

**НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ МАРАТА ОСПАНОВА»**

**АННОТАЦИЯ
НА ДИССЕРТАЦИОННУЮ РАБОТУ НА СОИСКАНИЕ
СТЕПЕНИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)**

**Связь уровня витамина D с полиморфизмом гена VDR у девочек-
подростков при первичной дисменорее**

Образовательная программа 8D10102–«Медицина»

ДОНАЕВА АЙНУР ЕРГАЛИКЫЗЫ

Научный консультант: PhD,
ассоциированный профессор А. Аманжолкызы

Зарубежные научные консультанты:
Кафедра акушерства и гинекологии медицинского факультета
Университета Айн-Шамс, Египет,
MD, профессор Ibrahim
А. Abdelazim

Литовский университет медицинских наук Литва, Каунас,
MD, PhD, профессор Edgaras Stankevicius

Актобе, 2023г

АННОТАЦИЯ

АННОТАЦИЯ ДОНАЕВОЙ АЙНУР ЕРГАЛИЕВНЫ НА ТЕМУ: «Жасөспірім қыз балалардың біріншілік дисменорея кезіндегі D дәрумені деңгейімен және оның VDR генінің полиморфизмімен байланысы» предоставленной на соискание степени доктора философии (PhD), по научному направлению 8D10102 – «Медицина».

Научный консультант: PhD, ассоциированный профессор Аманжолкызы А. Зарубежные научные консультанты: MD, профессор Ibrahim A. Abdelazim, MD, PhD, профессор Edgaras Stankevicius

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Будущее нации определяется здоровьем подрастающего поколения, в частности их репродуктивной способностью. Состояние репродуктивного здоровья подростков в настоящее время является предметом обсуждения не только среди специалистов, но и в обществе.

Актуальность проблемы в плане репродуктивного здоровья охватывает пубертатный период, который отражает процессы полового созревания организма, что однозначно важно в перспективе для каждой женщины.

Последние литературные научные обзоры за последнее десятилетие показывают, что наряду со многими очевидными неблагоприятными тенденциями в здоровье всего населения особое место занимают выявляемые значительные изменения среди девочек-подростков. По мнению многих ученых, сохраняется устойчивость негативной динамики среди здоровья подростков, чаще связанная с неблагоприятными экологическими условиями, несбалансированными физическими нагрузками, хроническим стрессом, неграмотными подходами к собственному здоровью.

Важным маркером репродуктивной функции девочек-подростков являются характеристики менструального цикла. Это интегральный показатель репродуктивной системы, соматического здоровья, эндокринной системы, механизмов регуляции функции менструального цикла, психического здоровья и социального благополучия [1, 2].

По данным ВОЗ среди девочек в возрасте 10-20 лет страдают менструальными болями до 94%, в 15% случаев это приводит к снижению социальной активности и потере трудоспособности. По данным зарубежных исследований распространение первичной дисменореи среди подростков составляет от 8 до 90%, при этом в странах Европы и США составляет от 65-85%, аналогичные исследования в странах Азии показали высокую частоту этого заболевания - до 90% [3-5].

Широкий диапазон колебаний в различных регионах обусловлен как отсутствием стандартизированных подходов, так и этническими особенностями [6,7].

В Республике Казахстан диагноз первичная дисменорея N94.4 (ПД) у девочек-подростков в период полового созревания определяется как функциональное расстройство после исключения органических изменений,

наблюдение и лечение проводится детскими и подростковыми гинекологами согласно национальному клиническому протоколу диагностики и лечения [8].

По данным отечественных исследователей ПД составила только 12% от всех случаев обращения к детскому гинекологу [9].

Нарушение сократительной активности матки в результате чрезмерного выброса простагландинов является доказанным подтверждением первичной дисменореи [9,10].

Было обнаружено, что существует сильная корреляция между нарушением менструального цикла у девочек и дефицитом витамина D в возрасте полового созревания и различными другими факторами, определяющими широкий спектр клинических проявлений [11,12,13].

