15% выявлен у 4,4%

(n=11) (95% CI: 1,9-6,9).

Морфофункциональный статус оценивали по отношению массы тела к длине. При этом было установлено, что у большинства детей (n=189) (95% CI: 70,3–80,9) развитие характеризовалось как гармоничное. В 24,4% случаев (n=61) (95% CI: 19,1–29,7) наблюдалось дисгармоничное развитие. Из этих случаев дисгармоничное развитие в 18,6% было обусловлено дефицитом массы тела, а лишь в 4,4% — избыточной массой тела. Оценка физического развития представлена в таблице 5.

Таблица 5 — Оценка физического развития детей

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Возраст Признак | У всех | | 0-1 мес. | | 1-6 мес. | | 7-12 мес. | |
| n | % | n | % | n | % | n | % |
| Физическое развитие | | | | | | | | |
| Опережает | 49 | 19,6 | 5 | 2,0 | 18 | 7,2 | 26 | 10,4 |
| Соответствует | 173 | 69,2 | 56 | 22,4 | 65 | 26,0 | 52 | 20,8 |
| Отстает | 28 | 11,2 | 1 | 0,4 | 6 | 2,4 | 21 | 8,4 |
| Морфофункциональный статус | | | | | | | | |
| Гармоничный | 189 | 75,6 | 54 | 21,6 | 77 | 30,8 | 58 | 23,2 |
| Дисгармоничный | 61 | 24,4 | 8 | 3,2 | 12 | 4,8 | 41 | 16,4 |

Таким образом, физическое развитие соответствовало возрасту у большинства детей (69,2%); у 19,6% обследованных оно опережало возрастные нормы, а у 11,2% - отставало. Отставание физического развития чаще всего наблюдалось после 6 месяцев (n=21) (95% CI: 5,0–11,8) - 8,4%. Морфофункциональный статус у 75,6% был гармоничным, у 24,4% - дисгармоничным.

На момент проведения исследования у матерей не было активных жалоб по отношению к детям. Однако, при объективном обследовании в ряде случаев были выявлены следующие симптомы: потливость- 4,4% (n= 11) (95% CI: 1,9–

6,9), облысение затылка- 8,4% (n=21) (95% CI: 5,0–11,8), закрытый большой

родничок-0,8% (n=2) (95% CI: 53,5–65,7), пугливость - 6,8% (n=17) (95% CI:

3,7-9,9), беспокойство -12,4% (n=31) (95% CI: -0,3–1,9), нарушение сна - 9,2%

(n=23) (95% CI: 5,6-12,8), гипотонус мышц – 1,2% (n=3) (95% CI: -0,1–2,5),

кислый запах-1,2 % (n=3) (95% CI: -0,3–1,9).

* + 1. Лабораторное обследование детей до 1 года включѐнных в исследование

По завершении объективного осмотра, всех детей распределили на три группы исходя из их возраста. В 1 группу вошли дети от 0-до 28 дней (новорожденные), во 2 группу - от 1 до 5 месяцев, 3группу - дети старше 6 месяцев.

Все дети были обследованы на витамин D. За референсные значения уровня витамина D в сыворотке крови взяты показатели международного общества эндокринологов 2018 г. (таблица 6) [178].

Таблица 6 - Распределение детей в зависимости от возраста и степени снижения уровня витамина D

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 25 (OH)D  нг/мл | Новорожденные  (0-28 дней) 1группа(n=62) | 1. - 5 мес. 2. группа (n=89) | 6-12 мес.  3 группа (n=99) | Р |
| Норма | 4 (6,4%) | 22 (24,7%) | 29 (29,3%) |  |
| Недостаточность | 2 (3,3%)\* | 28 (31,5%) | 30 (30,3%) | 0,001\* |
| Дефицит | 56 (90,3%)\*\* | 39 (43,8%) | 40 (40,4%) | 0,001\*\* |

Анализ таблицы 6 показал, что из 250 обследуемых детей, только в 22% (n=55) (95% CI: 16,9–27,1) случаев уровень витамина D укладывался в референсные значения. В 78% случаев отмечалась недостаточность либо дефицит. Анализ обеспеченности витамином D по группам показал, что у 93,6% (n=58) детей 1 группы отмечалось снижение уровня витамина D и только у 6,4% (n=4) установлены нормальные показатели. При этом у 90,3% (n=56) детей отмечалось значимое снижение витамина D, то есть дефицит.

У представителей 2 возрастной группы 75,3% (n=67) детей имели снижение уровня витамина D. Из них у 43,8% (n=39) детей отмечался дефицит

витамина D. В этой же группе количество детей с нормальными показателями D витаминного статуса составило 24,7% (n=22).

В 3 группе 29,3% (n=29) детей имели нормальные показатели витамина D. Основная масса детей 70,7% (n=70) имели пониженный уровень витамина D. При этом у 40,4% (n=40) был обнаружен уровень соответсвующий «дефициту».

Сравнительный анализ показателей уровня витамина D в трех возрастных группах представлен на рисунке 5.

Витамин Д

120

100

80

60

40

20

0

-20

1

2

возрастные группы

3

Медиана 25%-75%

Мин.-Макс.

Рисунок 5 - Распределение уровня витамина D по возрастным группам Сравнительный анализ показателей содержания витамина D в трех

возрастных группах позволил установить достоверные различия между 1 и 2 группами (р<0,001), 1 и 3 группами (р<0,001).

Показатели минерального обмена (общего кальция и фосфора) в зависимости от возраста представлены в таблицах 7,8 и рисунках 6,7.

Таблица 7 - Показатели общего кальция в разных возрастных группах

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Группы | Ме | Q1 | Q3 | p |
| Кальций | 1 группа | 2,42 | 2,25 | 2,53 | 0,001\* |
| 2 группа | 2,53 | 2,42 | 2,70 | 0,001\* |
| 3 группа | 2,39 | 2,19 | 2,47 |  |
| Примечание - \*р –достигнутый уровень значимости | | | | | |

Как видно из таблицы 7, показатели общего кальция имеют достоверные статистические различия в группах 1 и 2, а также 2 и 3.

Общий кальций

5,0

4,5

4,0

3,5

3,0

2,5

2,0

1,5

1,0

1

2

возрастные группы

3

Медиана 25%-75%

Мин.-Макс.

Рисунок 6 - Содержание общего кальция в разных возрастных группах Таблица 8 - Показатели фосфора в разных возрастных группах

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Группы | M | Ме | Q1 | Q3 | p |
| Фосфор | 1 группа | 2,04 | 2,12 | 1,82 | 2,33 | 0,001\* |
| 2 группа | 1,9 | 1,99 | 1,73 | 2,17 |  |
| 3 группа | 1,82 | 1,86 | 1,45 | 2,12 |  |
| Примечание - \*р –достигнутый уровень значимости | | | | | | |

Данные таблицы 8 показывают, что среднее значение концентрации фосфора в крови у новорожденных составило 2,04 ммоль/л, у детей 2 группы - 1,9 ммоль/л, 3 группы-1,82 ммоль/л, что укладывается в референсные значения. При статистическом сравнении групп детей по возрастам было выявлено, что у новорожденных (1 группа) показатель фосфора был выше, чем в группе от 6 до 12 месяцев (p<0,001).

Фосфор

3,6

3,4

3,2

3,0

2,8

2,6

2,4

2,2

2,0

1,8

1,6

1,4

1,2

1,0

0,8

0,6

1

2

возрастные группы

3

Медиана 25%-75%

Мин.-Макс.

Рисунок 7 - Содержание фосфора в разных возрастных группах

Показатели регуляции костного метаболизма в нашем исследовании были представлены кальцитонином и ПТГ. В таблице 9, рисунке 8 представлены показатели кальцитонина в зависимости от возраста.

Таблица 9 - Распределение уровней кальцитонина по возрастным группам

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Группы | Ме | Q1 | Q3 | p |
| Кальцитонин | 1 группа | 4,70 | 2,00 | 5,89 |  |
| 2 группа | 5,42 | 2,68 | 8,13 | 0,001\* |
| 3 группа | 2,88 | 2,00 | 4,98 |  |
| Примечание - \*р –достигнутый уровень значимости | | | | | |

В ходе исследования регуляции обмена веществ в костной ткани было установлено, что средний уровень кальцитонина у детей равен 5,4 пг/мл, что соответствует установленным референсным значениям. Однако, как видно из таблицы 4 выявлены статистические различия показателей кальцитонина между 2 и 3 группами (p<0,001).

Кальцитонин

40

35

30

25

20

15

10

5

0

1

2

возрастные группы

3

Медиана 25%-75%

Мин.-Макс.

Рисунок 8 - Содержание уровня кальцитонина в зависимости от возраста детей

Результаты исследования показали, что средний уровень паратгормона в сыворотке крови составил 24,5 нг/мл. В 1 группе средние показатели ПТГ-25,1 нг/мл, во 2 группе - 25,3 нг/мл, в 3 - 23,6 нг/мл. Средние показатели паратгормона укладывались в референсные значения. В таблице 10 представлены показатели паратгормона в зависимости от возраста.

Таблица 10 - Распределение показателей ПТГ по возрастным группам

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Группы | Ме | Q1 | Q3 |
| ПТГ | 1 группа | 19,7 | 6,44 | 33,1 |
| 2 группа | 16,2 | 6,27 | 40,0 |
| 3 группа | 16,7 | 7,87 | 33,0 |

Как видно из таблицы 10 при статистическом сравнении показателей ПТГ по возрастным группам различий не выявлено.

Маркеры костного метаболизма в нашем исследовании были представлены остеокальцином и дезоксипиридинолином. В таблице 11 приведено распределение показателей остеокальцина и дезоксипиридинолина в зависимости от возрастных групп.

Таблица 11 - Распределение показателей остеокальцина и дезоксипиридинолина по возрастным группам

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Группы | Ме | Q1 | Q3 | p |
| Остеокальцин | 1 группа | 2,00 | 2,00 | 2,19 | 0,001\* |
|  | 2 группа | 3,67 | 2,00 | 8,78 | 0,001\* |
|  | 3 группа | 2,71 | 2,00 | 5,18 |  |
| Дезоксипиридинолин | 1 группа | 26,8 | 20,0 | 43,2 |  |
|  | 2 группа | 25,7 | 17,2 | 36,0 |  |
|  | 3 группа | 23,0 | 14,5 | 35,5 |  |
| Примечание - \*р –достигнутый уровень значимости | | | | | |

Как видно из таблицы 11, остеокальцин был достоверно снижен у детей 1 группы (р<0,001), по сравнению с 2 и 3. На рисунке 9 наглядно отражает данные таблицы 9.

Остеокальцин

45

40

35

30

25

20

15

10

5

0

-5

1

2

возрастные группы

3

Медиана 25%-75%

Мин.-Макс.

Рисунок 9 - Показатели остеокальцина в зависимости от возраста

По результатам исследования средний уровень дезоксипиридинолина в моче составил 26,9 нмоль/ммоль. В 1 группе средние показатели дезоксипиридинолина -32 нмоль/ммоль, во 2 группе- 27 нмоль/ммоль, в 3- 25,6 нмоль/ммоль. В таблице 13 представлены показатели дезоксипиридинолина в зависимости от возраста. Уровни дезоксипиридинолина в моче находились в пределах референсных значений. При статистическом анализе не было обнаружено различий в уровнях дезоксипиридинолина между возрастными группами.

Таким образом, анализ данных анамнеза показал, что в 42,4% (95% CI:36,3

* 48,5) случаев имел место гестоз 1 половины беременности и в 46,8% CI (40,6
* 53,0) – анемия. На втором месте были инфекционно-воспалительные заболевания (37,6%) (95% CI: 31,6 – 43,6). В целом отклонения в состоянии

здоровья отмечались у 80,4% (95% CI: 75,5 – 85,3) женщин.

Пренатальная профилактика препаратами кальция и витаминно- минеральным комплексом была проведена в 29,6% (95% CI: 23,9 – 35,3)

случаев. Высокий показатель 55,6% (n=139) (95% CI: 49,4 – 61,8) женщин, не получивших пренатальную профилактику, можно объяснить тем, что она не включена в клинический протокол.

Постнатальная профилактика витамином D была проведена лишь в 40,4% (n=101) (95% CI: 34,3 – 46,5) случаев, что указывает на недостаточную разъяснительную работу среди населения.

Выявлены статистически достоверные различия в уровнях показателей костного метаболизма, таких как общий кальций, фосфор, кальцитонин и остеокальцин в различных возрастных группах.

Исследование показало, что у детей до одного года в казахской популяции широко распространен дефицит витамина D. Распространенность составляет 78

% (95% CI: 72,9–83,1). При этом средняя концентрация витамина D составляет 24,23 ±1,6 нг/мл, что относится к категории "недостаточность". Самые низкие показатели уровня витамина D обнаружены у новорожденных - 14,23±2,8 нг/мл. Более высокие показатели выявлены у детей 7-12 месяцев (29,22±1,9 нг/мл).

Полученные результаты позволили подтвердить сформулированную гипотезу о зависимости уровня витамина D от путей поступления в организм.

В частности, в первой группе детей содержание витамина D напрямую зависит от аналогичного показателя матери. Количественное содержание витамина D во второй группе обследованных не зависит от внешних поступлений. Это связано с тем, что дети данной возрастной группы не получали прикорм. Третью группу составили дети старше 6 месяцев, у которых имело место дополнительное поступление витамина D из продуктов прикорма. Полученные данные напрямую перекликаются со сведениями из литературных источников [179].

### Диагностическая значимость показателей костного метаболизма и витамина D у детей первого года жизни казахской популяции

После клинического обследования у всех детей измеряли уровень 25(OH)D. В зависимости от содержания витамина D в сыворотке крови, дети были разделены на группы, как показано в таблице 12.

Таблица 12 - Распределение детей по группам, в соответсвии с уровнем витамина D в сыворотке крови

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Уровень витамина D | Количество (абс) | % | 95% CI |
| «норма» | >30-75 нг/мл | 55 | 22 | 16,9–27,1 |
| «недостаточность» | 21-30 нг/мл | 60 | 24 | 18,7–29,3 |
| «дефицит» | ˂21 нг/мл | 135 | 54 | 47,8–60,2 |

Анализ данных, представленных в таблице 12, показал, что уровень витамина D в сыворотке крови находится на физиологическом уровне у 55 (22%) обследованных. Согласно данным таблицы, недостаток витамина D зафиксирован у 60 детей (24%), а дефицит - у 135 детей (54%).

Представленные данные демонстрируют очевидный факт наличия у преобладающего большинства обследованных детей (78%) различной степени снижения концентрации витамина D.

Для оценки костного метаболизма у детей необходимо учитывать баланс различных неорганических веществ. Основными элементами костной ткани являются кальций и фосфор. Так как эти вещества играют ключевую роль в функционировании органов и систем организма, важно поддерживать оптимальные уровни кальция и фосфора в сыворотке крови, что выполняет компенсаторную функцию. Основные регуляторы обмена этих веществ - кальцитонин, ПТГ и витамин D, воздействуют на костную ткань. Таблица 13 демонстрирует показатели минерального обмена и регуляции в зависимости от уровня витамина D в крови.

Таблица 13 - Показатели минерального обмена и гормоны регуляции в зависимости от уровня витамина D

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Са ммоль/л | | | | Р  ммоль/л | | | | Кальцитонин пг/мл | | | | ПТГ  пг/мл | | | |
| М | Ме | Q1 | Q3 | М | Ме | Q1 | Q3 | М | М  е | Q 1 | Q 3 | М | Ме | Q1 | Q3 |
| «норма  » (n=55) | 2,46 | 2,5  2 | 2,2  9 | 2,6  4 | 2,0  9 | 2,1  1 | 1,8  7 | 2,  23 | 3,  99 | 3,  1  8 | 2,  0 | 4,  7  9 | 20,  56 | 10,  8 | 4,5 | 25,  2 |
| «недос  таточн ость» (n=60) | 2,5 | 2,5 | 2,3  9 | 2,6 | 1,8  2 | 1,9  5 | 1,5  2 | 2,  09 | 6,  18 | 4,  6  4 | 2,  1  5 | 8,  3  7 | 19,  66 | 15,  2 | 6,1  2 | 28,  4 |
| «дефиц  ит» (n=135) | 2,36 | 2,4  1 | 2,2  4 | 2,5  2 | 1,8  7 | 1,9 | 1,5  4 | 2,  2 | 5,  62 | 4,  5  5 | 2,  0 | 6,  9  2 | 28,  39 | 20,  5 | 8,8  7 | 39,  3 |

Как видно из таблицы 13 маркеры минерального обмена, а именно Са и Р во всех группах были в пределах нормы и не зависели от уровня витамина D.

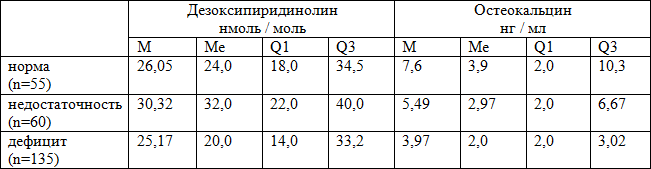
Средняя концентрация кальцитонина составила 3,99 пг/мл в группе с нормальным уровнем витамина D; 6,18 пг/мл - в группе с недостаточным уровнем и 5,62 пг/мл - в группе с дефицитом. ПТГ был зафиксирован на уровне 20,56 пг/мл в группе с нормальным содержанием витамина D; 19,66 пг/мл - в группе с недостаточностью и 28,39 пг/мл - при дефиците витамина D.

Анализ полученных результатов установил (таблица 15), что содержание ПТГ, кальцитонина распределились во всех группах в референсных значениях, независимо от уровня снижения витамина D. Это указывает на то, что концентрации ПТГ и кальцитонина находятся в равновесии. Как результат, в организме эффективно сохраняется метаболизм кальция и фосфора, а также структура костной ткани. Таким образом, показатели минерального обмена и его регуляции у детей до года при отсутствии клинических проявлений не могут быть интерпретированы в качестве достоверных диагностических маркеров нарушений костного метаболизма.

