

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

**АННОТАЦИЯ
PhD ДОКТОРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ**

**Название темы: «Клинические и генетические маркеры костного
метаболизма у детей до года в казахской популяции»**

По образовательной программе 8D10102 «Медицина»

ФИО: Ким И.С.

Сроки выполнения: 2020-2023гг.

Научный консультант:
Руководитель кафедры детских болезней №1 с неонатологией
ЗКМУ имени Марата Оспанова д.м.н., профессор
Жумалина А.К.
Зарубежный консультант:
MD, PhD, проф. медицинского
университета им. Кароля Марцинковского г. Познань, Польша
Anna Mania

Актобе, 2024

АННОТАЦИЯ

Ким И.С. на тему: «Клинические и генетические маркеры костного метаболизма у детей до года в казахской популяции» предоставленной на соискание степени доктора философии (PhD), по специальности 8D10102 «Медицина»

Научный руководитель: д.м.н., профессор Жумалина А.К.

Зарубежный консультант: MD, PhD, профессор, Anna Mania.

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]. В целом динамика костной массы человека характеризуется увеличением в детстве, достижением максимума в 20-летнем возрасте, затем стабилизацией и постепенным снижением после 35 лет, что в конечном итоге приводит к развитию остеопороза [4].

Распространенность остеопороза высока, например, в США около 10 млн. человек имеют остеопороз и 18 млн. страдают от потери костной массы [5]. По данным Центра здоровья детей (Москва), денситометрия 1000 детей в возрасте 7-15 лет показала снижение плотности костной ткани у 40% обследованных [6]. В исследовании, проведенном в Западном Казахстане, остеопения была выявлена у 70% из 396 здоровых детей в возрасте 12-17 лет [7,8].

В развитии детей выделяют критические периоды, когда высокая активность биологических процессов сопровождается ускоренным высоким темпом роста костей скелета на фоне линейного роста и дифференцировки 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 [9,10].

Обсуждается роль генетических факторов в модуляции риска развития нарушений костного метаболизма. В многочисленных исследованиях показано, что пик костной массы и скорость ее потери на 60-80% детерминированы генетически [11,12]. Генетические факторы, по данным литературы, влияют также на уровень 25 (ОН) D в сыворотке крови [13,14]. Вклад генотипа в вариации уровня 25(ОН)D в сыворотке крови составляет от 23-43% до 77-80% [15]. В качестве основных генов-кандидатов были определены гены, мутации в которых влияют на уровень 25(ОН)D. К ним относят: CYP2R1, CYP27B1, GC фBP, CYP24A1, VDR и DHCR7/NADSYN1

Ф П ЗКМУ 50-07-12-2022. Аннотация Phd докторской диссертации. Издание первое.

Ф П ЗКМУ 50-07-12-2022. PhD докторлык диссертация аннотациясы. Бірінші басылым

[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.

Учитывая, что подобные исследования у детей казахской популяции не проводились, перспективным представляется изучение распределения частот генотипов и аллелей для молекулярно-генетического тестирования по полиморфизмам гена VDR (rs2228570, rs1544410) и RANKL (rs9594759, rs9594738), а также анализ связи между молекулярно-генетическими маркерами и показателями костного метаболизма с разработкой диагностических алгоритмов.

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

Задачи исследования:

1. Исследовать показатели костного метаболизма (остеокальцин, витамин D, Ca, P, кальцитонин, ПТГ, дезоксипиридинолин) у детей до года в казахской популяции.
2. Определить частоту аллельных вариантов генов VDR (rs1544410, rs2228570), RANKL (rs 9594738, rs9594759) у детей до года в казахской популяции.
3. Оценить связь между наличием аллельного полиморфизма генов VDR (rs1544410, rs2228570), RANKL (rs 9594738, rs9594759) и показателями костного метаболизма у детей до года в казахской популяции.
4. Разработать алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей до года в казахской популяции.

Научная новизна исследования:

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 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 казахской популяции. Результаты проведенного обследования, внедрены в практическое здравоохранение. Имеются акты внедрения «Алгоритм донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей до года»: (№7 от 10.10.2023г в ГКП «Городская поликлиника №2» на ПХВ ГУ УЗ Актыбинской области; №8 от 10.10.2023г в ТОО ТТик)

Основные положения, выносимые на защиту

1. Выявлены достоверные различия в уровнях показателей костного метаболизма, таких как общий кальций ($p < 0,001$), фосфор ($p < 0,01$), кальцитонин ($p < 0,001$), остеокальцин ($p < 0,01$) и витамин D ($p < 0,001$) в различных возрастных группах.