Витамин D может снижать выработку прогестагландинов, производного арахидоновой кислоты, во время сокращений матки несколькими способами. Тот факт, что уровень 25(OH)D снижается в лютеиновой фазе, приводит к тому, что эстрадиол расщепляется в печени 1- α -гидроксилазой и 24-гидроксилазой, снижая уровень 25 (OH)D₃. Гормоны яичников достигают пика в лютеиновой фазе и вызывают снижение уровня витамина D. В результате циклическое нарушение метаболизма витамина D гормонами яичников приводит к появлению симптомов первичной дисменореи у девочек [13-16].

В доступной нам литературе обнаружено единичные исследования о генетической детерминированности ПД.

Выявлена связь генов, ответственных за выработку интерлейкинов с ПД [9]. Вызывает интерес сообщение о связи между различными генотипами/частотами аллелей, VDR rs7975232, rs1544410, rs2228570 и rs731236 и гаплотипами с воспалительными заболеваниями [17].

Высокая частота, многофакторный характер, разнообразие механизмов патогенеза и клинические проявления первичной дисменореи у девочек-подростков свидетельствуют об актуальности данной проблемы и необходимости дальнейшего изучения.

Цель исследования:

Оценка взаимосвязи уровня витамина D, гормонов эстрадиола, прогестерона и полиморфизма гена VDR (rs731236) у девочек-подростков с первичной дисменореей.

Задачи исследования:

1. Определить уровень витамина D, эстрадиола и прогестерона у обследуемых девочек-подростков.
2. Провести анализ частоты генотипов гена VDR rs731236 в соответствии с уровнем витамина D у девочек-подростков с первичной дисменореей.
3. Изучить взаимосвязи между уровнями витамина D и полиморфизмом гена VDR у девочек-подростков.

Научная новизна:

- В рамках исследования впервые в Казахстане выявлен уровень витамина D и частота полиморфизма гена VDR среди девочек-подростков с первичной дисменореей;

- Впервые выявлена связь между уровнем витамина D и полиморфизмом гена VDR среди девочек-подростков с первичной дисменореей.

Теоретическая и практическая значимость:

Для прогнозирования первичной дисменореей у девочек-подростков с помощью гена VDR, рецептора витамина D, в результате статистического моделирования была получена модель прогнозирования.

Определение уровня витамина D в качестве дополнительного критерия позволяет рассматривать «диагностику» первичной дисменореей» в соответствии с протоколом № 109 от 30 июля 2020 года, утвержденным Министерством здравоохранения Республики Казахстан, совместной комиссией по качеству здравоохранения.

С помощью практического управления здравоохранения он доказывает свою эффективность в решении многих проблем, связанных с последовательными физиологическими событиями полового созревания при нарушениях менструального цикла.

Для защиты репродуктивного здоровья подростков - ранняя диагностика, позволяет поддерживать нормальный уровень витамина D в половом развитии растущего подросткового организма и контролировать его.

Правила, вынесенные на защиту:

1. Выявление генетических полиморфизмов, влияющих на уровень витамина D, позволяет на ранней стадии диагностировать первичную дисменореей у девочек-подростков, склонных к дефициту витамина D.
2. В развитии первичной дисменореей у девочек-подростков результаты по полиморфизму гена VDR позволяют с высокой вероятностью.
3. Ранняя диагностика течения первичной дисменореей на основе дефицита витамина D позволяет предотвратить развитие вторичной дисменореей (эндометриоза) в последующие жизни подростков.

Апробация работы.

Основные положения диссертационной работы изложены на расширенных заседаниях Ученого совета и научно-проблемной организации Западно-Казахстанского государственного медицинского университета им.Марата Оспанова.

Результаты исследования были доложены на научно-практических конференциях:

- На международной научно-практической конференции «Современная медицина: новый взгляд и актуальные исследования» среди медицинских учебных заведений ближнего и дальнего зарубежья Республики Казахстан,

посвященной Всемирному дню борьбы с остеопорозом «Полиморфизм гена рецептора витамина D VDR и минеральной плотности костной ткани у азиатских девушек-подростков с первой дисменореей» и «Особенности полового развития у девушек подростков с первой дисменореей» Литва, Kaunas Medicine volume 57, Supplement 2, 2021 (20 февраля 2021 года, г. Актобе);

- На VIII международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» в онлайн формате Совет по науке при Фонде Нурсултана Назарбаева АО Южно-Казахстанская медицинская академия «Распространенность гена VDR, COL1A1, CALCR среди девушек подростков с первой дисменореей» (9-10 декабря 2021 года);

- На II Международной конференции «Дефицит витамина D при первичной дисменорее», организованной «Ассоциацией по сексуальному и репродуктивному здоровью Казахстана (КМПА)» (7-8 апреля 2023 года, г. Алматы).