Учитывая, что формирование и резорбция костной ткани являются независимыми процессами, но в нормальных условиях тесно взаимосвязаны и их взаимосвязь лежит в основе биохимической стабильности скелета, было проведено обследование детей на ремоделирование костной ткани. Маркеры ремоделирования в нашем исследовании были представлены остеокальцином и дезоксипиридинолином.

Средние показатели остеокальцина и дезоксипиридинолина в зависимости от уровня витамина D представлены в таблице 14.

Таблица 14 - Средние показатели остеокальцина и дезоксипиридинолина в зависимости от содержания витамина D



Согласно данным таблицы 14, уровень дезоксипиридинолина в моче, являющийся индикатором костной резорбции, у детей с нормальным уровнем витамина D составил 26,05 нмоль/ммоль, при недостатке витамина D – 30,32 нмоль/ммоль, а при дефиците – 25,17 нмоль/ммоль. Все значения находятся в пределах референсных границ.

При нормальном уровне витамина D средняя концентрация остеокальцина, который является маркером формирования костной ткани, составляла 7,6 нг/мл. В условиях "недостаточности" показателей витамина D, этот уровень снижался

до 5,49 нг/мл. При "дефиците" витамина D уровень остеокальцина достигал 3,97 нг/мл. Результаты исследования продемонстрировали, что у участников с самым низким уровнем витамина D в сыворотке крови наблюдались сниженные значения остеокальцина, что может быть связано с замедленным обменом в костной ткани и зависимостью остеокальцина от концентрации витамина D в крови.В рамках исследования были сформулированы вопросы: имеется ли связь между уровнем витамина D и метаболизмом костной ткани? Какова природа и интенсивность этой связи?

Для выявления зависимости между параметрами костного метаболизма и уровнем витамина D применялся коэффициент корреляции рангов. Итоги исследования приведены в таблице 15.

Таблица 15 - Связь между концентрацией витамина D и параметрами костного обмена

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Кальций общий | Кальци тонин | Остео кальцин | Парат гормон | Фосфор | Дезоксипи ридинолин |
| Витамин D | 0,22\* | -0,175\* | 0,261\* | -0,185\* | 0,088 | 0,107 |
| Примечание - \*р – достигнутый уровень значимости | | | | | | |

Исследование, отраженное в таблице 15, позволило ответить на вышеуказанные вопросы. Оно выявило "слабую положительную корреляцию" между витамином D и уровнем кальция, а также "слабую положительную корреляцию" между витамином D и остеокальцином. Кроме того, было установлено, что существует "слабая отрицательная корреляция" между витамином D и паратгормоном и "слабая отрицательная корреляция" между витамином D и кальцитонином.

Основываясь на связи между стандартными показателями костного метаболизма витамином D, была сформулирована нулевая гипотеза о том, что уровень витамина D может иметь связь с этими показателями. Для статистической обработки данных применялся непараметрический тест Манна- Уитни. Сравнительная оценка показателей костного метаболизма в зависимости от содержания витамина D в крови представлена в таблицах 16-18.

Таблица 16 - Изменения показателей костного метаболизма в зависимости от уровня витамина D в группах «норма» и «недостаточность»

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | | Ме | Q1 | Q3 | Z | p-уров. |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Кальций  общий (Са) | «норма» | 2,52 | 2,29 | 2,64 | 0,369 | 0,711 |
| «недостаточность» | 2,5 | 2,39 | 2,6 |
| Кальцитонин | «норма» | 3,18 | 2,0 | 4,79 | -2,401 | 0,018 |
| «недостаточность» | 4,64 | 2,15 | 8,37 |

Продолжение таблицы 16

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Остеокальцин | «норма» | 3,99 | 2,08 | 10,3 | 2,541 | 0,011\* |
| «недостаточность» | 2,97 | 2,0 | 6,67 |
| Паратгормон | «норма» | 10,8 | 4,5 | 25,2 | -0,929 | 0,352 |
| «недостаточность» | 15,2 | 6,12 | 28,4 |
| Фосфор (Р) | «норма» | 2,11 | 1,87 | 2,23 | 3,087 | 0,002\* |
| «недостаточность» | 1,95 | 1,52 | 2,09 |
| Дезоксипирид олин | «норма» | 24,0 | 18,0 | 34,5 | -1,45 | 0,147 |
| «недостаточность» | 32,0 | 22,0 | 40,0 |
| Примечание - \*Отмеченные критерии значимы на уровне p <0,017 | | | | | | |

Изучение данных, представленных в таблице 16, выявило значимые статистические различия между группой детей с нормальным уровнем витамина D и группой детей с его недостатком по показателям остеокальцина (р ≤0,01) и фосфора (р ≤0,01).

Таблица 17 - Изменения показателей костного метаболизма в зависимости от уровня витамина D в группах «норма» и «дефицит»

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | | Ме | Q1 | Q3 | Z | p-уров |
| Кальций общий (Са) | «норма» | 2,52 | 2,29 | 2,64 | 2,87 | 0,003\* |
| «дефицит» | 2,41 | 2,24 | 2,52 |
| Кальцитонин | «норма» | 3,18 | 2,0 | 4,79 | -2,19 | 0,027 |
| «дефицит» | 4,55 | 2,0 | 6,92 |
| Остеокальцин | «норма» | 3,99 | 2,08 | 10,3 | 4,21 | 0,00002\* |
| «дефицит» | 2,0 | 2,0 | 3,02 |
| Паратгормон | «норма» | 10,8 | 4,5 | 25,2 | -2,58 | 0,009\* |
| «дефицит» | 20,5 | 8,87 | 39,3 |
| Фосфор (Р) | «норма» | 2,11 | 1,87 | 2,23 | 2,76 | 0,005\* |
| «дефицит» | 1,9 | 1,54 | 2,2 |
| Дезоксипиридоли н | «норма» | 24,0 | 18,0 | 34,5 | 0,99 | 0,32 |
| «дефицит» | 20,0 | 14,0 | 33,2 |
| Примечание - \*Отмеченные критерии значимы на уровне p <0,017 | | | | | | |

Согласно данным таблицы 17, выявлены значимые статистические различия между группами детей с нормальным уровнем витамина D и с дефицитом этого витамина по следующим показателям: остеокальцин (р ≤ 0,01), фосфор (р ≤ 0,01), кальций (р ≤ 0,01) и ПТГ (р ≤ 0,01). Также зафиксировано снижение уровня кальцитонина и дезоксипиридинолина, хотя последнее оказалось статистически незначимым.

Таблица 18 - Изменения показателей костного метаболизма в зависимости от уровня витамина D в группах «недостаточность» и «дефицит»

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Ме | Q1 | Q3 | Z | p-уров. |

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кальций общий (Са) | «недостаточность» | 2,5 | 2,39 | 2,6 | 3,033 | 0,002\* |
| «дефицит» | 2,41 | 2,24 | 2,52 |
| Кальцитонин | «недостаточность» | 4,64 | 2,15 | 8,37 | 0,786 | 0,431 |
| «дефицит» | 4,55 | 2,0 | 6,92 |
| Остеокальцин | «недостаточность» | 2,97 | 2,0 | 6,67 | 2,852 | 0,004\* |
| «дефицит» | 2,0 | 2,0 | 3,02 |
| Паратгормон | «недостаточность» | 15,2 | 6,12 | 28,4 | -1,898 | 0,057 |
| «дефицит» | 20,5 | 8,87 | 39,3 |
| Фосфор (Р) | «недостаточность» | 1,95 | 1,52 | 2,09 | -0,542 | 0,587 |
| «дефицит» | 1,9 | 1,54 | 2,2 |
| Дезоксипирид  олин | «недостаточность» | 32,0 | 22,0 | 40,0 | 2,273 | 0,022 |
| «дефицит» | 20,0 | 14,0 | 33,2 |
| Примечание - \*Отмеченные критерии значимы на уровне p <0,017 | | | | | | |

Как показано в таблице 18, существуют значимые статистические различия между группой детей с низким содержанием витамина D и группой с его дефицитом по уровням остеокальцина (р ≤ 0,01) и общего кальция (р ≤ 0,01). Остеокальцин, как видно из таблицы 19, является наиболее чувствительным показателем, изменяющимся в ответ на колебания уровня витамина D в одном направлении.

Таким образом, наши исследования подтвердили гипотезу о влиянии уровня витамина D на показатели костного обмена: витамин D оказывает воздействие на метаболические процессы в костной системе. Концентрации кальция, фосфора, ПТГ и остеокальцина в сыворотке зависят от уровня витамина D.

Кроме влияния на минеральный обмен, витамин D также воздействует на процессы формирования костной ткани. Остеокальцин является наиболее чувствительным индикатором, реагирующим на изменение уровня витамина D.

### Частота аллельных вариантов гена VDR, RANKL и костный метаболизм у детей до года в казахской популяции

Нарушение работы систем, регулирующих формирование и резорбцию костной ткани, что в конечном итоге определяет тяжесть остеопороза, зависит от структурной целостности генов, связанных с минеральным обменом, в том числе генов VDR и RANKL. Витамин D влияет на процессы минерализации костной ткани, соответственно рецепторам VDR принадлежит важная роль в этом процессе. Различные аллельные гены рецептора витамина D в настоящее время признаны наилучшими предикторами минеральной плотности костной ткани. По данным Cousminer D.L.et al, большинство идентифицированных генетических вариантов влияют на костный метаболизм в раннем возрасте, при этом их влияние может проявляться на протяжении всей жизни [180,181]. В настоящее время получены убедительные данные, достоверно свидетельствующие о том, что аллельный полиморфизм rs2228570 гена VDR влияет на минеральную плотность костной ткани у детей и часто варьирует в широком диапазоне в зависимости от национальной и расовой принадлежности

[182].

В таблице 19 представлены частотные характеристики генотипов и аллелей гена VDR rs2228570 у детей в казахской популяции в возрасте до 1 года.

Таблица 19 - Частотное распределение генотипов и аллелей полиморфизма гена VDR rs2228570

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Полиморфизм rs2228570 VDR | Частота генотипов | | | Частота аллелей | |
| ТТ | ТС | СС | Т | С |
| 0,26 | 0,28 | 0,46 | 0,32 | 0,68 |

Как видно из таблицы 19, наиболее часто у детей до года в казахской популяции встречался генотип СС (46%) и аллель С (68%) гена VDR rs2228570. Полиморфизм rs1544410 гена VDR влияет на изменение минеральной плотности костной ткани. На сегодняшний день проведен широкий спектр исследований для оценки связи между полиморфизмом VDR rs1544410 и нарушением костного метаболизма. Выявлено его влияние в первую очередь на уровень циркулирующего остеокальцина.

Частота генотипов и распределение аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR у детей в возрасте до одного года в казахской популяции представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Частотное распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs1544410 гена VDR

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Полиморфизм rs1544410 VDR | Частота генотипов | | | Частота аллелей | |
| GG | GА | АА | G | А |
| 0,59 | 0,38 | 0,03 | 0,77 | 0,23 |

Результаты отраженные в таблице 20 свидетельствует о том, что генотип GG у обследуемых детей встречался в 59% случаев и частота аллели G составила 77%.

Другим геном, потенциально определяющим норму и патологию формирования костной ткани, признан ген RANKL.

Ген RANKL является ключевым фактором дифференцировки и активации остеокластов, которые обеспечивают резорбцию костной ткани. Мутации данного гена вызывают нарушение костной ткани, характеризующееся повышенной плотностью из-за замедленной резорбции незрелых костных клеток. В литературе последних лет, например в работах Кит О.И., Шлык О.С. с авторами отражено, что полиморфизмы гена RANKL rs9594738 и rs9594759 увеличивают восприимчивость к изменениям минеральной плотности костной ткани, особенно у носителей аллеля T [183].

В ходе нашего дальнейшего обследования у детей до года в казахской популяции было определено частотное распределение генотипов и аллелей гена RANKL полиморфизмов rs9594738 и rs9594759. Результаты исследования представлены в таблице 21.

Таблица 21 - Частотное распределение генотипов и аллелей гена RANKL полиморфизмов rs9594738 и rs9594759

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Полиморфизм | Частота генотипов | | | Частота аллелей | |
| CC | CT | TT | C | T |
| rs 9594738  гена RANKL | 0,52 | 0,18 | 0,3 | 0,72 | 0,28 |
| rs 9594759  гена RANKL | 0,43 | 0,31 | 0,26 | 0,66 | 0,34 |

Наши результаты (таблица 21) показывают, что наиболее часто у детей до года казахской в популяции регистрируется гомозиготный генотип СС (52%) и аллель С (72%) rs 9594738 гена RANKL. При изучении полиморфизма rs 9594759 гена RANKL также чаще встречался генотип СС (43%) и аллель С (66%).

Далее были изучены взаимосвязи между показателями уровней витамина D, общего кальция, фосфора, паратгормона, кальцитонина, остеокальцина, дезоксипиридинолина и распределением частот генотипов генов VDR и RANKL. Все полиморфизмы генов находились в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга. В предыдущих главах описаны данные о распространѐнности недостаточности/дефицита витамина D. В нашем исследовании она составила 78,7%. Был проведен анализ уровней витамина D в крови в зависимости от распределения частот генотипов гена VDR rs1544410

Данные, характеризующие распределение частот генотипов в обследованных группах, представлены в таблице 22.

Таблица 22 - Уровень витамина D в зависимости от частотного распределения генотипов rs1544410 гена VDR

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs1544410 | Недостаточность/  Дефицит витамина D | Норма витамина D | χ2 | p | OR (95% CI) |
| Генотип G/G | 0,621 | 0,491 | 6,28 | 0,04 | 1,70 (1,12 – 3,10) |
| Генотип G/A | 0,344 | 0,509 |  |  | 0,50 (0,28 – 0,92) |
| Генотип A/A | 0,036 | 0,000 |  |  | 4,42 (0,25 – 78,55) |

Как видно из таблицы 22, у детей, имеющих генотип GG (p<0,05) отмечается статистически значимое снижение уровня витамина D. Шансов иметь недостаточность или дефицит витамина D у детей с генотипом GG в 1,7 раз был выше. Сила связи по Крамеру V – 0,158, что говорит о средней связи между генотипами и уровнем витамина D.

На основании полученных результатов можно предположить, что полиморфизм rs1544410 гена VDR может быть связан с нарушением метаболизма витамина D.

Нами также был изучен полиморфизм rs2228570 гена VDR, который расположен в экзоне 2 стартового кодона гена VDR и представляет собой замену аденина на гуанин (A/G). Результат для этого SNP часто варьируется в зависимости от расы и этнической принадлежности.

Данные, характеризующие распределение частот генотипов в обследованных группах, представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Уровень витамина D в зависимости от частотного распределения rs2228570 гена VDR

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs2228570 | Недостаточность/  Дефицит витамина D | Норма  витамина D | χ2 | *p* | *OR (*95% CI) |
| Генотип *T/T* | 0,256 | 0,291 | 2,85 | 0,24 | 0,84 (0,43 – 1,63) |
| Генотип *T/C* | 0,256 | 0,345 |  |  | 0,65 (0,34 – 1,24) |
| Генотип *C/C* | 0,487 | 0,364 |  |  | 1,66 (0,90 – 3,08) |

В результате генотипирования выявлено, что при генотипе СС чаще отмечается сниженный уровень витамина D. У детей с генотипом СС шанс иметь гиповитаминз в 1,66 раз выше, чем у детей с другим генотипом (таблица 23).

Следующим шагом было определение ассоциации между генотипами rs9594759 и rs9594738 гена RANKL и уровнем витамина D.

Анализ уровней витамина D в крови в зависимости от распределения частот генотипов гена RANKL rs9594759 нашел свое отражение в таблице 24.

Таблица 24 - Уровень витамина D в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594759

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594759 | Недостаточность/ Дефицит витамина D | Норма  витамина D | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач. | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,426 | 0,410 | 3,07 | 0,22 | 1,03 | 0,56 – 1,89 |
| Генотип C/T | 0,333 | 0,236 | 1,62 | 0,81 – 3,22 |
| Генотип T/T | 0,241 | 0,345 | 0,60 | 0,32 – 1,15 |

Анализ результатов генотипирования RANKL rs9594759 (таблица 24) не продемонстрировал достоверной взаимосвязи от уровня сывороточной концентрации витамина D. Вместе с тем, снижение уровня витамина D отмечено у детей в казахской популяции, имеющих генотип СС и СТ.

Результаты распределения частот генотипов гена RANKL rs9594759 и уровень витамина D представлены в таблице 25.

Таблица 25 - Уровень витамина D в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs959473

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594738 | Недостаточность/ Дефицит витамина D | Норма витамина  D | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач. | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,505 | 0,545 | 2,72 | 0,26 | 0,85 | 0,47 – 1,55 |
| Генотип C/T | 0,205 | 0,109 | 2,11 | 0,84 – 5,28 |
| Генотип T/T | 0,289 | 0,345 | 0,77 | 0,41 – 1,46 |

Анализ полученных результатов показал, что у детей до 1 года в казахской популяции с генотипом СT уровень витамина D был снижен. У детей с генотипом СT вероятность дефицита витамина D по сравнению с нормальным его содержанием в 2,11 раза выше (таблица 26).

Таким образом, у детей с генотипом GG гена VDR rs1544410 дефицит и недостаточность витамина D встречались чаще, при этом вероятность наличия этого генотипа была в 1,7 раза выше, чем у детей с нормальным содержанием витамина D (p<0,05). Сравнение генотипов гена VDR rs2228570, гена RANKL rs9594759 и гена RANKL rs9594738 у детей в казахской популяции не выявило статистически значимой разницы уровней витамина D.

Кальций является микроэлементом, его содержание занимает важное место в организме. Вместе с фосфором он составляет основу костной ткани.

При обследовании детей до года в казахской популяции отклонение уровня кальция от референсных значений выявлено в 26,4% случаев.

Был проведен анализ содержания общего кальция в крови в зависимости от распределения частот генотипов гена VDR rs1544410 (таблица 26).