2. Установлено, что частота генотипа GG rs1544410 полиморфного варианта гена VDR у детей до года казахской популяции составляет 59%. В то время как, частота генотипа CC rs9594759 полиморфизма гена RANKL варьирует в пределах 43%. 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.

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 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».

2. 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».

3. 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».

4. 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».

5. 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».

6. 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 индексируемых 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, p. 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, c. 161-170
- Vitamin D level and indicators of bone tissue metabolism in kazakh infants//Zhumalina, A.K., Kim, I.S., Delyagin, W.M.//Russian Family Doctor, 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//Zhurnalina 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//Zhurnalina 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 Rank1 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)

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

3 тезиса - в сборниках Международных научно-практических конференций

2 авторских свидетельства:

- № 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

4 акта внедрения:

В практическое здравоохранение :

- «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 ТТК

В учебный процесс:

- «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.

Личный вклад автора

Автором был проведён 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.

Материалы и методы исследования:

В работе соблюдены принципы Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association of Helsinki, 1964, обновленной в октябре 2013 г. на 64-ой Генеральной Ассамблее ВМА, Форталеза, Бразилия). Диссертационное исследование прошло экспертизу локального этического комитета при ЗКМУ имени Марата Оспанова г.Актобе от 04.12.2020 г., протокол № 10. Протокол исследования был зарегистрирован на ClinicalTrials.gov, который находится в ведении Национальной медицинской библиотеки США (NLM) при Национальных институтах здравоохранения и является крупнейшей базой данных клинических исследований. Идентификационный номер: NCT05375331.

В соответствии с целью и задачами исследования были обследованы 250 детей до 1 года казахской популяции, рожденные в г. Актобе. Расчет объема выборки был сделан с учетом программы «EpiInfo»:

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

N - общая рождаемость детей по городу Актобе;

p- частота встречаемости

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

В основу работы был положен анализ результатов, полученных при комплексном клинико-лабораторном обследовании 250 детей. Родители или законные представители пациентов, включенных в исследование, подписывали информированное согласие с разрешением на обработку персональных данных в научных целях.

Набор детей осуществлялся с помощью метода вероятностной выборки в г.Актобе. Всего было обследовано: мальчиков 94 (37,6%); девочек -156 (62,4%).

Все обследованные дети были распределены на 3 возрастные группы: 1 группа - дети от 0-до 28 дней (новорожденные); 2 группа - от 1 месяца до 6 месяцев, 3 группа - от 6 до 12 месяцев.

Формирование возрастных групп обследованных детей было выполнено с учетом особенностей экзогенного поступления витамина D. В частности, в 1 группе предполагается наличие прямой зависимости содержания витамина D от аналогичного материнского показателя. Количественное содержание витамина D во 2 группе не зависит от экзогенных поступлений, т.к. дети данной возрастной группы не получают продукты прикорма. В 3 группе, предполагается дополнительное поступление витамина D с продуктами прикорма, в соответствии с содержанием Национальной программы оптимизации вскармливания детей первого года жизни.

Группа детей, обследованная в рамках научного исследования, была сформирована в соответствии с критериями включения и исключения.

Критерии включения: «практически здоровые» дети до года (0 -12 месяцев) казахской популяции; дети без органической патологии и генетических синдромов; удовлетворительное состояние на момент исследования; возможность взятия крови у детей для проведения обследования; наличие подписанного родителями или законными представителями информированного согласия.

Определение принадлежности к казахской популяции проводилось методом оценки генеалогии в трех поколениях с заполнением анкеты.

Критерии исключения: наследственные заболевания опорно-двигательного аппарата; тяжелые хронические соматические заболевания; инвалидность по причине других заболеваний; факт приема витамина D в лечебной дозе; отказ родителей или законных представителей от участия в исследовании; недоношенные дети; возраст детей старше 1 года.

Дизайн исследования: описательное одномоментное поперечное исследование

I этап. Клинико-анамнестическое исследование: анкетирование родителей; анализ анамнестических данных детей; оценка состояния здоровья ребенка

II этап. Оценка костного метаболизма. Биохимическое исследование крови: кальций, фосфор, паратгормон, остеокальцин, витамин D, кальцитонин.

Исследование мочи: дезоксиридинолин.

III этап. Исследование на генетические маркеры: VDR (rs1544410, rs2228570), RANKL (rs 9594738, rs9594759).

IV этап. Разработка алгоритма донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей.