Публикации по теме диссертации.

По теме диссертации опубликовано 11 научных печатных работ.

Из них в международных научно-практических данных – 3 тезис, в Международном журнале, индексируемом в информационной базе Web of Science и Scopus – 3 статьи, в научных изданиях, рекомендованных комитетом по обеспечению качества в области образования и науки Республики Казахстан – 2 статья, внесение сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом – 2. акты на внедрение – 6, патент Республики Казахстан на полезную модель-1.

Личный вклад автора.

Разработка идеи, цели и задач научного исследования, ведение наборов данных и получение согласия на проведение клинических, лабораторных и генетических исследований, статистическая обработка результатов исследования, составление выводов и рекомендаций, написание статей и тезисов.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное научное исследование выполнено в рамках научного проекта МОН РК AP09563004 «Состояние минеральной плотности костной ткани и особенности метаболизма у девочек-подростков с первичной дисменореей» регистрационный номер 0121PK00549, научно-технического проекта Западно-Казахстанского государственного медицинского университета им. Марата Оспанова «Состояние минеральной плотности костной ткани и особенности метаболизма у девочек-подростков с первичной дисменореей в Казахской популяции».

Научно-исследовательская работа одобрена локальным этическим комитетом Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова (протокол № 10 от 04.10.2022).

Клиническая часть данного научного исследования проведена на базе Областного перинатального центра АО «Консультационно-диагностический центр», лабораторная часть выполнена на базе лабораторий «Инвитро», г. Актобе, пр.Абылхаир хана, 89 и 12 микрорайон, 16.

Дизайн исследования: "случай-контроль".

Объект исследования: По схеме случай - контроль исследуемая выборка была разделена на группы сравнения: в группе случаев (n=206) - девочки-подростки с первичной дисменореей, а в контрольной группе (n=204) - девочки без боли во время менструального цикла. Отбор испытуемых проводился методом случайной выборки. Общее количество девочек-подростков составило - 27 972 тыс. Расчет размера выборки для исследования был рассчитан с помощью онлайн-калькулятора в программе "Epi info TM", диапазон выставлен в виде пропорций, а прогнозируемое соотношение возможностей - 1,0; уровень достоверности - 95%. Research Power («мощность»): для биомедицинских исследований этот показатель обычно составляет 80%. Соотношение группы случаев к контрольной группе было равно 1:1. Группа случаев и контрольная группа были сформированы с использованием метода сопряжения (matched case-control study), основанного на следующих сходных факторах: девочки казахской национальности, проживающие в г.Актобе, одного возраста, роста, веса и индекса массы тела.

Критерии включения в исследование:

Критерии включения в группу случаев: девочки-подростки в возрасте от 12 лет до 17 лет 5 месяцев 29 дней, казахская национальность, регулярный менструальный цикл (21-35 дней), установленный менструальный цикл в течение 1 года, впервые выявленная первичная дисменорея, согласно клиническим критериям: отсутствие патологии полости малого таза не выявлена при ультразвуковом (абдоминальном) исследовании, оценка боли по визуально-аналоговой шкале от 5 баллов до 9 баллов.

Критерии исключения группы случаев из исследования: девочки-подростки до 11 лет 5 месяцев 29 дней и старше 17 лет 5 месяцев 29 дней, отсутствие болевого синдрома, оценка 0 по визуально-аналоговой шкале, раннее (до 10 лет) и позднее (после 15 лет) менархе, аномалии развития и заболевания органов малого таза, выявленное при ультразвуковом исследовании, сопутствующие неврологические и психические заболевания, девочки, принимавшие экзогенные гормоны и препараты, влияющие на ЦНС, в течение 1 года.