Таблица 26 - Уровень общего кальция в зависимости от частотного распределения гена VDR rs1544410

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs1544410 | Измененные  показатели уровня кальция | Нормальный уровень кальция | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач. | 95% CI |
| Генотип G/G | 0,530 | 0,614 | 1,43 | 0,49 | 0,71 | 0,40 – 1,25 |
| Генотип G/A | 0,439 | 0,359 | 1,40 | 0,79 – 2,48 |
| Генотип A/A | 0,030 | 0,027 | 1,12 | 0,21 – 5,91 |

Как видно из таблицы 26, при изучении частотного распределения генотипов гена VDR rs1544410, выявлено, что у детей в казахской популяции уровень общего кальция, не соответствующий референсным значениям, отмечается при наличии генотипа GА. Расчет показателей отношения шансов изменения уровня общего кальция показал у детей носителей гетерозиготного генотипа GА и гомозиготного генотипа АА OR 1,4 95% CI (0,79 – 2,48) и 1,12

95% CI (0,21 – 5,91) соответственно.

Далее нами проведен сравнительный анализ частот генотипов rs2228570 гена VDR и уровня общего кальция. Результаты распределения частот генотипов гена VDR rs2228570 в зависимости от уровня общего кальция представлены в таблице 27.

Таблица 27 - Уровень общего кальция в зависимости от частотного распределения гена VDR rs2228570

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs2228570 | Измененные показатели уровня кальция | Нормальный уровень кальция | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип T/T | 0,258 | 0,266 | 2,30 | 0,32 | 0,96 | 0,50 – 1,82 |
| Генотип T/C | 0,212 | 0,299 | 0,63 | 0,32 – 1,23 |
| Генотип C/C | 0,530 | 0,435 | 1,47 | 0,83 – 2,58 |

По результатам исследования выявлено, что при наличии генотипа СС отмечается изменение уровня общего кальция у детей в казахской популяции. При генотие СС шанс иметь измененные показатели уровня кальция по сравнению с нормальным содержанием в 1,47 раз выше.

Результаты распределения уровня общего кальция в зависимости от частот генотипов гена RANKL rs9594759 представлены в таблице 28.

Таблица 28 - Уровень общего кальция в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594759

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594759 | Измененные  показатели уровня кальция | Нормальный  уровень кальция | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач. | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,424 | 0,424 | 0,36 | 0,83 | 1,00 | 0,57 – 1,77 |
| Генотип C/T | 0,288 | 0,321 | 0,86 | 0,46 – 1,59 |
| Генотип T/T | 0,288 | 0,255 | 1,18 | 0,63 – 2,21 |

Анализ генотипических частот rs9594759 гена RANKL продемонстрировал, что изменения уровня общего кальция у обследованных детей отмечаются при наличии гомозиготного генотипа ТТ.

Результаты распределения уровня общего кальция в зависимости от частот генотипов гена RANKL rs9594738 представлены в таблице 29.

Таблица 29 - Уровень общего кальция в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594738

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594738 | Измененные показатели  уровня кальция | Нормальный уровень  кальция | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,516 | 0,514 | 0,01 | 0,99 | 1,01 | 0,57 – 1,78 |
| Генотип C/T | 0,188 | 0,182 | 1,03 | 0,50 – 2,15 |
| Генотип T/T | 0,297 | 0,304 | 0,97 | 0,52 – 1,80 |

Как видно из таблицы 29, различий между носителями СС и СТ генотипов, СТ и ТТ генотипов, а также носителями СС и ТТ генотипов по уровням содержания кальция в крови у детей в казахской популяции не выявлено.

Таким образом, статистически значимых взаимосвязей генотипов гена VDR rs1544410, rs2228570 и RANKL rs9594759, rs9594738 и уровнем общего кальция не обнаружено.

Другим жизненно важным для человека микроэлементом, который участвует в большинстве обменных процессов организма и необходим для формирования тканей, особенно костной является фосфор. Кальциевый и фосфорный обмены тесно взаимосвязаны: повышенная концентрация одного электролита в плазме ведет к усиленному выделению почками другого.

При обследовании детей до года в казахской популяции на уровень фосфора в крови у 41(16,4%) ребенка была выявлена гипофосфатемия.

Был проведен анализ распределения частот генотипов гена VDR rs1544410 у данной группы детей.

Как видно из таблицы 30, при распределении генотипов гена VDR rs1544410 у детей с генотипом GG OR 2,58 (95% CI: 1,18-5,66) отмечается достоверно значимое преобладание гипофосфатемии.

Таблица 30 - Уровень фосфора в зависимости от частотного распределения гена VDR rs1544410

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs1544410 | Гипофосфатем ия | Нормальный уровень  фосфора | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип G/G | 0,756 | 0,545 | 6,41 | 0,04 | 2,58 | 1,18 – 5,66 |
| Генотип G/A | 0,244 | 0,420 | 0,45 | 0,20 – 0,98 |
| Генотип A/A | 0,000 | 0,035 | 0.30 | 0,02 – 5,60 |

Сила связи по Крамеру V-0.187, что говорит о средней связи между генотипами и уровнем фосфора.

Такой же анализ был проведен при изучении генотипа гена VDR rs2228570. Результаты представлены в таблице 31.

Таблица 31 - Уровень фосфора в зависимости от частотного распределения гена VDR rs2228570

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs2228570 | Гипофосфатем ия | Нормальные показатели фосфора | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип T/T | 0,262 | 0,266 | 0,18 | 0,91 | 0,98 | 0,55 – 1,73 |
| Генотип T/C | 0,290 | 0,266 | 1,13 | 0,64 – 1,97 |
| Генотип C/C | 0,449 | 0,469 | 0,92 | 0,56 – 1,53 |

Как видно из таблицы 31, у детей в казахской популяции, как при снижении, так и при нормальном содержании уровня фосфора в крови определяется преобладание генотипа ТС гена VDR rs2228570.

Далее были изучены взаимосвязи генотипов гена RANKL rs9594759 и уровня фосфора в крови. Результаты уровня фосфора в зависимости от генотипирования гена RANKL rs9594759 представлены в таблице 32.

Таблица 32 - Уровень фосфора в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594759

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594759 | Гипофосфатем ия | Нормальные показатели фосфора | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,486 | 0,378 | 3,01 | 0,22 | 1,56 | 0,94 – 2,59 |
| Генотип C/T | 0,271 | 0,343 | 0,71 | 0,41 – 1,23 |
| Генотип T/T | 0,243 | 0,280 | 0,83 | 0,47 – 1,47 |

Как видно из таблицы 32, при наличии генотипа СС гена RANKL rs9594759 у детей в казахской популяции отмечается снижение уровня

фосфора. Шанс иметь этот генотип в 1,56 раз выше, чем у детей с нормальным содержанием уровня фосфора.

Сравнительный анализ уровней фосфора в зависимости от частот генотипов rs9594738 гена RANKL не выявил различия (таблица 33).

Таблица 33 - Уровень фосфора в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594738

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594738 | Гипофосфате мия | Нормальные показатели  фосфора | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,566 | 0,475 | 3,68 | 0,16 | 1,44 | 0,87 – 2,40 |
| Генотип C/T | 0,132 | 0,223 | 0,53 | 0,27 – 1,06 |
| Генотип T/T | 0,302 | 0,302 | 1,00 | 0,58 – 1,73 |

Анализ генотипических частот гена RANKL rs9594738 (таблицы 33) продемонстрировал, что уровень фосфора ниже референсных встречается чаще у детей в казахской популяции, имеющих гомозиготный генотип СС. Уровень фосфора в крови у них (OR 1,44 95% CI (0,87 – 2,40)).

Таким образом, отмечается достоверно значимое преобладание гипофосфатемии у детей с генотипом GG (OR 2,58 95% CI (1,18-5,66)) гена VDR rs1544410. В других случаях взаимосвязей генотипов гена VDR rs2228570 и RANKL rs9594759, rs9594738 в зависимости от уровня фосфора не выявлено. Как известно, основным регулятором метаболизма костной ткани является паратгормон. В ходе обследования был проведен анализ уровня ПТГ в крови в зависимости от распределения частот генотипов гена VDR rs1544410 (таблица 34). В нашем исследовании детей с уровнем ПТГ, выходящим за референсные

значения, было 128 (51,2%).

Таблица 34 - Уровень ПТГ в зависимости от частотного распределения гена VDR rs1544410

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs1544410 | Измененные  показатели уровня ПТГ | Нормальные  показатели ПТГ | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач. | 95% CI |
| Генотип G/G | 0,609 | 0,574 | 1,59 | 0,45 | 1,16 | 0,70 – 1,92 |
| Генотип G/A | 0,375 | 0,385 | 0,96 | 0,57 – 1,60 |
| Генотип A/A | 0,016 | 0,041 | 0,37 | 0,07 – 1,95 |

Как видно из таблицы 34, при наличии генотипа GG гена VDR rs1544410 отмечается изменение ПТГ у детей в казахской популяции, при этом шанс иметь данный генотип в 1,16 раз выше у детей, имеющих измененную концентрацию паратгормона.

При этом известно, что наличие в генотипе аллеля А гена VDR rs1544410

ассоциировано со снижением минеральной плотности костной ткани и повышением уровня паратиреоидного гормона в крови.

Результаты уровня ПТГ в зависимости от частотного распределения генотипов гена VDR rs2228570 представлены в таблице 35.

Таблица 35 - Уровень ПТГ в зависимости от частотного распределения гена VDR rs2228570

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs2228570 | Измененные показатели  уровня ПТГ | Нормальные показатели  ПТГ | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип T/T | 0,219 | 0,311 | 2,97 | 0,23 | 0,62 | 0,35 – 1,09 |
| Генотип T/C | 0,281 | 0,270 | 1,06 | 0,61 – 1,84 |
| Генотип C/C | 0,500 | 0,418 | 1,39 | 0,84 – 2,29 |

У детей в казахской популяции, имеющих генотип СС гена VDR rs2228570 отмечается преобладание измененного уровня ПТГ. При этом шанс иметь данный генотип был выше в 1,39 раз у детей, у которых отмечаются изменѐнные показатели уровня ПТГ.

Далее проведен анализ содержания ПТГ в крови в зависимости от распределения частот генотипов гена RANKL rs9594759 (таблица 36).

Таблица 36 - Уровень ПТГ в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594759

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594759 | Измененные показатели  уровня ПТГ | Нормальные показатели  ПТГ | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,453 | 0,393 | 1,04 | 0,59 | 1,28 | 0,77 – 2,11 |
| Генотип C/T | 0,305 | 0,320 | 0,93 | 0,55 – 1,59 |
| Генотип T/T | 0,242 | 0,287 | 0,79 | 0,45 – 1,40 |

Как видно из таблицы 36, у детей в казахской популяции с генотипом СС гена RANKL rs9594759 изменения уровня ПТГ отмечаются чаще.

Результаты распределения уровня ПТГ в зависимости от частот генотипов гена RANKL rs9594738 представлены в таблице 37.

Таблица 37 - Уровень ПТГ в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594738

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594738 | Измененные показатели  уровня ПТГ | Нормальные показатели  ПТГ | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,516 | 0,513 | 0,00 | 1 | 1,01 | 0,61 – 1,67 |
| Генотип C/T | 0,183 | 0,185 | 0,98 | 0,52 – 1,88 |
| Генотип T/T | 0,302 | 0,303 | 1,00 | 0,58 – 1,72 |

Как видно из таблицы 37, статистически значимых различий между носителями СС и СТ генотипов, СТ и ТТ генотипов, а также носителями СС и ТТ генотипов гена RANKL rs9594738 по уровням ПТГ у детей в казахской популяции не выявлено.

Таким образом, статистически значимых взаимосвязей генотипов гена VDR rs1544410, rs2228570 и RANKL rs9594759, rs9594738 и уровнем ПТГ не выявлено.

Другим важнейшим регулятором кальций-фосфорного обмена является кальцитонин - прямой антагонист паратгормона. При обследовании было отмечено повышение уровня кальцитонина только у 27(10,8%) детей. По данным литературы у детей грудного возраста повышение кальцитонина может быть связано с грудным вскармливанием.

Мы провели анализ содержания кальцитонина в крови в зависимости от распределения частот генотипов гена VDR rs1544410 (таблица 38).

Таблица 38 - Уровень кальцитонина в зависимости от частотного распределения гена VDR rs1544410

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs1544410 | Повышенные показатели  уровня кальцитонина | Нормальные показатели кальцитонина | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач. | 95% CI |
| Генотип G/G | 0,741 | 0,574 | 3,20 | 0,2 | 2,12 | 0,86 – 5,22 |
| Генотип G/A | 0,222 | 0,399 | 0,43 | 0,17 – 1,11 |
| Генотип A/A | 0,037 | 0,027 | 1,39 | 0,16 – 12,01 |

У детей в казахской популяции при наличии генотипа GG гена VDR rs1544410 отмечается повышение содержания кальцитонина. При этом шанс иметь данный генотип в 2,12 раза выше у детей с повышенным уровнем кальцитонина, чем у детей с нормальным содержанием кальцитонина.

Далее в таблице 39 представлены результаты содержания кальцитонина в зависимости от распределения частот генотипов гена VDR rs2228570.

Таблица 39 - Уровень кальцитонина в зависимости от частотного распределения гена VDR rs2228570

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs2228570 | Повышенные показатели  уровня кальцитонина | Нормальные показатели кальцитонина | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип T/T | 0,222 | 0,269 | 2,26 | 0,32 | 0,78 | 0,30 – 2,02 |
| Генотип T/C | 0,185 | 0,287 | 0,56 | 0,20 – 1,56 |
| Генотип C/C | 0,593 | 0,444 | 1,82 | 0,81 – 4,10 |

Как видно из таблицы 39 у детей с генотипом СС гена VDR rs2228570 (OR 1,82 95% CI (0.81 – 4.10)) преобладает повышенный уровень кальцитонина.

Далее нами изучено содержание кальцитонина в крови в зависимости от распределения частот генотипов гена RANKL rs9594759 (таблица 40).

Таблица 40 - Уровень кальцитонина в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594759

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594759 | Повышенные показатели  уровня кальцитонина | Нормальные показатели кальцитонина | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,370 | 0,430 | 7,02 | 0,03 | 0,78 | 0,34 – 1,78 |
| Генотип C/T | 0,519 | 0,287 | 2,68 | 1,19 – 6,01 |
| Генотип T/T | 0,111 | 0,283 | 0,32 | 0,09 – 1,09 |

Как видно из таблицы 40, у детей, имеющих генотип СТ (p<0,05) отмечается статистически значимое повышение уровня кальцитонина. Генотип СТ встречался чаще у детей с повышенным уровнем кальцитонина и шансов иметь СТ генотип был выше в 2,68 раз, по сравнению с детьми, имеющими нормальное содержание данного показателя. По Крамеру V-0,167. Выявлена средняя связь.

Далее представлены результаты распределения уровня кальцитонина в зависимости от частот генотипов гена RANKL rs9594738 (таблица 41).

Таблица 41 - Уровень кальцитонина в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594738

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594738 | Повышенные показатели уровня кальцитонина | Нормальные показатели  кальцитонин а | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,593 | 0,505 | 1,98 | 0,37 | 1,43 | 0,63 – 3,22 |
| Генотип C/T | 0,222 | 0,179 | 1,31 | 0,50 – 3,46 |
| Генотип T/T | 0,185 | 0,317 | 0,49 | 0,18 – 1,35 |

Анализ данных показал, что у детей в казахской популяции при наличии генотипа СС гена RANKL rs9594738 OR 1,43 95% CI (0,63 – 3,22) преобладает повышение уровня кальцитонина.

О состоянии костного метаболизма можно также судить по концентрации в сыворотке крови биохимического маркера костного формирования - остеокальцина. В нашем исследовании детей с повышенным уровнем остеокальцина не было, снижение уровня остеокальцина отмечалось в 138 (55,2%) случаях.

Был проведен анализ взаимосвязи частотного распределения генотипов гена VDR rs1544410 и уровня остеокальцина в крови (таблица 42).

Таблица 42 - Уровень остеокальцина в зависимости от частотного распределения гена VDR rs1544410

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs1544410 | Сниженные показатели  уровня остеокальцина | Нормальные показатели  остеокальцин а | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач. | 95% CI |
| Генотип G/G | 0,652 | 0,518 | 4,67 | 0,1 | 1,75 | 1,05 – 2,91 |
| Генотип G/A | 0,326 | 0,446 | 0,60 | 0,36 – 1,00 |
| Генотип A/A | 0,022 | 0,036 | 0,60 | 0,13 – 2,74 |

Анализ частотного распределения гена VDR rs1544410 показал, что у детей - носителей GG-генотипа отмечается снижение уровня остеокальцина в сыворотке крови OR 1,75 95% CI (1,05 – 2,91). Результаты распределения уровня остеокальцина в зависимости от частотного распределения гена VDR rs2228570 представлены в таблице 43.

Таблица 43 - Уровень остеокальцина в зависимости от частотного распределения гена VDR rs2228570

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs2228570 | Сниженные показатели уровня остеокальцина | Нормальные показатели  остеокальци на | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип T/T | 0,239 | 0,295 | 1,51 | 0,47 | 0,75 | 0,43 – 1,32 |
| Генотип T/C | 0,268 | 0,286 | 0,92 | 0,52 – 1,60 |
| Генотип C/C | 0,493 | 0,420 | 1,34 | 0,81 – 2,22 |

Как видно из таблицы 43, у детей в казахской популяции носителей генотипа СС гена VDR rs2228570 отмечается снижение уровня остеокальцина в крови. При этом шанс иметь данный генотип в 1,34 раза выше у детей со сниженным уровнем, чем у детей с нормальным содержанием остеокальцина.

Нами проанализировано распределение уровня остеокальцина в зависимости от частоты генотипов гена RANKL rs9594759 (таблица 44).

Таблица 44 - Уровень остеокальцина в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594759

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594759 | Сниженные показатели уровня остеокальцина | Нормальные показатели остеокальци  на | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,478 | 0,357 | 3,83 | 0,15 | 1,65 | 0,99 – 2,75 |
| Генотип C/T | 0,275 | 0,357 | 0,68 | 0,40 – 1,17 |
| Генотип T/T | 0,246 | 0,286 | 0,82 | 0,47 – 1,44 |

У детей казахской популяции при носительстве генотипа СС гена RANKL rs9594759 отмечается снижение уровня остеокальцина. При этом шанс иметь данный генотип 1,65 раз выше, чем у детей с нормальным содержанием остеокальцина в крови.