Критерии включения в исследование для контрольной группы: девочки-подростки в возрасте от 12 лет до 17 лет 5 месяцев 29 дней, казахская национальность, регулярный менструальный цикл (21-35 дней), установленный менструальный цикл в течение 1 года, отсутствие патологии полости малого таза при ультразвуковом (абдоминальном) исследовании, отсутствие болевого синдрома, оценка 0 по визуально-аналоговой шкале.

Критерии исключения в исследования для контрольной группы: девочки-подростки до 11 лет 5 месяцев 29 дней и старше 17 лет 5 месяцев 29 дней,

отсутствие болевого синдрома, раннее (до 10 лет) и позднее (после 15 лет) менархе, аномалии развития и заболевания органов малого таза, выявленное при ультразвуковом исследовании, сопутствующие неврологические и психические заболевания, девочки, принимавшие экзогенные гормоны и препараты, влияющие на ЦНС, в течение 1 года, девочки, указавшие на наличие болевого синдрома выше 1 балла по визуально-аналоговой шкале.

Методы исследования:

I этап исследования (клинический этап). Отбор групп исследования проведено в соответствии с критериями включения и исключения. Родители девочек подростков были информированы о порядке и объеме исследования, получены письменные информированные согласия на проведение исследования, а исследовательская работа проводилась только у респондентов, давших свое согласие. На этапе отбора групп всем девочкам были проведены оценка интенсивности боли по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) и абдоминальное ультразвуковое исследование органов малого таза для исключения органических изменений.

Все участницы исследования были осмотрены детским гинекологом: оценка жалоб, сбор анамнеза, оценка антропометрических параметров (вес, рост, ИМТ), общий и гинекологический осмотр.

Оценка боли во время менструаций проведена по 10-балльной шкале ВАШ: от отсутствия боли до абсолютно невыносимой боли (0-10 соответственно).

Оценка болевого синдрома по шкале следующая: 1–3 балла – легкая боль, 4–7 баллов – умеренная боль и 8–10 – сильная боль.

II этап исследования (лабораторный этап). У всех участниц исследования определяли уровень 25-ОН витамина D, гормонов эстрадиола и прогестерона, генотипы гена VDR в венозной крови. Показателем состояния витамина D в организме является 25(ОН)D – основной метаболит витамина D в крови. Забор венозной крови проводили натощак медицинскими работниками лаборатории «Инвитро», г. Актобе. Забор венозной крови для определения 25-ОН витамина D в сыворотке крови.

Полученную кровь помещали в пробирку с красной крышкой, тщательно перемешивая 4-6 раз и выдерживая при комнатной температуре +20±8°C. хранили, в вертикальном положении в течение 30 минут, затем центрифугировали в течение 10 минут и транспортировали. Метод определения – исследован путем хемилюминисцентного иммунологического анализа микрочастиц.

Материал, в котором исследуется уровень гормон прогестерона – это сыворотка крови. Метод обнаружения - твердофазный хемилюминисцентный иммуноанализ. Анализ проводился на 22-23 день менструального цикла.

Уровень гормона эстрадиола также определялась в сыворотке крови. Метод обнаружения - электрохемилюминисцентный иммуноанализ (ECLIA). Биоматериал для исследования сдавали натощак.

Генетическое исследование: проводилось путем определения генотипов гена VDR.

При анализе однонуклеотидного полиморфизма (SNP) в гене VDR рецептора витамина D (ген VDR расположен на хромосоме 12q12q13 в организме человека). При проведении генетического анализа: от каждого респондента были заполнены анкета генетического исследования, форму инструкции и информированное согласие.

Генотипирование было определено с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рестрикционного анализа. Забор крови на генетический анализ был получен только в тот момент, когда субъект дал согласие и присоединился к исследованию. Образец крови собирали в вакутейнер светло-фиолетового цвета (Becton Dickinson, BD Vacutainer) емкостью 2,0 мл, цельная кровь содержащий калиевую этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА). После забора крови пробирку осторожно перемешивали 4-6 раз. Температура хранения и транспортирования составляла +2...+8°C.

В нашем исследовании генотипы однонуклеотидного полиморфизма (SNP) в гене VDR рецептора витамина D подразделяются на три типа: T/T, T/C и C/C: T/T представляет собой нормальную версию полиморфизма, то есть генотип без риска развития; T/C – обнаружение мутации в одной из двух пар генов, риск развития гетерозиготного генотипа; C/C — тип генотипа, расположенный на парных аллелях мутации и связанный с риском гомозиготности полиморфизма.

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Сбор, обобщение и систематизация исходной информации производили в базе данных MS Excel 2016. Статистическую обработку полученных результатов исследования проводили с использованием 25 версий программы SPSS 25. Проверку нормальности распределения проводили с помощью критериев Колмогорова-Смирнова (Kolmogorov-Smirnov) и Шапиро-Уилка W (Shapiro-Wilk'S W-test). В случае нормального распределения показателям были рассчитаны такие параметры, как среднее арифметическое (M), Стандартная ошибка (M) и стандартное отклонение (SD), а в случае отклонения данных от нормального распределения-медиана (IB), межквартильный диапазон (25 - й-75-й квартили, IQR).

При отсутствии нормального распределения между показателями использовали непараметрические методы: U-критерий Манна-Уитни (U-test Манна-Уитни) для сравнения двух групп, критерий Крускала-Уоллиса (kruskal-Wallis h test) для трех и нескольких групп. Номинальные данные выражали в абсолютных значениях и процентах N (%). Критерий Хи-квадрат Пирсона использовали для сравнения номинальных данных, однако, когда ожидаемое явление имело значение не менее 10 в одной ячейке, был рассчитан критерий Фишера.

Определение корреляционных отношений между переменными оценивали путем расчета коэффициента корреляции Spearman (r) R.

Обобщенные модели линейной регрессии для анализа связи изучаемых результатов с возможными предикторами: для бинарных результатов - бинарная логистическая регрессия доверительный интервал (ДИ) как оценка величины эффекта, 95% вероятность соответствующего соотношения (ОШ), для порядковых результатов - в качестве оценки объема использовалась модель пропорциональных шансов (пропорциональное отношение правдоподобия согласно 95% ДИ).

Для оценки влияния предикторов на динамику количественных показателей использовались смешанные модели линейной регрессии с добавлением члена взаимодействия, уровень достоверности p для коэффициента взаимодействия, определение корреляционных связей между переменными, расчет коэффициента корреляции Спирмена (r).

Коэффициенты Кокса и Снеллы проверяли по критерию значимости Наджелкерки для дальнейшего практического использования модели. Использовали GEN-экспертный калькулятор для расчета статистики в исследованиях «случай-контроль».

В исследовании "случай-контроль" использовали онлайн калькулятор GEN-expert [file:///C:/Users/Acer/Downloads/GEN-эксперт%20\(1\).html](file:///C:/Users/Acer/Downloads/GEN-эксперт%20(1).html) для расчета статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе общей работы был проведен описательный и сравнительный анализ показателей общего физического развития девочек-подростков, в первую очередь по исследованию «Случай-контроль».

Число девочек-подростков, принявших участие в исследовании, составило 410. Исследовательские группы были разделены на группу случая и контроли.

Группа случаев - количество девочек с выявленной первичной дисменореей $n=206$, т.е. девочки с выявленной болью по визуальной аналоговой шкале во время менструации, а контрольная группа - девочек с выявленным нормальным менструальным циклом $n=204$.

По результатам описательного анализа обследованных группы случая и контроли: средний возраст составил 15,2 года в группе случаев (95% СИ: 15-15,5) и 14,9 года в контрольной группе (95% СИ: 14,7-15,1), $p=0,19$; рост составил 159,5см (95% СИ: 158,5 - 160,5) в группе случая и 160,9см (95% СИ: 160,0 - 161,9) в контрольной группе, $p=0,06$; масса тела составила 53,7 кг (95% СИ: 52,5 - 55) в группе случая и 54,3кг (95% СИ: 53,9 - 55,7) в контрольной группе $p=0,1$, по индексу массы тела средняя величина в группе случаев у девочек-подростков составляла $21,1\text{кг}/\text{м}^2$ (95% СИ: 20,7 - 21,5), а у девочек контрольной группы индекс массы тела составлял $21,2\text{кг}/\text{м}^2$ (95% СИ: 20,8-21,5), $p=0,17$. Существенной разницы между двумя группами по показателям вышеуказанного возраста, роста, массы тела и индекса массы тела не выявлено. Медиана возраста менархе была 11 лет в обеих группах.