Результаты распределения уровня остеокальцина в зависимости от частоты генотипов гена RANKL rs9594738 представлены в таблице 45.

Таблица 45 - Уровень остеокальцина в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594738

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594738 | Сниженные показатели уровня остеокальцина | Нормальные показатели  остеокальци на | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,522 | 0,505 | 0,08 | 0,96 | 1,07 | 0,65-1,78 |
| Генотип C/T | 0,179 | 0,189 | 0,94 | 0,49-1,79 |
| Генотип T/T | 0,299 | 0,306 | 0,96 | 0,56-167 |

Как видно из таблицы 45, у детей, имеющих ген RANKL rs9594738 статистически значимых различий между носителями СС и СТ генотипов, СТ и ТТ генотипов, а также носителями СС и ТТ генотипов по уровню остеокальцина не обнаружено.

Таким образом, статистически значимых взаимосвязей генотипов гена VDR rs1544410, rs2228570, RANKL rs9594759, rs9594738 и уровнем

остеокальцина не выявлено.

Следующим показателем, который используется для оценки состояния костной ткани, является дезоксипиридинолин. В нашем исследовании детей с содержанием дезоксипиридинолина выходящим за референсные значения было 26 (10,4%). Отклонение от нормальных значений ДПИД в сторону увеличения характерно для ряда патологий, протекание которых приводит к нарушению резорбции костной ткани. Нами изучено распределение концентрации дезоксипиридинолина в моче в зависимости от частот генотипов гена VDR rs1544410 (таблица 46).

Таблица 46 - Уровень дезоксипиридинолина в моче в зависимости от частотного распределения гена VDR rs1544410

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs1544410 | Повышенные показатели уровня дезоксипиридин  олина | Нормальные показатели дезоксипирид инолина | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип *G/G* | 0,385 | 0,535 | 3,18 | 0,2 | 0,54 | 0,27 – 1,08 |
| Генотип *G/A* | 0,596 | 0,444 | 1,85 | 0,93 – 3,65 |
| Генотип *A/A* | 0,019 | 0,020 | 0,95 | 0,08 – 10,74 |

Данные из таблицы 46 демонстрируют, что у детей в казахской популяции при носительстве генотипа GA гена VDR rs1544410 (OR 1,85 95% CI (0,93 – 3,65)) встречаются повышенные показатели дезоксипиридинолина.

Результаты анализа распределения уровня дезоксипиридинолина в зависимости от частот генотипов гена VDR rs2228570 представлены в таблице

47.

Таблица 47 - Уровень дезоксипиридинолина в моче в зависимости от частотного распределения гена VDR rs2228570

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs2228570 | Повышенные показатели уровня  дезоксипиридин олина | Нормальные показатели дезоксипирид инолина | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип T/T | 0,269 | 0,354 | 5,46 | 0,07 | 0,67 | 0,32 – 1,41 |
| Генотип T/C | 0,365 | 0,192 | 2,42 | 1,14 – 5,15 |
| Генотип C/C | 0,365 | 0,455 | 0,69 | 0,35 – 1,38 |

Как видно из таблицы 47, у детей казахской популяции при генотипе ТС гена VDR rs2228570 преобладает повышение содержания дезоксипиридинолина в моче. При этом шанс иметь генотип ТС выше в 2,42 раза у детей с повышенным содержанием дезоксипиридинолина, чем у детей с нормальным его содержанием.

Далее нами проанализировано распределение содержания дезоксипиридинолина в моче в зависимости от частоты генотипов RANKL rs9594759 (таблица 48).

Таблица 48 - Уровень дезоксипиридинолина в моче в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594759

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594759 | Повышенные показатели уровня дезоксипиридин  олина | Нормальные показатели дезоксипирид инолина | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,423 | 0,354 | 2,02 | 0,36 | 1,34 | 0,67 – 2,67 |
| Генотип C/T | 0,327 | 0,283 | 1,23 | 0,60 – 2,55 |
| Генотип T/T | 0,250 | 0,364 | 0,58 | 0,28 – 1,23 |

У детей в казахской популяции с генотипом СС и генотипом СТ гена RANKL rs9594759с преобладает повышенное содержание дезоксипиридинолина.

Результаты распределения содержания дезоксипиридинолина в зависимости от частоты генотипов гена RANKL rs9594738 представлены в таблице 49.

Таблица 49 - Уровень дезоксипиридинолина в моче в зависимости от частотного распределения гена RANKL rs9594738

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| rs9594738 | Повышенные показатели уровня  дезоксипиридин олина | Нормальные показатели дезоксипирид инолина | χ2 | p | OR (95% CI) | |
| знач  . | 95% CI |
| Генотип C/C | 0,500 | 0,455 | 0,37 | 0,83 | 1,20 | 0,61 – 2,35 |
| Генотип C/T | 0,212 | 0,212 | 1,00 | 0,44 – 2,27 |
| Генотип T/T | 0,288 | 0,333 | 0,81 | 0,39 – 1,68 |

При сравнении частот распределения полиморфных генотипов гена RANKL rs9594738 у детей в казахской популяции с повышеным и нормальным содержанием дезоксипиридинолина статистически достоверных различий не выявлено.

Таким образом, анализ частотного распределения показателей наглядно продемонстрировал, что генотип СС rs2228570 полиморфного варианта гена VDR у обследуемых детей встречался в 46%, GG rs1544410 - в 59%. Наиболее часто у детей до года в казахской популяции регистрировался гомозиготный генотип СС (52%) rs 9594738 гена RANKL, соответственно генотип СС rs9594759 – в 43%.

Выявлена достоверная средняя связь носительства генотипа GG (p<0,05) rs1544410 полиморфного варианта гена VDR и снижения содержания витамина D и уровня фосфора у детей до года в казахской популяции.

Возможным маркером повышенного риска развития нарушения костного метаболизма у детей до года казахской популяции является наличие генотипа GG (p<0,05) rs1544410 полиморфизма гена VDR.

Также обнаружена статистически значимая средняя связь между наличием генотипа СТ rs9594759 полиморфизма гена RANKL и концентрацией кальцитонина у детей до года в казахской популяции.

Результаты исследования могут стать основополагающими факторами в оценке риска развития и профилактике нарушений костной системы у детей. Включение в генетический паспорт данных об определенных полиморфизмах поможет спрогнозировать нарушения костного метаболизма.

### Алгоритм донозологической диагностики нарушения костного метаболизма у детей до года казахской популяции

Нами был разработан алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей до года.

Алгоритм состоит из трех этапов:

Первый этап алгоритма - анамнестический Второй этап – лабораторный

Третий этап - молекулярно-генетический

Полученные данные показали, что в 80,4 % случаев матери обследуемых детей имели отклонения в состоянии здоровья. Алгоритм донозологической диагностики нарушения костного метаболизма предполагает обследование только тех детей, у которых отягощенный анамнез, имеются неблагоприятные факторы анте-, постнатального периода.

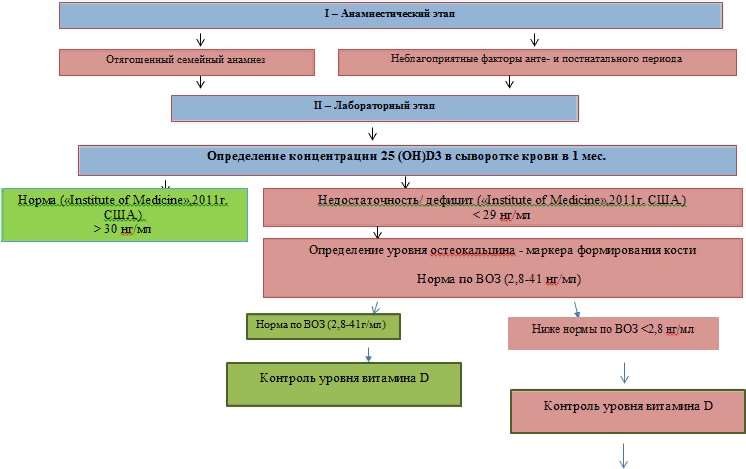
Второй этап алгоритма, лабораторный, связан с определением уровня витамина D в 1 месяц жизни. Проведенное обследование детей на уровень витамина D в сыворотке крови, выявило высокую распространенность недостаточности/дефицита витамина D, которая составила 78%. Самые низкие значения были обнаружены в неонатальном периоде (14,23 ± 2,8 нг/мл). Данные литературы свидетельствуют о том, что обследование детей сразу после рождения нерационально, так как у них циркулирует витамин D от матери. При этом в связи с высоким сродством 25(ОН)D3 к D-связывающему белку полупериод жизни циркулирующего витамина D в крови составляет 20-30 суток [184].

При дефиците/недостаточности витамина D необходимо определить у него остеокальцин, который является основным маркером костеообразования. В нашем исследовании, остеокальцин оказался наиболее чувствительным индикатором, реагирующим на изменение уровня витамина D.

При снижении уровня остеокальцина необходимо обследовать данных детей в динамике в 12 мес. на содержание витамина D.

Если в 12 мес. уровень витамина D ниже нормы, это дает основание предполагать, что экзогенное поступление (алиментарное, введение препаратов витамина D), а также преобразование метаболитов витамина D в коже под влиянием солнечного света эффекта не дало. Следовательно, такого ребенка необходимо направить на третий, молекулярно-генетический этап (рисунок 10).

На данный алгоритм получена полезная модель №6968 «Способ доклинической диагностики недостаточности витамина D у детей до года».



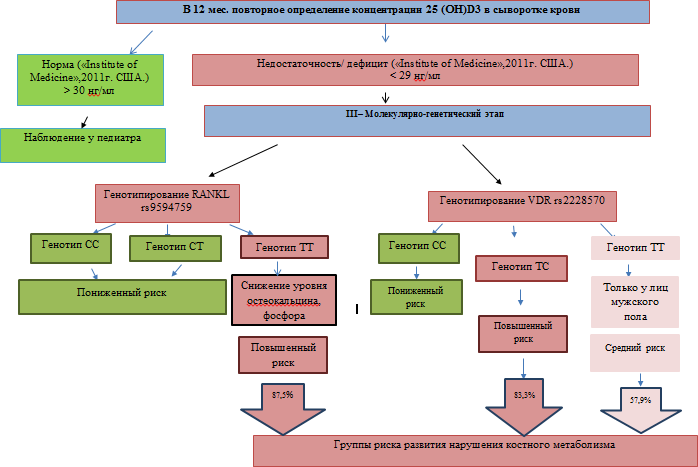


Рисунок 10 - Алгоритм донозологической диагностики нарушения костного метаболизма

На третьем этапе необходимо проводить обследование на полиморфизмы

генов RANKL rs9594759 и VDR rs2228570, так как они являются генами, отвечающими за нарушения костного метаболизма. Для выявления рисков нарушения костного метаболизма был проведен многофакторный анализ прогнозирования целевой переменной – «древо решений». Этот метод основывается на распределении пациентов по классам с определенным уровнем риска развития нежелательных явлений.

Проведенное обследовние показало, что при полиморфизме rs2228570 гена VDR генотипах ТТ у лиц мужского пола риск нарушения костного метаболизма составил - 57,9% (рисунок 11).



Рисунок 11 - Риск нарушения костного метаболизма при VDR rs2228570 генотипе ТТ

При полиморфизме rs2228570 гена VDR генотип ТС риск нарушения костного метаболизма значительно увеличивается. При этом гендерных различий не отмечается, имеется риск нарушения костного метаболизма в **83,3%** (рисунок 11).

Многофакторный анализ прогнозирования целевой переменной при полиморфизме rs9594759 гена RANKL генотип ТТ представлен на рисунок 12.

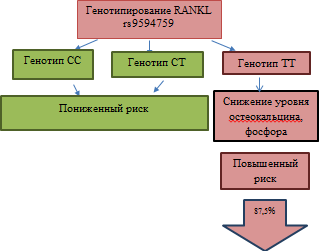


Рисунок 12 - Риск нарушения костного метаболизма при RANKL rs9594759 генотипе ТТ

Как видно из рисунка 12, дети, с полиморфизмом rs9594759 гена RANKL генотипе ТТ при патологических уровнях остеокальцина и фосфора имеют риск нарушения костного метаболизма-**87,5%.**

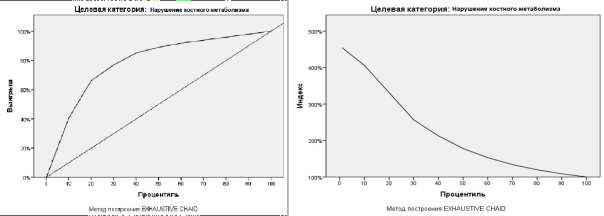
Р 

Рисунок 13 – Качество модели демонстрирует удовлетворительное качество В итоге, генетический этап алгоритма «Риск развития нарушений костного

метаболизма у детей до года» можно представить в виде следующего фрагмента рисунок 14.

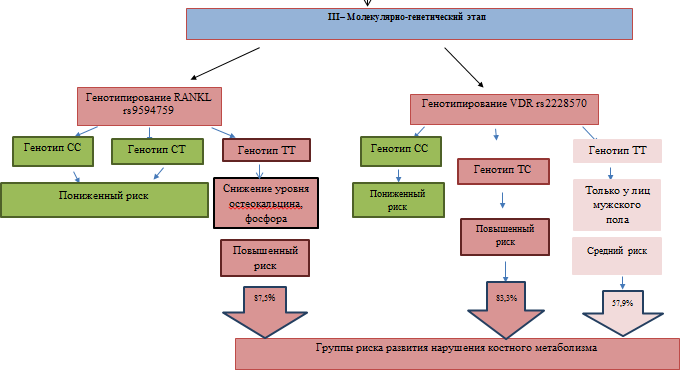


Рисунок 14 - Алгоритм «Риск развития нарушений костного метаболизма

у детей до года»

Таким образом, выявление данных о наличии полиморфизмов могут быть использованы для прогнозирования риска развития заболеваний костной системы.

Пример, Ребенок А. от 1 беременности 1 родов имел отягощеный анамнез (анемия у матери Hb- 84г/л, токсикоз в 1 триместре беременности). Биохимические анализы показали снижение витамина D-12.3 нг/мл и остеокацина до 2,0 нг/мл. При генетическом обследовании выявлен rs9594759 гена RANKL генотип ТТ, что послужило основанием для выделения данного ребенка в группу риска по развитию остеопении.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Состояние костной ткани является показателем, отражающим функциональное состояние и общий уровень здоровья ребенка [4,р. 2549]. Общая картина изменения костной массы у человека подразумевает ее рост в детские годы, достижением максимума в 20-летнем возрасте, затем стабилизацией и постепенным снижением после 35 лет, что в конечном итоге приводит к развитию остеопороза [4,р. 2549].

В развитии детей выделяют критические периоды, когда происходят процессы, характеризующиеся значительным ростом, ускоренной реконструкцией скелета и активной минерализацией костной ткани. Одним из них является первый год жизни [9,р. 203], поэтому мы сосредоточились на изучении костного метаболизма именно в этот период. Нарушение процессов минерализации кости, возникающее в детстве, может быть причиной остеопороза в зрелом возрасте [14,р. 501], что считается серьезной клинической проблемой.

По данным Куликова К.С., Abbas M.A., Amer M. И др.было установлено, что витамин D является гормоном, регулирующим практически весь обмен веществ и его рецепторы находятся почти во всех органах и тканях [79,р. 255]. В связи с широким распространением рецепторов витамина D, их роль в контроле функциональных свойств систем организма значительна [76,с. 17], поэтому изучение его действия важно для понимания патогенеза нарушений костного метаболизма.

Для выявления возможных предикторов нарушений костного метаболизма у детей был изучен анамнез течения беременности и родов. При изучении анамнеза 250 матерей было выявлено, что в 80,4 %; (n=201) случаев имели место отклонения в состоянии здоровья женщин. Практически каждая вторая женщина имела гестоз 1 половины беременности, анемию. В большом проценте случаев выявлялась инфекционная и соматическая патология матерей (37,6% и 31,2% соответственно). В структуре патологии преобладали инфекционно- воспалительные заболевания мочеполовой системы (52,3%) женщин. Эти данные согласуются с результатами исследования Н.А. Зюзевой, которая проводила комплексное обследование состояния здоровья новорожденных и обеспеченность витамином D в рамках российского когортного многоцентрового исследования "РОДНИЧОК". Автор установила, что 89,2% матерей в исследуемой группе имели отклонения в состоянии здоровья [185].

Нами проведен анализ профилактики с использованием витаминно- минеральных комплексов среди матерей в антенатальном периоде. В состав витаминно-минерального комплекса входили кальций и профилактическая доза витамина D (400 МЕ). Данный анализ показал, что доля женщин, принимавших эти комплексы во время беременности, составила 29,6% (n=74). M. L. Tan с соавторами (2020г.) проанализировали 19 исследований, посвященных здоровью костей, для оценки эффекта от введения витамина D кормящим

матерям и младенцам [186]. Согласно исследованиям Brustad N. и коллег, прием витамина D в дозировке 400-4000 МЕ/сут предотвращает развитие биохимических и рентгенологических признаков рахита в первое полугодие жизни. Это происходит за счет повышения уровня 25- гидроксихолекальциферола в крови. Однако использование более высоких доз витамина D у детей в возрасте от рождения до шести лет может привести к серьезным побочным эффектам [187].

S. Hurmuzlu Kozler et al. (2022) отмечают, что уровень потребления витамина D на первом году жизни составил 83%, а в возрасте от одного до двух лет этот показатель снижается до 28% [188]. Анализ результатов нашего исследования показал, что 55,6% (n=139) женщин не получали пренатальную профилактику. Такой высокий показатель можно объяснить тем, что пренатальная профилактика витамином D не включена в клинические протоколы РК.