Выполняя задачу исследования, был проведен сравнительный анализ между двумя группами состояния гормонов эстрадиола в фолликулярной фазе менструального цикла и прогестерона в лютеиновой фазе.

В анализе крови девочек-подростков по уровню гормона эстрадиола в группе случая медиана составила 188,0 [109,0; 335,0] пмоль/л, а в контрольной группе медиана составляла 262,0 [120,0; 398,0] пмоль/л. То есть указанные медианы уровня гормона эстрадиола находились в пределах нормы в обеих группах.

В ходе проведения сравнительного анализа было выявлено, что медиана уменьшилась в группе случаев и показала, что относительная значимая разница существует между двумя группами ($p=0,03$).

Медиана гормона прогестерона в сыворотке крови девочек-подростков, участвовавших в исследовании, находился в пределах референтных значений в обеих группах. Медиана гормона прогестерона в сыворотке крови девочек-подростков участвовавших в исследовании в группе случаев составила 0,7 [0,4; 2,3] нмоль/л, а в контрольной группе-0,8 [0,4; 11,4] нмоль/л, при сравнении между группами исследования значимых различий не выявлено ($p=0,2$).

У всех обследованных девочек выявлен дефицит витамина 25(OH)D, при этом медиана витамина 25(OH)D в сыворотке крови составил 15,3 [11,6; 21,1] нг/мл. При сравнении средний уровень витамина 25(OH)D в группе случаев составил 14,6 [10,6; 19,3] нг/мл, а в контрольной группе 15,6 [13,0; 23,2] нг/мл. Эти значения подтверждают, что дефицит витамина 25(OH)D (<20 нг/мл) был более выражен в группе случаев ($p=0,0004$).

Уровни 25(OH)витамина D в сыворотке крови, были на 0,8 нг/мл ниже в группе случаев, чем в контрольной группе, согласно сравнительному анализу, и, соответственно, была обнаружена явная разница между двумя группами ($P=0,0004$).

Особый интерес в исследовании представлял уровень витамина 25(OH)D у девочек-подростков с ПД. Это было вызвано тем, что этот витамин действует с одной стороны как метаболит, а с другой – как регуляторный гормон, поэтому диапазон его значений считается важным.

Показатель витамина 25(OH)D в зависимости от его уровня в организме может быть достаточным, недостаточным и дефицитным.

Соответственно, описательный анализ уровня витамина D показал следующие результаты: медиана достаточного уровня (>30 нг/мл) среди девочек-подростков в группе случаев составил 34 [32,0; 41,0] нг/мл; медиана недостаточного уровня (интервал 20 - 30 нг/мл) составила 23 [21,0; 25,0] нг/мл; медиана дефицитного уровня (<20 нг/мл) 13 [10,0; 16,0] нг/мл. Следующий описательный анализ показал, что среди девочек - подростков в контрольной группе медиана достаточного уровня витамина D (>30 нг/мл) составил 42 [31,0; 45,0] нг/мл; медиана недостаточного уровня (интервал от 20 до 30 нг/мл) составляет 23 [21,0; 27,0] нг/мл; медиана уровня дефицита (<20 нг/мл) составила 14 [12,0; 17,0] нг/мл.

Результаты сравнительного анализа уровней витамина D между этими двумя заданными группами: при достаточном уровне уровень витамина D в контрольной группе был в 1,2 раза ниже нг/мл, чем в группе случаев, и была обнаружена значимая разница ($p < 0,001$). Следующий, по недостаточному уровню витамина D, имел одинаковое значение между группами "случай-контроль", поэтому относительной разницы не обнаружено ($p = 0,2$).

По уровню дефицита витамина D в контрольной группе 25(OH) было на 1 нг/мл выше, чем у девочек-подростков в группе случаев, и была обнаружена относительно четкая разница ($p < 0,01$).

Последующий корреляционный анализ был проведен между уровнем витамином 25(OH)D и первичной дисменореей.

Корреляционный анализ показал, что существует отрицательная сильная корреляционная связь между визуальной аналоговой шкалой, которая является показателем болевого признака первичной дисменореи у девочек-подростков с уровнем витамина 25(OH)D $r = -0,9$, $p < 0,0001$. Следовательно, чем более выражен дефицит витамина 25(OH)D у девочек подростков, тем более выражены проявления менструального болевого синдрома во время менструального цикла.

Выявлена положительная слабая корреляционная связь между витамином D 25(OH) в сыворотке крови и гормоном прогестероном $r = 0,15$, $p < 0,001$. Это, в свою очередь, приводит к увеличению выработки гормона прогестерона в сыворотке крови в соответствии с фазой менструального цикла, когда уровень витамина 25(OH)D повышается выше уровня дефицита или недостаточности.

Между визуально-аналоговой шкалой и гормоном эстрадиол установлена следующая отрицательная слабая связь, то есть чем ниже уровень гормона эстрадиола в сыворотке крови, тем в большей степени выражен болевой синдром у девочек во время менструаций ($r = -0,1$) $p = 0,04$.

Следующая связь была проведена с помощью логистического регрессионного анализа.

При проведении модели логистического регрессионного анализа независимый показатель зависит от возникновения первичной дисменореи от недостаточного уровня витамина D вероятность соотношения (OR) на 10,1 [95% СИ: 2,869 - 35,665], а вероятность соотношения дефицитного уровня витамина D (OR) на 11,6 [95% СИ: 3,447-38,839], чувствительность модели логистического регрессионного анализа показывает наличие статистически значимой прямой связи между девочками-подростками, у которых была выявлена первичная дисменорея риск перехода в эту группу с первичной дисменореи в 12 раз чаще.

Коэффициент в модели логистической регрессии в этом выводе: ложное значение R^2 Nejelkerk было равно 0,84. модель логистической регрессии для прогнозирования первичной дисменореи основана на недостаточности и дефиците витамина D.

Анализ частот аллелей и генотипов гена VDR rs731236.

У девочек-подростков, у которых в результате генотипирования была выявлена первичная дисменорея, было обнаружено, что аллель Т встречается с частотой 35,9% (n=295), у девочек контрольной группы аллель Т встречается в 1,1 раза реже, чем частота 41,3% (n=338).

Далее, у девочек-подростков, у которых была выявлена первичная дисменорея по аллелю С, частота составила 8,5% по сравнению с контрольной группой (n=70), и было обнаружено, что она встречается в 1,6 раза реже. Однако аллель С, который указывает на группу риска, чаще встречался в группе случаев.

Далее, анализируя частоту генотипов гена VDR rs731236, генотип Т/Т был обнаружен в группе случаев с частотой 43% (n=107) и в контрольной группе с частотой 57% (n=141); Генотип Т/С был обнаружен в группе случая с частотой 59% (n=81), а в контрольной группе с частотой 41% (n=56); гомозиготный генотип С/С был обнаружен в группе случая с частотой 72% (n=18), а в контрольной группе с частотой 28% (n=7).

Проведен сравнительный анализ уровня витамина D в генотипах гена VDR между двумя группами.

В контрольной группе по нормальному генотипу Т/Т уровень витамина D составил $43,5 \pm 3,6$ нг/мл, а в группе случай уровень витамина D у девочек-подростков составил $38,4 \pm 6,5$ нг/мл, и было выявлено, что существует статистическая значимая разница между двумя исследовательскими группами девочек-подростков ($p=0,003$).

В контрольной группе с опасным аллелем полиморфизма гетерозиготного генотипа Т/С уровень витамина D составил $24,2 \pm 3,1$ нг/мл; уровень витамина D у девочек-подростков в группе случаев составил $23,6 \pm 2,7$ нг / мл и относительная разница была значимой ($p=0,01$).

Гомозиготный полиморфизм аллеля риска С/С в группе случаев, уровень витамина D составил $12,7 \pm 3,7$ нг/мл, а уровень витамина D в контрольной группе составил $13,4 \pm 3,2$ нг/мл, но существенной разницы между двумя группами не выявлено ($p=0,9$).