Несбалансированное питание и связанный с ним дефицит витамина D также играет важную роль в высокой распространенности нарушений костного метаболизма у детей [18,р. 1863]. Так, S. Uday et al. (2021) в своем исследовании, посвященном эффектам витамина D и потребления пищи на зрелость костей у социально-экономически неблагополучных детей пришли к выводу, что при наличии недостаточного питания введение экзогенного витамина D неэффективно, что привлекает внимание к необходимости нормализации пищевого статуса ребенка в качестве приоритета [189]. Учитывая важность влияния витамина D на факторы развития ребенка, данное исследование подтверждает необходимость изучение добавок витамина D в контексте питания как одной из форм обеспечения витамина D. При естественном вскармливании важность обеспечения витамином D исходит от женщины, которая должна соблюдать сбалансированную диету и достаточное ежедневное солнечное облучение. При искусственном вскармливании для обеспечения достаточного уровня витамином D используются признанные во всем мире продукты детского питания и различные детские смеси, которые уже обогащены витамином D. При отсутствии использования данных адаптированных смесей у ребенка может развиться гиповитаминоз D [190]. Вышеизложенное было учтено, при изучении анализа вида вскармливания обследуемых детей. Также было принято во внимание разделение детей на возрастные группы в связи с особенностями возможного поступления витамина D из внешних источников. Таким образом, потребление витамина D детьми 1-й группы зависело от аналогичных материнских показателей. Во второй группе концентрация витамина D в сыворотке крови находилась вне экзогенного пути поступления витамина D. Дети этой категории находились на естественном вскармливании и не получали дополнительного прикорма. У третьей группы детей, старше 6 месяцев, предполагалось дополнительное потребление витамина D, что было связано с использованием различных прикормов.

Анализ результатов нашего исследования показал высокий уровень

распространенности дефицита / недостаточности витамина D. Из 250 детей уровень витамина D находился в пределах нормы только в 22% (n=55). Основная же масса обследуемых детей 78% (n=195) имела показатели уровней витамина D ниже референсных значений.

Сведения о распространенности гиповитаминоза витамина D в литературе сильно разнятся. Так, по данным C. Паласиос и Л..Гонсалес (2014) гиповитаминоз витамина D различной степени тяжести отмечен от 5% (в Китае) до 99% (в Индии) у детей в возрасте до 2 лет [191]. По данным Gnoli M, Brizola E etc. (2023) дефицит витамина D считается распространенным состоянием во всем мире: его распространенность составляет 40% среди европейцев, 24% в США и 37% в Канаде [192]. Различные эпидемиологические исследования выявили, что нехватка витамина D наблюдается во многих уголках мира, хотя степень распространенности варьируется между странами и регионами [117,р. 3-26].

Анализ содержания обеспеченности витамина D в различных возрастных группах продемонстрировал самый низкий уровень у детей 1-й группы — 93,6% (n=58), затем у детей 2-й группы — 75,3% (n=67), и наконец, у детей 3-й группы — 70,7% (n=70). Проведенное обследование показало, что система измерения уровня витамина D на этапе лабораторной диагностики должна быть внедрена в практику здравоохранения. Это особенно важно, поскольку, согласно результатам данного исследования, дефицит витамина D был выявлен у большинства наблюдаемых детей (78%), что, несомненно, является показателем негативного влияния на самочувствие и здоровье детей. Важным представляется также разработка практических рекомендаций по профилактике гиповитаминоза D.

Диагностика и мониторинг дефектов костного метаболизма могут быть серьезной проблемой, поскольку такие нарушения в основном протекают бессимптомно, а рентгенографические методы измерения костной массы медленно реагируют на изменения в кости [193]. В настоящее время существует ряд биохимических маркеров, таких как кальций, фосфор, остеокальцин, дезоксипиридинолин, паратиреоидный гормон и др., которые высокочувствительны к изменениям костного метаболизма, хотя концентрации этих биомаркеров сильно различаются у разных людей и представляют глобальную анаболическую или катаболическую активность всего скелета, что не позволяет проводить целенаправленные и локализованные исследования процессов костеобразования и резорбции [194–196].

Анализ результатов проведенного обследования выявил достоверные статистические различия показателей общего кальция (в 1 и 2, а также 2 и 3) в разных возрастных группах. При статистическом сравнении групп детей по возрастам было выявлено, что у новорожденных (1 группа) показатель фосфора также был выше, чем в группе от 6 до 12 месяцев (p<0,001).

Имеются статистические различия и в показателях регуляции костного метаболизма, которые в нашем исследовании были представлены

кальцитонином и ПТГ. По результатам исследования выявлены статистические различия показателей кальцитонина между 2 и 3 группами (p<0,001). При изучении маркеров костного метаболизма, представленные в нашем исследовании остеокальцином и дезоксипиридинолином, выявлено достоверное снижение остеокальцина у детей 1 группы (р<0,001), по сравнению с 2 и 3.

Учитывая различную степень обеспеченности витамином D по возрастным группам, прослеживается взаимосвязь между дефицитом витамина D и изменениями показателей минерального обмена.

Витамин D играет важную роль в поддержании оптимального хода метаболических процессов в организме. Поэтому значительный дефицит этого витамина влияет на костный метаболизм и микроокружение костей. Одним из последствий серьезного недостатка витамина D у взрослых является остеомаляция, характеризующаяся уменьшенной минерализацией костной ткани. Аналогично, у детей выраженный дефицит витамина D может привести к рахиту, снижению минерализации костей и ростовых пластинок. Результаты многих исследований показывают, что хронический дефицит витамина D вызывает вторичный гиперпаратиреоз. Суммарное влияние вышеперечисленных факторов приводит к прогрессирующей потере костной массы и необратимому снижению минеральной плотности костей, предрасположенных к заболеваниям опорно-двигательного аппарата [197].

Учитывая вышеизложенное, были изучены показатели минерального обмена и его регуляции в зависимости от уровня витамина D в сыворотке крови у детей до года казахской популяции. Анализ полученных результатов установил, что маркеры минерального обмена, а именно кальций, фосфор, а также ПТГ, кальцитонин распределились в референсных значениях, независимо от уровня снижения витамина D. Следовательно, изолированные показатели минерального обмена и его регуляции у детей до года при отсутствии клинических проявлений не могут быть интерпретированы в качестве достоверных диагностических маркеров нарушений костного метаболизма.

Поэтому поиск маркеров нарушений костного метаболизма на доклиническом уровне был продолжен. Было решено выяснить, существует ли связь между уровнем витамина D и метаболизмом костной ткани. Проведенный анализ показал статистически значимые различия по остеокальцину (p≤0,01) и фосфору (p≤0,01) у детей с нормальным уровнем витамина D и у тех, у кого была его недостаточность. Подобные результаты были обнаружены для остеокальцина (p≤0,01), фосфора (p≤0,01), кальция (p≤0,01) и ПТГ (p≤0,01) при сравнении групп с нормальным и уже дефицитным уровнем витамина D.

Настоящее исследование подтверждает, что витамин D оказывает влияние на метаболизм костной ткани. Такие показатели, как общий кальций, фосфор, ПТГ и остеокальцин, зависят от уровня витамина D.

Это совпадает с данными литературы, которые указывают на связь между дефицитом витамина D и сниженными показателями минеральной плотности

костной ткани, увеличенной активностью костной резорбции и более высокой частотой переломов [198].

Michael P Horan, Kevin Williams и др. показали, что костный метаболизм может серьезно пострадать от изменения уровня витамина D, кальция и фосфатов [199]. Абрамс С.А. (2020) пришел к аналогичному выводу, что витамин D является важным компонентом костного метаболизма и необходим для активного усвоения кальция. Дефицит витамина D у детей повышает риск плохой минерализации костей, что приводит к рахиту и патологическим переломам [200].

Анализ результатов нашего исследования показал, что среди биохимических маркеров наиболее чувствительным к изменению уровня витамина D оказался остеокальцин. Данный вывод созвучен с исследованием Guney G и соавторами, которые выявили значительную положительную корреляцию между уровнями витамина D и остеокальцина (r = 0,198; p = 0,008) [201].

В литературе последних лет активно обсуждается роль генетических факторов в модуляции риска развития нарушений костного метаболизма. При рассмотрении вопроса о молекулярно-генетических маркерах костного метаболизма стоит обратить внимание на исследование W. Yu et al (2021) на моделях животных, где указано, что мыши с дефицитом экспрессии RANKL из- за полиморфизма гена характеризовались уменьшением количества остеокластов и ослабленным формированием кости на трабекулярной поверхности в трубчатых костях и позвонках, в то время как их кортикальный слой остается неизменным [202].

В многочисленных исследованиях показано, что пик костной массы и скорость ее потери на 60-80% детерминированы генетически [11,р. 189].

Исследования последних лет указывают на то, что большинство идентифицированных генетических вариантов влияют на костный метаболизм в раннем возрасте, и что их влияние может проявляться на протяжении всей жизни [180,с. 53]. К подобному заключению пришла Мedina-Gomez с соавторами (2018). Исследователи считают, что уровень экспрессии RANKL в костной ткани увеличивается с возрастом от подросткового к зрелому периоду, что обусловлено влиянием внешних факторов и связано с риском развития заболеваний костной ткани в старости [203].

Имеются сведения, что полиморфизм rs2228570 гена VDR влияет на минеральную плотность костной ткани у детей и часто варьирует в зависимости от расы и национальной принадлежности [182,с. 18].

Роль генетических факторов при остеопенических состояниях доказана во многих исследованиях. Однако остается достаточно вопросов о вкладе конкретных генов, контролирующих рост и развитие костей, в зависимости от возраста и этнической принадлежности.

С учетом изложенного выше, нами были изучены распределения частот генотипов и аллелей для молекулярно-генетического анализа по аллельным

полиморфизмам rs2228570, rs1544410 гена VDR и rs9594759, rs9594738 гена RANKL. Основной целью было установление связи между молекулярно- генетическими маркерами и показателями метаболизма костной ткани у детей в казахской национальности в возрастном периоде до года.

В рамках проведенного нами исследования анализ частотного распределения продемонстрировал, что генотип СС rs2228570 полиморфного варианта гена VDR у обследуемых детей выявлен в 46%, GG rs1544410 - в 59%. Наиболее часто у детей до года в казахской популяции регистрировался гомозиготный генотип СС (52%) rs9594738 гена RANKL, соответственно

генотип СС rs9594759 – в 43%.

Витамин D влияет на процессы минерализации костной ткани, соответственно рецепторам VDR принадлежит важная роль в этом процессе. Различные аллельные гены рецептора витамина D в настоящее время признаны наилучшими предикторами минеральной плотности костной ткани. Вклад генотипа в вариации уровня 25(OH)D в сыворотке крови составляет от 23% до 80% [15,с. 18]. R. Chowdhary et al (2022) в ходе обследования 100 девочек, считавших себя здоровыми, обнаружили, что распространенность гомозиготного полиморфного аллеля VDR имеет связь с развитием тяжелого вторичного гиперпаратиреоза и гиповитаминоза D, распространенность которых варьировала от 84,9% до 100% [204]. В качестве основных генов- кандидатов были определены гены, мутации в которых влияют на уровень 25(OH)D. К ним относят: CYP2R1, CYP27B1,GC фВР, CYP24A1, VDR и DHCR7/ NADSYN1 [16,с. 12].

В рамках нашего исследования был проведен анализ распределения генотипов гена VDR rs2228570 и rs1544410, а также аллельного полиморфизма rs9594759 и rs9594738 гена RANKL в зависимости от уровня витамина D в крови.

Сравнение уровней витамина D по генотипам гена VDR rs2228570, гена RANKL rs9594759 и гена RANKL rs9594738 у детей казахской популяции не выявил статистически значимой разницы. Однако было выявлено статистически значимое снижение уровня витамина D у детей, имеющих генотип GG (p<0,05) полиморфизма rs1544410 гена VDR. Генотип GG встречался чаще у детей с недостаточностью и дефицитом витамина D и шансов иметь GG генотип был выше в 1,7 раз, по сравнению с детьми, имеющими нормальное содержание витамина D.

На основе этих данных можно предположить, что полиморфизм rs1544410 гена VDR может быть связан с нарушениями метаболизма витамина D. Подобные выводы сделала также группа исследователей под руководством M. Karpiński et al (2017). Они исследовали риск патологических переломов и роль полиморфизмов гена VDR в метаболизме витамина D. Исследователи пришли к выводу, что дефицит витамина D является независимым фактором риска переломов у детей, но генотип полиморфизма FokI чаще встречался в группе с пониженной костной плотностью. При этом рецессивный генотип "AA"

полиморфизма ApaI и доминантный генотип "TT" полиморфизма TaqI были связаны с более высокими уровнями витамина D и оказывали защитное воздействие на здоровье костей [205]. К аналогичным выводам пришли другие группы исследователей в контексте полиморфизмов FokI [206] и BsmI [207].

Учитывая, что данных по обследованию детей казахской популяции в литературе не имеется закономерно следующим шагом явилось изучение частотного распределения полиморфизмов генов VDR и RANKL у детей до года в казахской популяции в зависимости от показателей минерального обмена и его регуляции.

При изучении частотного распределения генотипов гена VDR rs1544410, rs2228570 и RANKL rs9594759, rs9594738 от уровня общего Са статистически значимых взаимосвязей не обнаружено. Аналогичное сообщение встречается у Большовой с соавторами (2021), которые провели анализ полиморфизма гена bsmi рецептора витамина D у детей с дефицитом гормона роста. По результатам их исследования частота аллеля полиморфизма VDR BsmI составила 62.5% для аллеля G и 37,5% для аллеля A, а носительство аллеля G было связано с повышенным риском развития дефицита гормона роста, в то время как уровни кальция, фосфора и витамина D в исследуемой группе были нормальными [175,р. 498]. В отличие от выше представленного сообщения, при обследовании детей казахской популяции на уровень фосфора в крови у 41(16,4%) ребенка была выявлена гипофосфатемия. При распределении генотипов гена VDR rs1544410 у детей с гипофосфатемией достоверно преобладал генотип GG OR 2,58 (95% CI: 1,18-5,66) по сравнению с группой детей с нормальным уровнем фосфора. Возможно это так же является фактором риска нарушения костного метаболизма у детей в казахской популяции и требует дальнейшего изучения.

Распределение частот генотипов гена RANKL rs9594759 в зависимости от уровня кальцитонина в крови показало статистически значимое повышение уровня кальцитонина у детей с генотипом СТ (p<0,05). Обсуждая полученные результаты, можно обратить внимание на работу J. Arid с соавторами (2019), которые провели исследование среди 56 детей с задержкой прорезывания зубов, у 35% из которых был по крайней мере один постоянный зуб с задержкой прорезывания зубов [208]. В ходе ПЦР было установлено, что аллель T в RANKL rs9594738 увеличивает риск задержки прорезывания зубов и это связано со сниженной экспрессией гена RANKL и соотношением RANKL/OPG у таких детей, что подтверждает в пользу снижения метаболизма костей. Исследователь О.В. Гармаш (2020) также установил генетические закономерности в состоянии зубов: полиморфизмы BsmI (VDR rs1544410) и rs9594738 гена RANKL (C> T) связаны с повышенным риском кариеса средней и высокой интенсивности, и он также рассмотрел полиморфизмы для других генов (для цитохрома Р450, рецептора эстрогена 1, интерлейкина 1, 6, 10) [209]. Автор приходит к выводу, что необходимо внедрять методы профилактики кариеса у генетически скомпрометированных лиц, основанные на прогнозировании наследственной предрасположенности к кариозным

поражениям. Таким образом, эти статьи подтверждают, что полиморфизм гена RANKL имеет четкую связь с ремоделированием кости, а также с рядом заболеваний в детском и взрослом возрасте, что требует подробного наблюдения за детьми с выявленными генетическими мутациями. Это дало основание предполагать, что генетические мутации могут вызывать у детей риск развития заболеваний костной системы и что они нуждаются в динамическом наблюдении.

Таким образом, разработанный алгоритм доклинической диагностики нарушений костного метаболизма, включающий молекулярно-генетическое тестирование с определением полиморфизмов генов VDR (rs1544410, rs2228570) и RANKL (rs9594738, rs9594759) дало возможность распределить детей по степени риска развития заболеваний костной системы, с целью своевременной коррекции образа жизни и поддержания костного метаболизма на адекватном уровне.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе исследовались клинико-генетические особенности нарушений костного метаболизма у детей до года в казахской популяции.

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Выявлены достоверные различия в уровнях показателей костного метаболизма, таких как общий кальций (р<0,001), фосфор (p<0,01), кальцитонин (p<0,001), остеокальцин (р<0,01) и витамин D (р<0,001) в различных возрастных группах.
2. Установлено, что частота генотипа GG rs1544410 полиморфного варианта гена VDR у детей до года в казахской популяции составляет 59%. В то время как, частота генотипа СС rs9594759 полиморфизма гена RANKL варьирует в пределах 43%. Возможным маркером повышенного риска развития нарушения костного метаболизма у детей до года в казахской популяции является наличие генотипа GG (p<0,05) rs1544410 полиморфизма гена VDR.
3. Выявлена достоверная средняя связь носительства генотипа GG (p<0,05) rs1544410 полиморфного варианта гена VDR со сниженным уровнем витамина D и фосфора у детей до года в казахской популяции. Обнаружена статистически значимая средняя корреляция между наличием генотипа CT rs9594759 полиморфизма гена RANKL и концентрацией кальцитонина у детей этой же группы.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать количественное определение сывороточного витамина D и остеокальцина в качестве маркеров доклинической диагностики нарушений костного метаболизма у детей первого года жизни в казахской популяции.
2. Генотипирование полиморфизмов генов рекомендуется к применению в практической медицине для прогнозирования риска нарушения костного метаболизма
3. Предложен к применению алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей до года в казахской популяции. Результаты проведенного обследования, внедрены в практическое здравоохранение. Имеются акты внедрения «Алгоритм донозологической диагностики ннарушений костного метаболизма у детей до года»:

- №7 от 10.10.2023г в ГКП «Городская поликлиника №2» на ПХВ ГУ УЗ Актюбинской области

- №8 от 10.10.2023г в ТОО ТТиК

Возможные области применения: педиатрия, генетика, неонатология.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Делягин В.М. Снижение костной плотности в разные возрастные периоды: многогранность проблемы. - 2012. - №2 [https://cyberleninka.ru/article/n/snizhenie-kostnoy-plotnosti-v-raznye-vozrastnye-](https://cyberleninka.ru/article/n/snizhenie-kostnoy-plotnosti-v-raznye-vozrastnye-periody-mnogogrannost-problemy) [periody-mnogogrannost-problemy](https://cyberleninka.ru/article/n/snizhenie-kostnoy-plotnosti-v-raznye-vozrastnye-periody-mnogogrannost-problemy) 11.08.2023.
2. Kanis J.A., Cooper C., Rizzoli R., Reginster J.Y. Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women // Osteoporos Int. – 2019. – Vol. 30, №1. – Р. 3-44.
3. Rizzoli R. Dairy products and bone health // Aging Clin. Exp. Res. – 2022. - Vol. 34, №1. – Р. 9–24.
4. Ciancia S. et al. Osteoporosis in children and adolescents: when to suspect and how to diagnose it // Eur. J. Pediatr. – 2022. - Vol. 181, №7. – Р. 2549–2561.
5. Chadha Manoj, Chaddha Ram, Divakar Hema, Kalyan Hemant, Shobhit Seth, Poonam Shah. Osteoporosis: Epidemiology, Pathogenesis, Evaluation and Treatment // Open Journal of Orthopedics. - 2022. - Vol. 12. – Р. 153-182.
6. Maltsev S.V., Mansurova G.Sh. Reduced Bone Mineral Density in Children and Adolescents: Causes, Incidence and Treatment // Curr. Pediatr. – 2015. - Vol. 14,

№5. – Р. 573.

1. Аманжолкызы А., Нургалиева Р.Е., Досимов Ж.Б., Калдыбаева А.Т., Балмаганбетова Ф.К., Досимов А.Ж., Кульжанова Д.С. Correlation between vitamin d degree and bone mineral density in adolescents // West Kazakhstan Medical Journal. - 2016. - Vol. 3, №51. – Р. 18-33.
2. Аманжолқызы А., Нургалиева Р.Е., Досимов Ж.Б., Балмаганбетова Ф.К., Альмаханова М.Ж. Osteodensitometry parameters adolescents aged 12-18 years in Aktobe // Наука и здравоохранение. - 2017. - №2 [https://cyberleninka.ru/article/n/osteodensitometry-parameters-adolescents-aged-12-](https://cyberleninka.ru/article/n/osteodensitometry-parameters-adolescents-aged-12-18-years-in-aktobe) [18-years-in-aktobe](https://cyberleninka.ru/article/n/osteodensitometry-parameters-adolescents-aged-12-18-years-in-aktobe) 18.07.2023.
3. Graf G.H.J., Biroli P., Belsky D.W. Critical Periods in Child Development and the Transition to Adulthood // JAMA Netw. – 2021. - Vol. 4, №1. – Р. 2033359.
4. Ryabykh S.O., Popkov D.A., Shchurova E.N., Ochirova P.V., Ryabykh T.V. Osteogenesis imperfecta: current issues of etiology, pathogenesis, classification (systematic review) // Genij Ortopedii. – 2021. - Vol. 27, №4. – Р. 453-460.
5. Bonjour J.P. et al. Peak Bone Mass and Its Regulation // Pediatric Bone. Elsevier. – 2012. - №1. – Р. 189–221.
6. Duda K. et al. Human Body Composition and Muscle Mass. Muscle and Exercise Physiology // Elsevier. – 2019. - №1. – Р. 3–26.
7. Yalaev B.I., Khusainova R.I. Epigenetic regulation of bone remodeling and its role in the pathogenesis of primary osteoporosis. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii=Vavilov // Journal of Genetics and Breeding. – 2023. - Vol. 27, №4. – Р.

401-410.

1. Ciancia S., Högler W., Sakkers R.J.B. et al. Osteoporosis in children and adolescents: how to treat and monitor? // Eur J Pediatr. - 2023. - Vol. 182. – Р. 501– 511.
2. Майлян Э.А. Влияние генетических полиморфизмов генов системы витамина d на сывороточный уровень 25(он)d: обзор // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. - 2017. - №1. – С. 18-34.
3. Полуэктова А.Ю., Мартынова Е.Ю., Фатхутдинов И.Р., Демидова Т.Ю., Потешкин Ю.Е. Генетические особенности чувствительности к витамину d и распространенность дефицита витамина d среди пациентов поликлиники // РМЖ. Мать и дитя. - 2018. - №1. – С. 12-24.
4. Karalazou P. et al. OPG/RANK/RANKL signaling axis in patients with type I diabetes: Associations with parathormone and vitamin D. Ital // J. Pediatr. – 2019. - Vol. 45, №1. – Р. 161.
5. Rychter A.M. et al. Associations of Lifestyle Factors with Osteopenia and Osteoporosis in Polish Patients with Inflammatory Bowel Disease // Nutrients. – 2021. - Vol. 13, №6. – Р. 1863.
6. Ward L.M. et al. A Contemporary View of the Definition and Diagnosis of Osteoporosis in Children and Adolescents // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2020. - Vol. 105, №5. – Р. 2088–2097.
7. Mazess R.B., Cameron J.R., Miller H. Direct readout of bone mineral content using radionuclide absorptiometry // Int. J. Appl. Radiat. Isot. – 1972. - Vol. 23, №10. – Р. 471–474.
8. Smirnov A.V., Rumyantsev A.S. Bone tissue function and structure under normal and pathological conditions. Message I // Nephrology. - Saint-Petersburg, 2014. - Vol. 18, №6. – Р. 9-25.
9. Zhou R., Guo Q., Xiao Y. et al. Endocrine role of bone in the regulation of energy metabolism // Bone Res. - 2021. - Vol. 9, №25. – Р. 12-18.
10. Lerner U.H. Osteoclasts in Health and Disease // Pediatr Endocrinol Rev. – 2019. - Vol. 17, №2. – Р. 84-99.
11. Moorer Megan C., Riddle Ryan C. Bone in the regulation of energy metabolism // Endocrinology and Metabolism. – 2018. - Vol. 33, №3. – Р. 318-330.
12. Caetano-Lopes J., Canhão H., Fonseca J.E. Osteoblasts and bone formation. Acta Reumatol // Port. – 2007. - Vol. 32, №2. – Р. 103–110.
13. Millar S.A., Anderson S.I. O’Sullivan SE. Osteokines and the vasculature: a review of the in vitro effects of osteocalcin, fibroblast growth factor-23 and lipocalin- 2 // Peer J. – 2019. - Vol. 7. – Р. 7139.
14. Ye X., Liu X. Wnt16 signaling in bone homeostasis and osteoarthristis. Front Endocrinol // Lausanne. – 2022. - Vol. 13. – Р. 1095711.
15. Marini F., Giusti F., Palmini G. et al. Role of Wnt signaling and sclerostin in bone and as therapeutic targets in skeletal disorders // Osteoporos Int. - 2023. - Vol. 34. – Р. 213–238.
16. Lopes D. et al. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative

therapies // Biomaterials. – 2018. - Vol. 85. – Р. 240–275.

1. Morgan E.F., Unnikrisnan G.U., Hussein A.I. Bone Mechanical Properties in Healthy and Diseased States // Annu. Rev. Biomed. Eng. – 2018. - Vol. 20, №1. – Р. 119–143.
2. Volodin N. et al. Strategy of medical, psychological and social rehabilitation for children with haematological and oncological diseases // Oncohematology. – 2015. - Vol. 10, №1. – Р. 7.
3. Zhou R., Guo Q., Xiao Y. et al. Endocrine role of bone in the regulation of energy metabolism // Bone Res. - 2021. - Vol. 9, №25. – Р. 22-33.
4. Park-Min KH. Metabolic reprogramming in osteoclasts // Semin. Immunopathol. – 2019. - Vol. 41, №5. – Р. 565–572.
5. Vahidi G. et al. Lacunar-canalicular bone remodeling: Impacts on bone quality and tools for assessment // Bone. – 2021. - Vol. 143. – Р. 115663.
6. Yang G., Wang H., Wu Z. et al. Prediction of osteoporosis and osteopenia by routine computed tomography of the lumbar spine in different regions of interest

// J Orthop Surg Res. – 2022. - №17. – Р. 454.

1. Nurullina G.M., Akhmadullina G.I. Bone remodeling in norm and in primary osteoporosis: the significance of bone remodeling markers // Russ. Arch. Intern. Med. – 2018. - Vol. 8, №2. – Р. 100–110.
2. Ахполова В.О., Брин В.Б. Обмен кальция и его гормональная Регуляция // Журнал фундаментальной медицины и биологии. - 2017. - №2. – С. 14-26.
3. Murshed M. Mechanism of Bone Mineralization // Cold Spring Harb. Perspect. Med. – 2018. - Vol. 8, №12. – Р. 31229.
4. Ключников С.О., Кравчук Д.А., Оганнисян М.Г. Остеопороз у детей и его актуальность для детской спортивной медицины // Рос вестн перинатол и педиатр. – 2017. – Т. 62, №3. – С. 112–120.
5. Тихонова О.А., Крутикова Н.Ю., Карелин А.Ф., Жуковская Е.В., Румянцев А.Г. Влияние злокачественных новообразований на cостояние костно-мышечной системы у детей: обзор литературы // ОГ. - 2018. - №4. – С. 23-29.
6. Hart N.H. et al. Mechanical basis of bone strength: influence of bone material, bone structure and muscle action // J. Musculoskelet. Neuronal Interact. – 2017. - Vol. 17, №3. – Р. 114–139.
7. Конь И.Я., Сафронова А.И., Щеплягина Л.А., Коростелева М.М., Тоболева М.А., Алешина И.В., Куркова В.И., Ларионова З.Г. Костная прочность у московских детей школьного возраста: возможное влияние алиментарных факторов // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. - 2015. -

№4. – С. 52-68.

1. Крутикова Н.Ю. Особенности определения костной прочности у детей по данным количественной ультрасонометрии // Смоленский медицинский альманах. - 2016. - №3. – С. 33-40.
2. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Снижение минеральной плотности

кости у детей и подростков: причины, частота развития, лечение // ВСП. - 2015.

* №5 https://cyberleninka.ru/article/n/snizhenie-mineralnoy-plotnosti-kosti-u-detey-i- podrostkov-prichiny-chastota-razvitiya-lechenie 09.08.2022.

1. Shevroja E. et al. DXA parameters, Trabecular Bone Score (TBS) and Bone Mineral Density (BMD), in fracture risk prediction in endocrine-mediated secondary osteoporosis // Endocrine. – 2021. - Vol. 74, №1. – Р. 20–28.
2. Marra M. et al. Assessment of Body Composition in Health and Disease Using Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) and Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA): A Critical Overview // Contrast Media Mol. Imaging. – 2019. - Vol. 35, №48. – Р. 284.
3. Van Wassenaer E.A. et al. Non-radiologist-performed abdominal point-of- care ultrasonography in paediatrics - a scoping review // Pediatr. Radiol. – 2021. - Vol. 51, №8. – Р. 1386–1399.
4. Pezzuti I.L. et al. Imaging methods for bone mass evaluation during childhood and adolescence: an update // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM. – 2017.

- Vol. 30, №5. – Р. 485–497.

1. Rosendahl K. et al. Normative ultrasound references for the paediatric wrist; dorsal soft tissues // RMD Open. – 2018. - Vol. 4, №1. – Р. 642.
2. Torres, H.M., Arnold K.M., Oviedo M. et al. Inflammatory Processes Affecting Bone Health and Repair // Curr Osteoporos Rep. – 2023. - Vol. 21. – Р. 842–853.
3. Ларина В.Н., Михайлусова М.П., Распопова Т.Н. Применение биохимических маркеров костного обмена в повседневной деятельности врача

// Лечебное дело. - 2015. - №2. – С. 22-41.

1. Wu D. et al. T-Cell Mediated Inflammation in Postmenopausal Osteoporosis

// Front. Immunol. – 2021. - №12. – Р. 687551.

1. Таранушенко Т.Е., Киселева Н.Г. Остеопороз в детском возрасте: особенности минерализации скелета у детей, профилактика и лечение // Медицинский совет. – 2020. - Vol. 10. – С. 164–171.
2. Komori T. Functions of Osteocalcin in Bone, Pancreas, Testis, and Muscle // Int. J. Mol. Sci. – 2020. - Vol. 21, №20. – Р. 7513.
3. Kiseleva N.G., Taranushenko T.E., Golubenko N.K. Diagnosis of osteoporosis at an early age // Meditsinskiy sovet = Medical Council. – 2020. - №1. – Р. 186-193.
4. Alonso N., Meinitzer A., Fritz-Petrin E. et al. Role of Vitamin K in Bone and Muscle Metabolism // Calcif Tissue Int. – 2023. - №112. – Р. 178–196.
5. Wang J.S., Mazur C.M., Wein M.N. Sclerostin and Osteocalcin: Candidate Bone-Produced Hormones // Front. Endocrinol. – 2021. - Vol. 12. – Р. 584147.
6. Wang S. et al. The Associations of Serum Osteocalcin and Cortisol Levels With the Psychological Performance in Primary Hyperparathyroidism Patients // Front. Endocrinol. – 2021. - Vol. 12. – Р. 692722.
7. Vaitkeviciute D. et al. Longitudinal associations between bone and adipose tissue biochemical markers with bone mineralization in boys during puberty // BMC

Pediatr. – 2016. - Vol. 16. – Р. 102.

1. Domazetovic V. et al. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants. Clin. Cases Miner. Bone Metab. Off // J. Ital. Soc. Osteoporos. Miner. Metab. Skelet. Dis. – 2017. - Vol. 14, №2. – Р. 209–216.
2. Крукович Е.В., Плехова Н.Г., Каблуков Д.А., Корнеева Е.А., Матиенко Л.М. Особенности структурно-функционального состояния опорно- двигательного аппарата и кальцийрегулирующих гормонов у здоровых подростков // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – №3. – С. 15-26.
3. Ciancia S., Högler W., Sakkers R.J.B., Appelman-Dijkstra N.M., Boot A.M., Sas T.C.J., Renes J.S. Osteoporosis in children and adolescents: how to treat and monitor? // Eur J Pediatr. – 2023. - Vol. 182, №2. – Р. 501-511.
4. Watt J. et al. Reduced Serum Osteocalcin in High-Risk Alcohol Using People Living With HIV Does Not Correlate With Systemic Oxidative Stress or Inflammation: Data From the New Orleans Alcohol Use in HIV Study // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2019. - Vol. 43, №11. – Р. 2374–2383.
5. Rossi M. et al. The Endocrine Function of Osteocalcin Regulated by Bone Resorption: A Lesson from Reduced and Increased Bone Mass Diseases // Int. J. Mol. Sci. – 2019. - Vol. 20, №18. – Р. 4502.
6. Cavallo F., Mohn A., Chiarelli F., Giannini C. Evaluation of Bone Age in Children: A Mini-Review // Front Pediatr. – 2021. - Vol. 9. – Р. 580314.
7. Williams C., Sapra A. Osteoporosis Markers. StatPearls. - Treasure Island: StatPearls Publishing, 2022. – 122 р.
8. Demir M. et al. Evaluation of oxidative stress parameters and urinary deoxypyridinoline levels in geriatric patients with osteoporosis // J. Phys. Ther. Sci. – 2014. - Vol. 26, №9. – Р. 1405–1409.
9. Захарова И.Н., Творогова Т.М., Воробьева А.С., Кузнецова О.А. Микроэлементоз как фактор формирования остеопении у подростков // Педиатрия // Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2012. - №1. – С. 50-77.
10. Grob G.N. From aging to pathology: the case of osteoporosis // J. Hist. Med. Allied Sci. – 2011. - Vol. 66, №1. – Р. 1–39.
11. Holt Elizabeth H., Beatrice Lupsa, Lee Grace S., Bassyouni Hanan, Peery Harry E. Hormonal regulation of calcium balance.Goodman's Basic Medical Endocrinology (Fifth Edition) // Elsevier. – 2022. - №1. – Р. 303-333.
12. Klatka M. et al. Vitamin D, calcium and phosphorus status in children with short stature - effect of growth hormone therapy // Ann. Agric. Environ. Med. AAEM. – 2021. - Vol. 28, №4. – Р. 686–691.
13. Bacchetta J. et al. Vitamin D and calcium intakes in general pediatric populations: A French expert consensus paper // Arch. Pediatr. Organe Off. Soc. Francaise Pediatr. – 2022. - Vol. 29, №4. – Р. 312–325.
14. Nepal N. et al. Molecular Mechanism of Stimulation of Na-K-ATPase by Leukotriene D4 in Intestinal Epithelial Cells // Int. J. Mol. Sci. – 2021. - Vol. 22,

№14. – Р. 7569.

1. Громова О.А., Торшин И.Ю. Витамин D - смена парадигмы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. - 733 с.
2. Громова О.А., Торшин И.Ю., Томилова И.К., Гилельс А.В. Метаболиты витамина d: роль в диагностике и терапии витамин D-зависимой патологии // ПМ. - 2017. - №5(106). – С. 10-25.
3. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Метаболизм витамина d и пути реализации его основных функций // ПМ. - 2014. - №9(85). – С. 17-22.
4. Tietz clinical guide to laboratory tests. 4th ed / ed. Wu A.H.B. St. - Louis: Saunders; Elsevier, 2016. – Р. 1798.
5. European Food Safety Authority. Draft scientific opinion. Scientific opinion on dietary reference values for vitamin D. – EFSA, 2016. – 104 р.
6. Dominguez L.J. et al. Vitamin D Sources, Metabolism, and Deficiency: Available Compounds and Guidelines for Its Treatment // Metabolites. – 2021. - Vol. 11, №4. – Р. 255.
7. Куликова К.С., Тюльпаков А.Н. Гипофосфатемический рахит: патогенез, диагностика и лечение // Ожирение и метаболизм. - 2018. - №2. – С. 36-49.
8. Abbas M.A. Physiological functions of Vitamin D in adipose tissue // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2017. - Vol. 165. – Р. 369–381.
9. Amer M., Qayyum R. Relation between serum 25-hydroxyvitamin D and C- reactive protein in asymptomatic adults (from the continuous National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2006) // Am. J. Cardiol. – 2012. - Vol. 109,

№2. – Р. 226–230.