Выявлена значимая статистическая разница по уровню витамина D в генотипах Т/Т и Т/С и между группами случаев и контроли: Т/Т ($38,4 \pm 6,5 / 43,5 \pm 3,6$ нг/мл) $p=0,003$ и Т/С ($23,6 \pm 2,7 / 24,2 \pm 3,1$ нг / мл) $p=0,01$, С/С ($12,7 \pm 3,7 - 13,4 \pm 3,2$ нг / мл) $p=0,9$.

В рамках конструкции случай-контроль был использован онлайн-калькулятор GEN-expert, который использует результаты исследования гена VDR для SNP.

Мультипликативная модель наследственности применялась при выполнении условий Харди-Вайнберга, между частотами аллелей в группах случаев и контроли.

Аллель Т встречался в группе случаев с частотой 0,716% и в контрольной группе с частотой 0,828%, вероятность соотношения (OR) 0,52

[95% СИ: 0,37-0,73]. Аллель С был обнаружен с частотой 0,284% в группе случаев и встречался с частотой 0,172% в контрольной группе с вероятностью отношения (OR) 1,92 [95% СИ; 1,37-2,68], $\chi^2 = 14,71$. В ходе анализа соответствия равновесию Харди-Вайнберга была выявлена статистически значимая разница в частотах ($p = 0,0001$) между двумя группами, т.е. в группе случая, по сравнению с контрольной группой.

Согласно общей модели наследственности, генотипы использовались для групп случаев и контроли одинаково по частоте.

Генотип Т/Т встречался в группе случаев с частотой 0,519% и в контрольной группе с частотой 0,691%, вероятность соотношения (OR) 0,48 [95% СИ: 0,32-0,72]. Частота генотипа Т/С составляла 0,393% в группе случаев и 0,275% в контрольной группе с вероятностью соотношения (OR) 1,71 [95% СИ; 1,13-2,60]. Генотип С/С встречался в группе случаев с частотой 0,087%, а в контрольной группе с частотой 0,034%, с вероятностью соотношения (OR) 2,69 [95% СИ; 1,10-6,60] $\chi^2=14,05$. В ходе анализа соответствия равновесию Харди-Вайнберга была выявлена статистически значимая разница ($p = 0,0009$) между двумя группами, т.е. в группе случая, по возможности соотношения между частотами генотипов по сравнению с контрольной группой. В результате генотипирования статистический анализ выявил относительную разницу, оценивающую вероятность первичной дисменореи при встрече генотипа С/С.

По полученным результатам были сделаны следующие выводы.

ВЫВОДЫ

1. Уровень 25(OH)D у девочек-подростков был значительно ниже в группе случаев с первичной дисменореей, по сравнению с контрольной группой $p = 0,0004$. Уровни эстрадиола были значительно выше в контрольной группе по сравнению группой с первичной дисменореей $p = 0,03$.
2. Уровни витамина D в генотипах Т/Т ($p = 0,003$) и Т/С ($p = 0,01$) были значительно ниже в группе случая по сравнению с контрольной группой, а в генотипе С/С не было различий ($p = 0,9$).
3. Обнаружение сильной отрицательной связи между витамином D и ВАШ $R = -0,9$ ($P < 0,0001$), т.е. значительно увеличивает вероятность развития первичной дисменореи уровень недостаточности 25(OH) D в 10,1 раза [95% СИ: 2,869 - 35,665], а уровень дефицита в 11,6 раза [95% СИ: 3,447 - 38,839] (Najelkerka $R^2 = 0,84$). 0,519% в группе случаев Т/Т, 0,691% в контрольной группе, (OR) 0,48 [95% СИ: 0,32-0,72]; 0,393% в группе случаев Т/С, 0,275% (OR) 1,71 [95% СИ; 1,13-2,60]; 0,087% в группе случаев С/С, в контрольной группе 0,034% (OR) 2,69 [95% СИ; 1,10-6,60]. Выявлена связь развития первичной дисменореи у девочек-подростков с полиморфизмом гена VDR $\chi^2=14,05$. ($p = 0,0009$).