1. Тотров И.Н., Хестанова М.С., Антониади И.В., Джикаева З.С., Медоева А.А. Костное ремоделирование у больных с хронической сердечной недостаточностью // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. - 2014. - Vol. 3, №1. – Р. 36-66.
2. Майлян Э.А., Резниченко Н.А., Майлян Д.Э. Экстраскелетные эффекты витамина d: роль в патогенезе аллергических заболеваний // Актуальные проблемы медицины. - 2017. - №5 (254). – С. 40-45.
3. Eggemoen A.R. et al. Vitamin D status in recently arrived immigrants from Africa and Asia: a cross-sectional study from Norway of children, adolescents and adults // BMJ Open. – 2013. - Vol. 3, №10. – Р. 3293.
4. Holick M.F., Grant W.B. Vitamin D status and ill health // Lancet Diabetes Endocrinol. – 2014. - Vol. 2, №4. – Р. 1273–274.
5. Рывкин А.И. Диагностическая значимость изменений показателей минерального гомеостаза при рахите у детей первого года жизни // Медицинский альманах. - 2015. - №2 (37). – С. 5-17.
6. Захарова И.Н., Коровина Н.А., Дмитриева Ю.А. Роль метаболитов витамина d при рахите у детей // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. - 2010. - №3. – С. 12-39.
7. Latic N., Erben R.G. Vitamin D and Cardiovascular Disease, with Emphasis on Hypertension, Atherosclerosis, and Heart Failure // Int. J. Mol. Sci. – 2020. - Vol.

21, №18. – Р. 6483.

1. Национальная программа «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции»; Союз педиатров России. – М.: ПедиатрЪ, 2018. – 96 с.
2. Захарова И.Н., Громова О.А., Майкова И.Д., Боровик Т.Э., Дмитриева Ю.А., Творогова Т.М., Васильева С.В., Лазарева С.И., Евсеева Е.А., Сугян Н.Г., Королева Е.Ю. Что нужно знать педиатру о витамине d: новые данные о диагностике и коррекции его недостаточности в организме // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2015. - №6, ч. 3. – С. 15-28.
3. de la Guía-Galipienso F. et al. Vitamin D and cardiovascular health // Clin. Nutr. Edinb. Scotl. – 2021. - Vol. 40, №5. – Р. 2946–2957.
4. Bergman P. et al. Vitamin D supplementation to patients with frequent respiratory tract infections: a post hoc analysis of a randomized and placebo- controlled trial // BMC Res. Notes. – 2015. - Vol. 8. – Р. 391.
5. Lee T. L. et al. Vitamin D Attenuates Ischemia/Reperfusion-Induced Cardiac Injury by Reducing Mitochondrial Fission and Mitophagy // Front. Pharmacol. – 2020. - Vol. 11. – Р. 604700.
6. Singh Chauhan V. Vitamin D and the Immune System. Vitamin D // IntechOpen. - 2021. - №1. – Р. 17-38.
7. Lai C.C. et al. Vitamin D Attenuates Loss of Endothelial Biomarker Expression in Cardio-Endothelial Cells // Int. J. Mol. Sci. – 2020. - Vol. 21, №6. – Р. 2196.
8. Bowden S.A. et al. Successful Medical Therapy for Hypophosphatemic Rickets due to Mitochondrial Complex I Deficiency Induced de Toni-Debré-Fanconi Syndrome // Case Rep. Pediatr. – 2013. – №35. – Р. 4314.
9. Hossein-nezhad A., Holick M.F. Vitamin D for health: a global perspective

// Mayo Clin. Proc. – 2013. - Vol. 88, №7. – Р. 720–755.

1. Ao T., Kikuta J., Ishii M. The Effects of Vitamin D on Immune System and Inflammatory Diseases // Biomolecules. – 2021. - Vol. 11, №11. – Р. 1624.
2. Shakoor H. et al. Immune-boosting role of vitamins D, C, E, zinc, selenium and omega-3 fatty acids: Could they help against COVID-19? // Maturitas. – 2021. - Vol. 143. – Р. 1–9.
3. Oh S. et al. Vitamin D and Exercise Are Major Determinants of Natural Killer Cell Activity, Which Is Age- and Gender-Specific // Front. Immunol. – 2021. - Vol. 12. – Р. 594356.
4. Абатуров А.Е., Борисова Т.П., Кривуша Е.Л. Лечение и профилактика недостаточности и дефицита витамина d у детей и подростков // ЗР. - 2015. - №3 (63). – С. 100-118.
5. Зорина О.А., Борискина О.А. Взаимосвязь полиморфизма генов некоторых коллагенов с развитием заболеваний пародонта // Здоровье и образование в XXI веке. - 2012. - №2. – С. 33-59.
6. Christakos S. et al. Vitamin D and the intestine: Review and update // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2020. - Vol. 196. – Р. 105501.
7. Каргина И.Г. Роль кальцитонина и остеокальцина в развитии рахита у детей // Актуальные вопросы первичной медико-санитарной помощи детям и подросткам: материалы международной научно-практической конференции. – Чита: РИЦЧГМА, 2018. – С. 57-58.
8. Захарова И.Н., Климов Л.Я., Курьянинова В.А. и др. Обеспеченность витамином d детей грудного возраста // Рос. Вестн. перинатол и педиат. - 2016.

- №6. – С. 12-27.

1. Itoh M. et al. Vitamin D-Deficient Rickets in Japan // Glob. Pediatr. Health.

– 2017. - Vol. 4, №2. – Р. 333-794.

1. Passeron T. et al. Sunscreen photoprotection and vitamin D status // Br. J. Dermatol. – 2019. - Vol. 181, №5. – Р. 916–931.
2. Национальная программа оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации. – М.: Союз педиатров России, 2019. – 111 с.
3. Bikle D.D., Malmstroem S., Schwartz J. Current Controversies: Are Free Vitamin Metabolite Levels a More Accurate Assessment of Vitamin D Status than Total Levels? Endocrinol. Metab // Clin. North Am. – 2017. - Vol. 46, №4. – Р. 901– 918.
4. Jørgensen S.P. et al. Clinical trial: vitamin D3 treatment in Crohn’s disease

* a randomized double-blind placebo-controlled study // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2010. - Vol. 32, №3. – Р. 377–383.

1. Виссарионов С.В., Ларионова В.И., Казарян И.В. и др. Исследование полиморфизмов генов COL1A1 и VDR у детей со сколиозом // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. - 2017. - №1. – С. 16-29.
2. Hu Y. et al. Threshold for Relationship between Vitamin D and Parathyroid Hormone in Chinese Women of Childbearing Age // Int. J. Environ. Res. Public. Health. – 2021. - Vol. 18, №24. – Р. 13060.
3. Jacquillet G., Unwin R.J. Physiological regulation of phosphate by vitamin D, parathyroid hormone (PTH) and phosphate (Pi) // Pflugers Arch. – 2019. - Vol. 471, №1. – Р. 83–98.
4. Chakhtoura M. et al. Vitamin D Supplementation and Fractures in Adults: A Systematic Umbrella Review of Meta-Analyses of Controlled Trials // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2022. - Vol. 107, №3. – Р. 882–898.
5. Blufstein A. et al. Transcriptional activity of vitamin D receptor in human periodontal ligament cells is diminished under inflammatory conditions // J. Periodontol. – 2021. - Vol. 92, №1. – Р. 137–148.
6. Herrmann M. et al. Assessment of vitamin D status - a changing landscape

// Clin. Chem. Lab. Med. – 2017. - Vol. 55, №1. – Р. 3–26.

1. Kim Y.A. et al. Unveiling Genetic Variants Underlying Vitamin D Deficiency in Multiple Korean Cohorts by a Genome-Wide Association Study

//Endocrinol. Metab. Seoul Korea. – 2021. - Vol. 36, №6. – Р. 1189–1200.

1. Gupta P. et al. Indian Academy of Pediatrics Revised (2021) Guidelines on

Prevention and Treatment of Vitamin D Deficiency and Rickets // Indian Pediatr. – 2022. - Vol. 59, №2. – Р. 142–158.

1. Alawadhi F., Yavuz L. Signs and Symptoms of Vitamin D Deficiency in Children: A Cross-Sectional Study in a Tertiary Pediatric Hospital in the United Arab Emirates // Cureus. – 2021. - Vol. 13, №10. – Р. 18998.
2. Sizar O. et al. Vitamin D Deficiency. StatPearls. - Treasure Island: StatPearls Publishing, 2022. – 140 р.
3. Каргина И.Г., Щербак В.А. Значение генетического полиморфизма коллагена в развитии рахита // Сибирское медицинское обозрение. - 2020. - №1.

– С. 28-80.

1. Зейд С.К., Яковлева Л.В. Оценка статуса витамина d у детей подросткового возраста с первичной артериальной гипертензий // Экология человека. - 2017. - №5. – С. 50-77.
2. Kumar J., Yadav A. Vitamin D deficiency: It is time to act // J. Fam. Med. Prim. Care. – 2019. - Vol. 8, №1. – Р. 321.
3. Spanaus K., Von Eckardstein A. Evaluation of two fully automated immunoassay based tests for the measurement of 1α,25-dihydroxyvitamin D in human serum and comparison with LC-MS/MS // Clin. Chem. Lab. Med. – 2017. - Vol. 55, №9. – Р. 1305–1314.
4. Moradi S. et al. A comparison of the effect of supplementation and sunlight exposure on serum vitamin D and parathyroid hormone: A systematic review and meta-analysis // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2020. - Vol. 60, №11. – Р. 1881–1889.
5. Cao M., He C., Gong M., Wu S., He J. The effects of vitamin D on all- cause mortality in different diseases: an evidence-map and umbrella review of 116 randomized controlled trials // Front Nutr. – 2023. - №1. – Р. 54-59.
6. Bikle D. et al. Vitamin D metabolites in captivity? Should we measure free or total 25(OH)D to assess vitamin D status? // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2017. - Vol. 173. – Р. 105–116.
7. Ross A.C. et al. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. - Washington: National Academies Press, 2011. – 155 р.
8. Sosa Henríquez M., Gómez de Tajada, Romero M.J., Del Pino Montes et al. Position document on the requirements and optimum levels of vitamin D. Rev. Osteoporos // Metab. Miner. – 2011. - Vol. 3, №1. – Р. 53–64.
9. Cashman K.D. et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? // Am. J. Clin. Nutr. – 2016. - Vol. 103, №4. – Р. 1033–1044.
10. Holick M.F. The Death D-fying Vitamin // Mayo Clin. Proc. – 2018. - Vol. 93, №6. – Р. 679–681.
11. Bollerslev J. et al. European Society of Endocrinology Clinical Guideline: Treatment of chronic hypoparathyroidism in adults // Eur. J. Endocrinol. – 2015. - Vol. 173, №2. – Р. 1-20.
12. Каргина И.Г., Щербак В.А. Современные представления о роли витамина D // Российский педиатрический журнал. - 2016. - №2. – С. 120-128.
13. Abouzid M. et al. Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and Vitamin D Status in Population of Patients with Cardiovascular Disease-A Preliminary Study

//Nutrients. – 2021. - Vol. 13, №9. – Р. 3117.

1. Ghodsi M. et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with the occurrence of low bone density, osteopenia, and osteoporosis in patients with type 2 diabetes // J. Diabetes Metab. Disord. – 2021. - Vol. 20, №2. – Р. 1375– 1383.
2. Майлян Э.А., Майлян Д.Э. Основы молекулярной генетики и генетические факторы риска заболеваний женщин // Медицинский вестник Юга России. - 2016. - №1. – С. 15-34.
3. Плехова Н.Г., Крукович Е.В., Воронин С.В., Догадина Н.А., Каблуков Д.А., Мисливец О.В., Елисеева В.С. Частота встречаемости полиморфных вариантов генов, «ответственных» за минерализацию костной ткани у подростков // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – №5.  - С. 33-46.
4. Pierre N. et al. Genetic diversity of local and introduced cassava germplasm in Burundi using DArTseq molecular analyses // PloS One. – 2022. - Vol. 17, №1. – Р. 256002.
5. Капустина Е.В., Большакова Т.Ю., Никулина С.Ю., Чернова А.А., Мордовский В.С., Чупахина В.А. Генетические предикторы переломов проксимального отдела бедра у женщин с остеопорозом г. Красноярска // Остеопороз и остеопатии. - 2016. - №2. – С. 20-24.
6. Li H. et al. The integrative analysis of competitive endogenous RNA regulatory networks in osteoporosis // Sci. Rep. – 2022. - Vol. 12, №1. – Р. 9549.
7. Zhu M. et al. Integrating genome-wide association and transcriptome prediction model identifies novel target genes for osteoporosis. Osteoporos. Int. J. Establ. Result Coop. Eur. Found. Osteoporos // Natl. Osteoporos. Found. USA. – 2021. - Vol. 32, №12. – Р. 2493–2503.
8. Lu W. et al. Identification of Potential Osteoporosis miRNA Biomarkers Using Bioinformatics Approaches. Comput // Math. Methods Med. – 2021. - Vol. 35, №62. – Р. 942.
9. Kim P.G. et al. Dnmt3a-mutated clonal hematopoiesis promotes osteoporosis // J. Exp. Med. – 2021. - Vol. 218, №12. – Р. 20211872.
10. Bogacz A. et al. The importance of the UGT1A1 variants in the development of osteopenia and osteoporosis in postmenopausal women // Sci. Rep. – 2021. - Vol. 11, №1. – Р. 17385.
11. Mäkitie O., Zillikens M.C. Early-Onset Osteoporosis // Calcif. Tissue Int. – 2022. - Vol. 110, №5. – Р. 546–561.
12. Senosi M.R. et al. Bone mineral density, vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms, fracture risk assessment (FRAX), and trabecular bone score (TBS) in rheumatoid arthritis patients: connecting pieces of the puzzle // Clin. Rheumatol. – 2022. - Vol. 41, №5. – Р. 1333–1342.
13. Ekhzaimy A.A. et al. A Novel Mutation in a Gene Causes Sclerosteosis in a

Family of Mediterranean Origin. Med // Kaunas Lith. – 2022. - Vol. 58, №2. – Р. 202.

1. Lin J. et al. LRP5-Mediated Lipid Uptake Modulates Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells // Front. Cell Dev. Biol.

– 2021. - Vol. 9. – Р. 766-815.

1. Heidari A., Homaei A., Saffari F. Novel Homozygous Nonsense Mutation in LRP5 Gene in Two Siblings with Osteoporosis-pseudoglioma Syndrome // J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol. - 2021. - №1. – Р. 63-79.
2. Xie G. et al. Association between polymorphisms of collagen genes and susceptibility to intervertebral disc degeneration: a meta-analysis // J. Orthop. Surg. – 2021. - Vol. 16, №1. – Р. 616.
3. Rodríguez Ruiz A. et al. The role of TNFRSF11B in development of osteoarthritic cartilage. Rheumatol // Oxf. Engl. – 2022. - Vol. 61, №2. – Р. 856–864.
4. Ou L. et al. Investigation of anti-osteoporosis mechanisms of Rehmanniae Radix Preparata based on network pharmacology and experimental verification // J. Orthop. Surg. – 2021. - Vol. 16, №1. – Р. 599.
5. Xian Y. et al. Oroxylin A reduces osteoclast formation and bone resorption via suppressing RANKL-induced ROS and NFATc1 activation // Biochem. Pharmacol. – 2021. - Vol. 193. – Р. 114761.
6. Lang S. et al. Vertebral osteomyelitis is characterised by increased RANK/OPG and RANKL/OPG expression ratios in vertebral bodies and intervertebral discs // Eur. Cell. Mater. – 2021. - Vol. 42. – Р. 438–451.
7. Abdi S. et al. PTHR1 Genetic Polymorphisms Are Associated with Osteoporosis among Postmenopausal Arab Women // BioMed Res. Int. – 2021. - Vol. 2. – Р. 993-1761.
8. Molin A. et al. Overlapping Phenotypes Associated With CYP24A1, SLC34A1, and SLC34A3 Mutations: A Cohort Study of Patients With Hypersensitivity to Vitamin D // Front. Endocrinol. – 2021. - Vol. 12. – Р. 736240.
9. Marcadet L. et al. The Roles of RANK/RANKL/OPG in Cardiac, Skeletal, and Smooth Muscles in Health and Disease // Front. Cell Dev. Biol. – 2022. - Vol. 10. – Р. 903657.
10. Woźniczka M., Błaszczak-Świątkiewicz K. New Generation of Meso and Antiprogestins (SPRMs) into the Osteoporosis Approach // Mol. Basel Switz. – 2021.

- Vol. 26, №21. – Р. 6491.

1. Zhang L., Zeng F., Jiang M., Han M., Huang B. Roles of osteoprotegerin in endocrine and metabolic disorders through receptor activator of nuclear factor kappa- B ligand/receptor activator of nuclear factor kappa-B signaling // Front Cell Dev Biol.

– 2022. - Vol. 10. – Р. 1005681.

1. Savan Ram et al. A novel tumor necrosis factor (TNF) gene present in tandem with theTNF-α gene on the same chromosome in teleosts // Immunogenetics.

– 2005. - Vol. 57. – Р. 140-150.

1. Han S.Y., Kim Y.K. Yukmijihwang-Tang Suppresses Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (RANKL)-Induced Osteoclast Differentiation and

Prevents Ovariectomy (OVX)-Mediated Bone Loss // Mol. Basel Switz. – 2021. - Vol. 26, №24. – Р. 7579.

1. Tamura M. et al. Functional analyses of a novel missense and other mutations of the vitamin D receptor in association with alopecia // Sci. Rep. – 2017. - Vol. 7, №1. – Р. 5102.
2. Ansari M.G.A. et al. Vitamin D Receptor Gene Variants Susceptible to Osteoporosis in Arab Post-Menopausal Women // Curr. Issues Mol. Biol. – 2021. - Vol. 43, №3. – Р. 1325–1334.
3. Wang Y., Zhu J., DeLuca H.F. Where is the vitamin D receptor? // Arch. Biochem. Biophys. – 2012. - Vol. 523, №1. – Р. 123–133.
4. Zenata O., Vrzal R. Fine tuning of vitamin D receptor (VDR) activity by post-transcriptional and post-translational modifications // Oncotarget. – 2017. - Vol. 8, №21. – Р. 35390–35402.
5. Feingold K.R., Bikle D.D. Vitamin D: Production, Metabolism and Mechanisms of Action Endotext. - South Dartmouth: MDText.com, 2000. – 122 р.
6. Zhao X.Q. et al. Vitamin D Receptor Genetic Polymorphisms Associate With a Decreased Susceptibility to Extremity Osteomyelitis Partly by Inhibiting Macrophage Apoptosis Through Inhibition of Excessive ROS Production via VDR- Bmi1 Signaling // Front. Physiol. – 2022. - Vol. 13. – Р. 808272.
7. Malloy P.J., Feldman D. Genetic disorders and defects in vitamin d action

// Endocrinol. Metab. Clin. North Am. – 2010. - Vol. 39, №2. – Р. 333–346.

1. Acar S., Demir K., Shi Y. Genetic Causes of Rickets // J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol. – 2017. - Vol. 9, №2. – Р. 88–105.
2. Al-Daghri N.M. et al. Vitamin D status correction in Saudi Arabia: an experts’ consensus under the auspices of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis, and Musculoskeletal Diseases (ESCEO) // Arch. Osteoporos. – 2017. - Vol. 12, №1. – Р. 1.
3. Жумалина А.К., Тусупкалиев Б.Т., Ким И.С., Жарлыкасинова М.Б. Vitamin D receptor gene polymorphism among children // АМЖ. - 2020. - №4. – С. 33-49.
4. Mukhtar M. et al. Vitamin D Receptor Gene Polymorphism: An Important Predictor of Arthritis Development // BioMed Res. Int. – 2019. - №8. – Р. 326246.
5. Jiang X., Kiel D.P., Kraft P. The genetics of vitamin D // Bone. - 2019. -

№126. – Р. 59–77.

1. Bolshova E.V., Ryznychuk M.A., Kvacheniuk D.A. Analysis of the vitamin D receptor bsmi gene polymorphism in children with growth hormone deficiency // Wiadomosci Lek. Wars. Pol. – 2021. - Vol. 74, №3. – Р. 498–503.
2. Sadeghi M. et al. The Most Common Vitamin D Receptor Polymorphisms (ApaI,FokI, TaqI, BsmI, and BglI) in Children with Dental Caries: A Systematic Review and Meta-Analysis // Child. Basel Switz. – 2021. - Vol. 8, №4. – Р. 302.
3. Чупак Э.Л. Особенности оценки физического развития детей: учебное пособие для студентов лечебного и педиатрического факультетов. - Благовещенск: Амурская ГМА Минздрава России, 2020. - 32 с.
4. Дорофейков В.В., Зазерская И.Е., Кузнецова Л.В. и др. Витамин D и здоровье женщины / под ред. И.Е. Зазерской. – Спб.: Эко-Вектор, 2021. - 311 с.
5. Xia Y. et al. Mechanism of action and exogenous supplementation of vitamin D in Crohn’s disease. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi Chin // J. Contemp. Pediatr. – 2023. - Vol. 25, №8. – Р. 870–876.
6. Чжу С., Чжэн Х. Факторы, влияющие на увеличение максимальной костной массы // Front Med. – 2021. – №15(1). – С. 53-69.
7. Cousminer D.L. et al. Genome-wide association study implicates novel loci and reveals candidate effector genes for longitudinal pediatric bone accrual // Genome Biol. – 2021. - Vol. 22, №1. – Р. 1.
8. Морозик П.М., Моссэ И.Б., Амельянович М.Д., Руденко Э.В., Алекна В., Тамулайтене М. Молекулярно-генетические механизмы предрасположенности к остеопорозу // Молекулярная и прикладная генетика. – 2012. - №1. – С. 18-24.
9. Кит О.И., Шлык О.С., Ващенко Л.Н., Дашкова И.Р., Тимошкина Н. Н., Пушкмн А.А., Заикина Е.В., Черникова Е.Н. Полиморфизмы RS9594738 и RS9594759, ассоциированные с метастазированием рака молочной железы // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2022. - №1. – С. 12-27.
10. Рудык А.В. Клинико-лабораторное обоснование и эффективность применения колекальциферола в комплексной терапии острых кишечных инфекций у детей: автореф. ... канд. мед. наук: 14.01.09. - М.: Центр. науч.- исслед. ин-т эпидемиологии МЗ РФ, 2018. - 23 с.
11. Зюзева Н.А. Комплексная оценка состояния здоровья и обеспеченность витамином D детей раннего возраста: автореф канд. мед. наук: 14.01.08. – Екатеринбург: Ур. гос. мед. акад., 2018. - 27 с.
12. Tan M.L., Abrams S.A., Osborn D.A. Vitamin D supplementation for term breastfed infants to prevent vitamin D deficiency and improve bone health. Cochrane Database Syst. Rev. / ed. Cochrane // Neonatal Group. – 2020. - Vol. 12. – Р. 49-60.
13. Brustad N. et al. Safety of High-Dose Vitamin D Supplementation Among Children Aged 0 to 6 Years: A Systematic Review and Meta-analysis // JAMA Netw. Open. – 2022. - Vol. 5, №4. – Р. 227410.
14. Hurmuzlu Kozler S., Saylı T.R. Factors influencing initiation and discontinuation of vitamin D supplementation among children 1-24-months-old // Curr. Med. Res. Opin. – 2022. - Vol. 38, №3. – Р. 435–441.
15. Uday S. et al. The effect of vitamin D supplementation and nutritional intake on skeletal maturity and bone health in socio-economically deprived children // Eur. J. Nutr. – 2021. - Vol. 60, №6. – Р. 3343–3353.
16. Pludowski P. et al. Vitamin D supplementation guidelines // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2018. - Vol. 175. – Р. 125–135.
17. Palacios C., Gonzalez L. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? J. Steroid Biochem // Mol. Biol. – 2014. - Vol. 144. – Р. 138–145.
18. Gnoli M. et al. Vitamin D and Bone fragility in Individuals with Osteogenesis Imperfecta: A Scoping Review // Int. J. Mol. Sci. – 2023. - Vol. 24,

№11. – Р. 9416.

1. Greenblatt M.B., Tsai J.N., Wein M.N. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease // Clin. Chem. – 2017. - Vol. 63, №2. – Р. 464–474.
2. Hart N.H. et al. Biological basis of bone strength: anatomy, physiology and measurement. Musculoskelet // Neuronal Interact. – 2020. - Vol. 20, №3. – Р. 347– 371.
3. Franceschi R. et al. Bone Geometry, Quality, and Bone Markers in Children with Type 1 Diabetes Mellitus // Calcif. Tissue Int. – 2018. - Vol. 102, №6.

– Р. 657–665.

1. Bonjour J.P. et al. Biochemical markers for assessment of calcium economy and bone metabolism: application in clinical trials from pharmaceutical agents to nutritional products // Nutr. Res. Rev. – 2014. - Vol. 27, №2. – Р. 252–267.
2. Бочкарева А.А., Безгодков Ю.А. Роль витамина D и дефицита витамина D травматологии // Материалы XIV Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» <a href="https://scienceforum.ru/2022/article/2018029012">[https://scienceforum.ru/202](https://scienceforum.ru/2022/article/2018029012) [2/article/2018029012](https://scienceforum.ru/2022/article/2018029012) 17.08.2023.
3. Lips P., Van Schoor N.M. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. – 2011. - Vol. 25, №4. – Р. 585–591.
4. Horan M.P., Williams K., Hughes D. The Role of Vitamin D in Pediatric Orthopedics // Orthop. Clin. North Am. – 2019. - Vol. 50, №2. – Р. 181–191.
5. Abrams S.A. Vitamin D in Preterm and Full-Term Infants // Ann. Nutr. Metab. – 2020. - Vol. 76, №2. – Р. 6–14.
6. Guney G. et al. Assessment of the Relationship between Serum Vitamin D and Osteocalcin Levels with Metabolic Syndrome in Non-Osteoporotic Postmenopausal Women // Geburtshilfe Frauenheilkd. – 2019. - Vol. 79, №3. – Р. 293–299.
7. Yu W. et al. Bone marrow adipogenic lineage precursors promote osteoclastogenesis in bone remodeling and pathologic bone loss // J. Clin. Invest. – 2021. - Vol. 131, №2. – Р. 140-214.
8. Medina-Gomez C. et al. Life-Course Genome-wide Association Study Meta-analysis of Total Body BMD and Assessment of Age-Specific Effects // Am. J. Hum. Genet. – 2018. - Vol. 102, №1. – Р. 88–102.
9. Chowdhary R. et al. An association of VDR gene polymorphism in hypovitaminosis D mediated secondary hyperparathyroidism in adolescent girls; a tertiary hospital study in central India // Steroids. – 2022. - Vol. 185. – Р. 109054.
10. Karpiński M. et al. Association between Vitamin D Receptor Polymorphism and Serum Vitamin D Levels in Children with Low-Energy Fractures

// J. Am. Coll. Nutr. – 2017. - Vol. 36, №1. – Р. 64–71.

1. Hoseinkhani Z., Rastegari-Pouyani M., Tajemiri F., Yari K., Mansouri K. Association of Vitamin D Receptor Polymorphisms

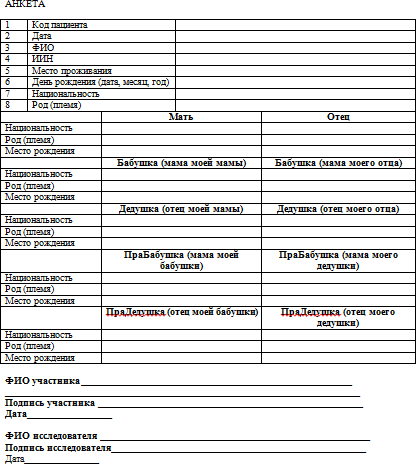
(FokI (Rs2228570), ApaI (Rs7975232), BsmI (Rs1544410), and TaqI (Rs731236))

with Gastric Cancer in a Kurdish Population from West of Iran // Rep Biochem Mol Biol. – 2021. - Vol. 9, №4. – Р. 435-441.

1. Bao L. et al. Association between vitamin D receptor BsmI polymorphism and bone mineral density in pediatric patients: A meta-analysis and systematic review of observational studies // Medicine. – Baltimore, 2017. - Vol. 96, №17. – Р. 6718.
2. Henklein S.D. et al. Prevalence and local causes for retention of primary teeth and the associated delayed permanent tooth eruption // J. Orofac. Orthop. Fortschritte Kieferorthopädie. - 2023. - №1. – Р. 18-29.
3. Garmash O.V. Study of the rankl [rs9594738], VDR [rs1544410], and IL6 [rs1800795] gene polymorphisms as feasible markers of the risk that permanent teeth caries develops in persons born macrosomic // Bull. Probl. Biol. Med. – 2020. - Vol. 1, №1. – Р. 354.

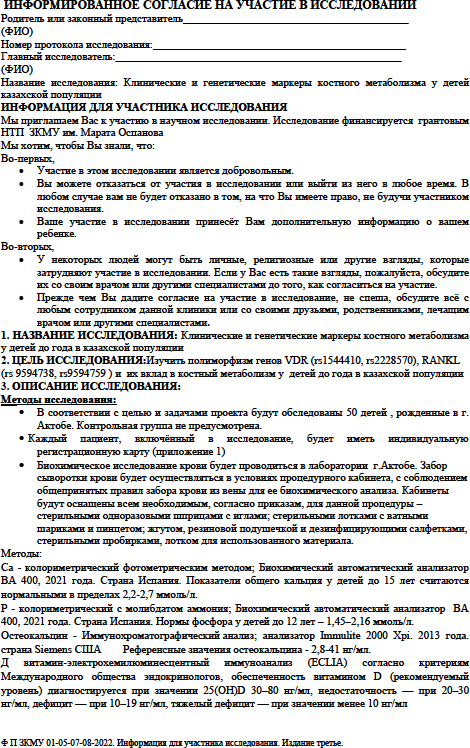
### ПРИЛОЖЕНИЕ А

**Анкета**



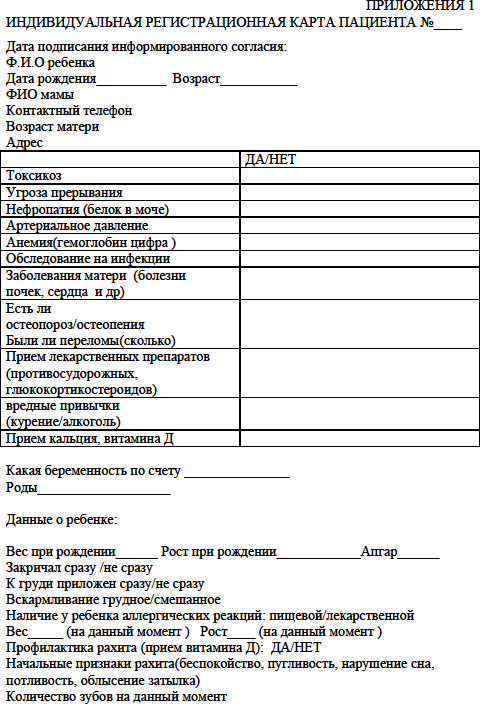
### ПРИЛОЖЕНИЕ Б

**Информированное согласие на участие в исследовании**



### ПРИЛОЖЕНИЕ В

**Индивидуальная регистрационная карта пациента**



### ПРИЛОЖЕНИЕ Г

**Акт внедрения в практическое здравоохранение**



### ПРИЛОЖЕНИЕ Д

**Акт внедрения в практическое здравоохранение**



### ПРИЛОЖЕНИЕ Е

**Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр правна объекты, охраняемые авторским правом**



### ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

**Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр правна объекты, охраняемые авторским правом**



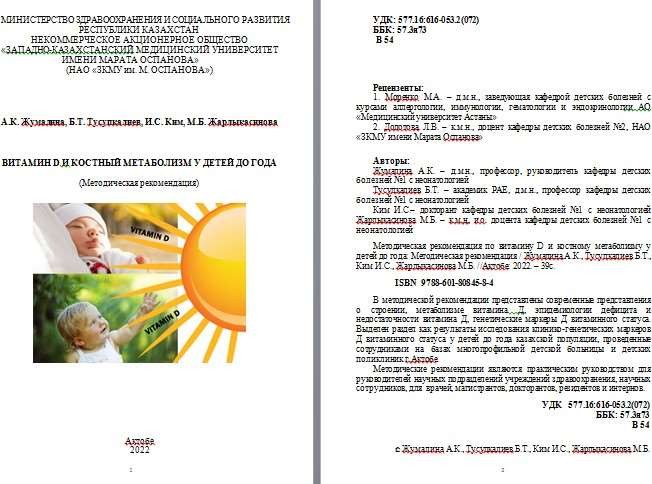
### ПРИЛОЖЕНИЕ И

**Патент**



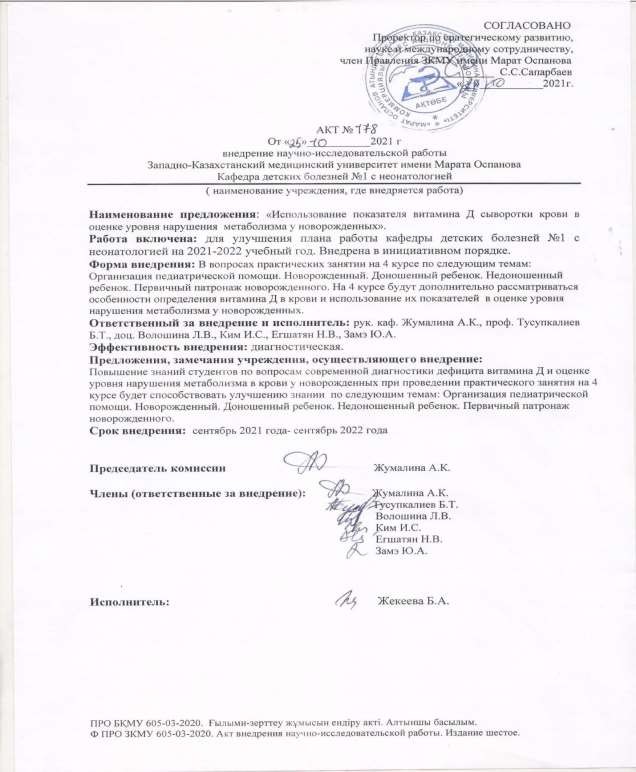
### ПРИЛОЖЕНИЕ К

**Методическая рекомендация**



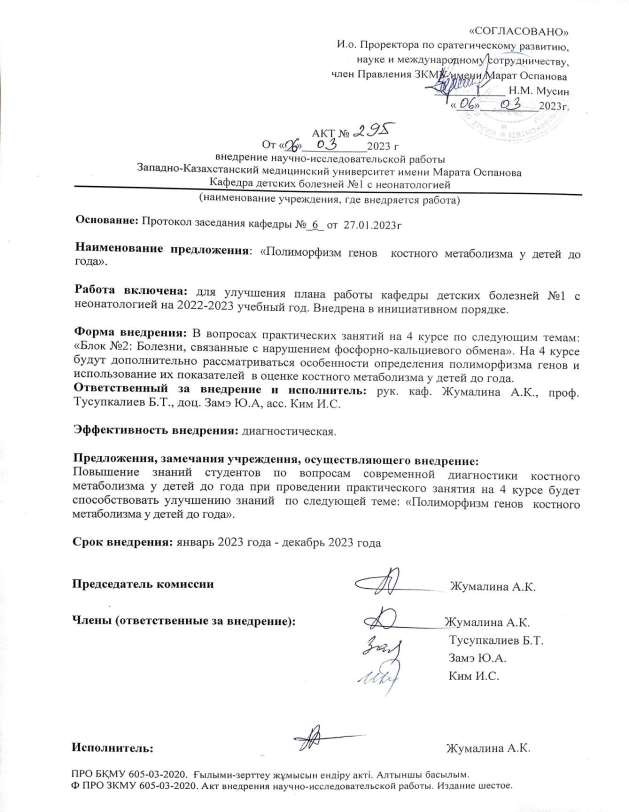
### ПРИЛОЖЕНИЕ Л

**Акт о внедрении №178 научно-исследовательской работы**



### ПРИЛОЖЕНИЕ Н

**Акт о внедрении №295 научно-исследовательской работы**



### ПРИЛОЖЕНИЕ П