Клинико-анамнестическое обследование:

Все родители обследуемых детей дали добровольное согласие на проводимое исследование. С учётом поставленных цели и задач, была разработана индивидуальная регистрационная карта, которая заполнялась во время проведения исследования на каждого ребёнка. Обследование начинали со сбора анкетных данных (дата рождения матери и ребенка, пол ребенка, адрес проживания, контактная информация для дальнейшего наблюдения за ребёнком). Анкетирование матерей проводилось по индивидуальной регистрационной карте, включающей возраст, наличие хронических заболеваний и вредных привычек у матери, прием лекарственных средств во время беременности, числа беременностей и родов, сведения о настоящей беременности и родах, наличие дополнительной дотации препаратами витамина D и кальцием. Клинико-анамнестические данные ребенка включали: массо-ростовые показатели при рождении, характер вскармливания на первом году жизни, этапность введения прикормов, профилактику рахита. Оценка физического развития заключалась в измерении массы тела, длины тела ребёнка и сравнительного анализа измеренных показателей с нормами развития с использованием центильных шкал, разработанных ВОЗ.

Лабораторное обследование детей:

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

В 2020г. лабораторные исследования пациентов были выполнены в клиничко-диагностической лаборатории «Инвиво» по адресу: пр. Абылхайыр хана, д. 62, корп. 3 г. Актобе. Исследование проводилось в рамках внутривузовского проекта: «Клинические и генетические маркеры статуса витамина D у новорожденных и детей раннего возраста в казахской популяции» Приказ № 13/2-18-124 от 26.02.2020г.

В 2021г лабораторные исследования проводились в центре Красоты и Здоровья клиники «Айгерим» по улице Маресьева, 87, в рамках внутривузовского проекта: «Клинические и генетические маркеры костного метаболизма у детей казахской популяции» Приказ № 13/2-18-303н/к от 24.05.2021г. Забор крови осуществлялся в условиях процедурного кабинета соответствующего лечебного учреждения, с соблюдением общепринятых правил забора крови из вены для ее биохимического анализа.

В ходе исследования были проведены биохимические исследования костного метаболизма:

- Сывороточная концентрация кальция определялась колориметрическим фотометрическим методом на биохимическом автоматическом анализаторе ВА 400, 2021 года. Референсные значения -2,2-2,7 ммоль/л.
- Сывороточная концентрация фосфора оценивалась колориметрическим методом с использованием молибдата аммония на биохимическом автоматическом анализаторе ВА 400, 2021 года. Референсные значения фосфора у детей до 12 лет – 1,45–2,16 ммоль/л.
- Содержание остеокальцина - иммунохроматографическим методом на анализаторе Siemens Immulite 2000 Хрі. 2013 года. Референсные значения остеокальцина - 2,8-41 нг/мл.
- Сывороточное содержание 25(ОН)D определялось с использованием иммунохемилюминесцентного метода на анализаторе Iflash/2022 года. Обеспеченность витамином D оценивали в соответствии с критериями, установленными «Institute of Medicine», 2011г. США [17]. Концентрация 25(ОН)D (<21 нг/мл) - дефицит; (21-30 нг/мл) – недостаточность; (>30-75 нг/мл) - адекватная концентрация.
- Сывороточное содержание кальцитонина иммунохроматографическим методом на анализаторе Immulite 2000 Хрі. 2013 года. Референсные значения: менее 50 нг/л [18].
- Концентрация паратгормона (ПТГ) определялось с использованием иммунохроматографического метода на анализаторе Immulite 2000 Хрі. 2013 года. Референсные значения 15-65 пг/мл[18].
- Концентрация дезоксиридинолина - иммунохроматографическим методом на анализаторе Immulite 2000 Хрі. 2013 года. Референсные значения содержания: 13,7-41,0 нмоль/ммоль [18].

- Генотипирование полиморфизма VDR (rs1544410, rs2228570), RANKL (rs 9594738, rs9594759) проводилось методом ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе ДТ-прайм (ДНК-технологии, Россия) с использованием коммерческих наборов реактивов ООО «ТестГен» (Россия) методом флуоресцентной детекции на основе разрушаемых олигонуклеотидных зондов с использованием синтетических аналогов олигонуклеотидов [19,20].

Статистические методы исследования:

Полученные в ходе исследования данные были объединены в единую таблицу программы «Microsoft Excel 2016», в которую были внесены сведения из индивидуальных регистрационных карт и результаты лабораторных исследований. Характер распределения количественных переменных оценивался при помощи критерия Шапиро-Уилка. Для описания количественных переменных при нормальном распределении рассчитывались среднеарифметические значения показателей, представленных в тексте в виде $M \pm SD$, где M – средняя арифметическая, SD – стандартное отклонение. При отсутствии нормального распределения использовались медиана и межквартильный размах; качественные переменные были представлены в виде абсолютных частот и процентов. В случае множественных независимых различия по группам количественных переменных оценивались при помощи U-критерия Манна-Уитни; рангового дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса (Kruskal-Walis) и медианного теста. Для анализа качественных переменных применяли критерий Хи-квадрат Пирсона, мера связи оценивалась при помощи критерия Cramer V, рассчитывались отношение шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (ДИ). При всех видах анализа статистически значимым принимался уровень $p < 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась на калькуляторе для генетических расчетов по программе Ген Эксперт (http://gen-exp.ru/calculator_or.php). Для изучения рисков возникновения нарушений костного метаболизма при сочетании нескольких факторов применялся метод «Древо решений» (метод построения: исчерпывающий chaid, позволяющий использовать переменные в узлах нескольких уровней). Используемая программа – IBMSPSS «STATISTICA 10.0» фирмы StatSoft, Inc. и SPSS 25.

Основные результаты исследования.

Анализ анамнеза и состояния пре- и постнатальной витаминно-минеральной профилактики у детей обследуемых групп выявил отклонения в состоянии здоровья у 80,4% матерей. В структуре патологии матерей преобладали гестоз 1 половины беременности и анемия в 42,4% и 46,8% соответственно. На втором месте - инфекционно-воспалительные заболевания (37,6%). Пренатальная профилактика проводилась витаминно-минеральными комплексами и препаратами кальция в 29,6% случаев. Высокий процент женщин - 55,6% (n =139), не получавших антенатальную профилактику, объясняется отсутствием ее в клинических протоколах. Детям постнатальная профилактика витамином D проводилась в 40,4% (n=101)

случаев. Физическое развитие: 69,2% детей соответствовало возрасту; 19,6% - опережало; 11,2% - отставало от паспортного возраста. Физическое развитие было гармоничное в 75,6%, дисгармоничное — в 24,4%.

По результатам нашего исследования показатели костного метаболизма (кальций, фосфор, кальцитонин, остеокальцин) распределились в референсных значениях. При сравнении показателей по методу Краскела-Уоллиса выявлены достоверные статистические различия между 1 и 2, а также 2 и 3 возрастными группами по кальцию, и между 1 и 2 группами - по фосфору ($p < 0,01$), статистические различия между 2 и 3 группами ($p < 0,01$) по кальцитонину, а также по остеокальцину - между 1 и 2 ($p < 0,01$) и 1 и 3 группами ($p < 0,01$).

У 250 детей определено содержание уровня витамина D и проведен анализ полученных результатов, который выявил, что в 78% случаев ($n=195$) (95% CI: 72,9-83,1) выявлена недостаточность либо дефицит витамина D. В нашем исследовании средний уровень был равен $24,23 \pm 1,6$ нг/мл. Наилучшие показатели обеспеченности витамином D наблюдались у детей 6-12 месяцев ($29,22 \pm 1,9$ нг/мл); наиболее низкие показатели — у детей периода новорожденности ($14,23 \pm 2,8$ нг/мл).

В ходе исследования проведен анализ с использованием коэффициента ранговой корреляции для установления взаимосвязи показателей костного метаболизма с уровнем витамина D. Результаты исследования показали "слабую положительную связь" между витамином D и концентрацией кальция ($r=0,22$), "слабую положительную связь" между остеокальцином и витамином D ($r=0,261$), "слабую отрицательную связь между уровнем паратгормона и витамином D ($r=-0,185$), "слабую отрицательную связь между уровнем кальцитонина и витамином D ($r=-0,175$).

В соответствии с обнаруженными связями между рутинными показателями костного метаболизма и уровнем витамина D, нами была выдвинута нулевая гипотеза, предполагающая возможность влияния уровня витамина D на показатели костного метаболизма. Был проведен сравнительный анализ между показателями костного метаболизма (Ca, P, кальцитонина, остеокальцина) и уровнем витамина D с использованием непараметрического метода Манна-Уитни. Получены достоверные статистические различия в группе детей со сниженным уровнем витамина D по показателям остеокальцина ($p \leq 0,01$), фосфора ($p \leq 0,01$), кальция ($p \leq 0,01$) и ПТГ ($p \leq 0,01$), что подтверждает влияние витамина D на метаболические процессы в костной системе. Констатирован факт снижения кальцитонина, а также дезоксипиридинолина (статистически недостоверного). Наряду с влиянием витамина D на минеральный обмен, подтверждается его влияние и на процессы формирования костной ткани. Установлено, что содержание остеокальцина является статистически значимым чувствительным индикатором, реагирующим на изменение уровня витамина D. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень витамина D влияет как на минеральный обмен, так и на формирование костной ткани.

Вторым этапом было изучение распределения частот аллельных вариантов гена VDR, RANKL у детей до года в казахской популяции.

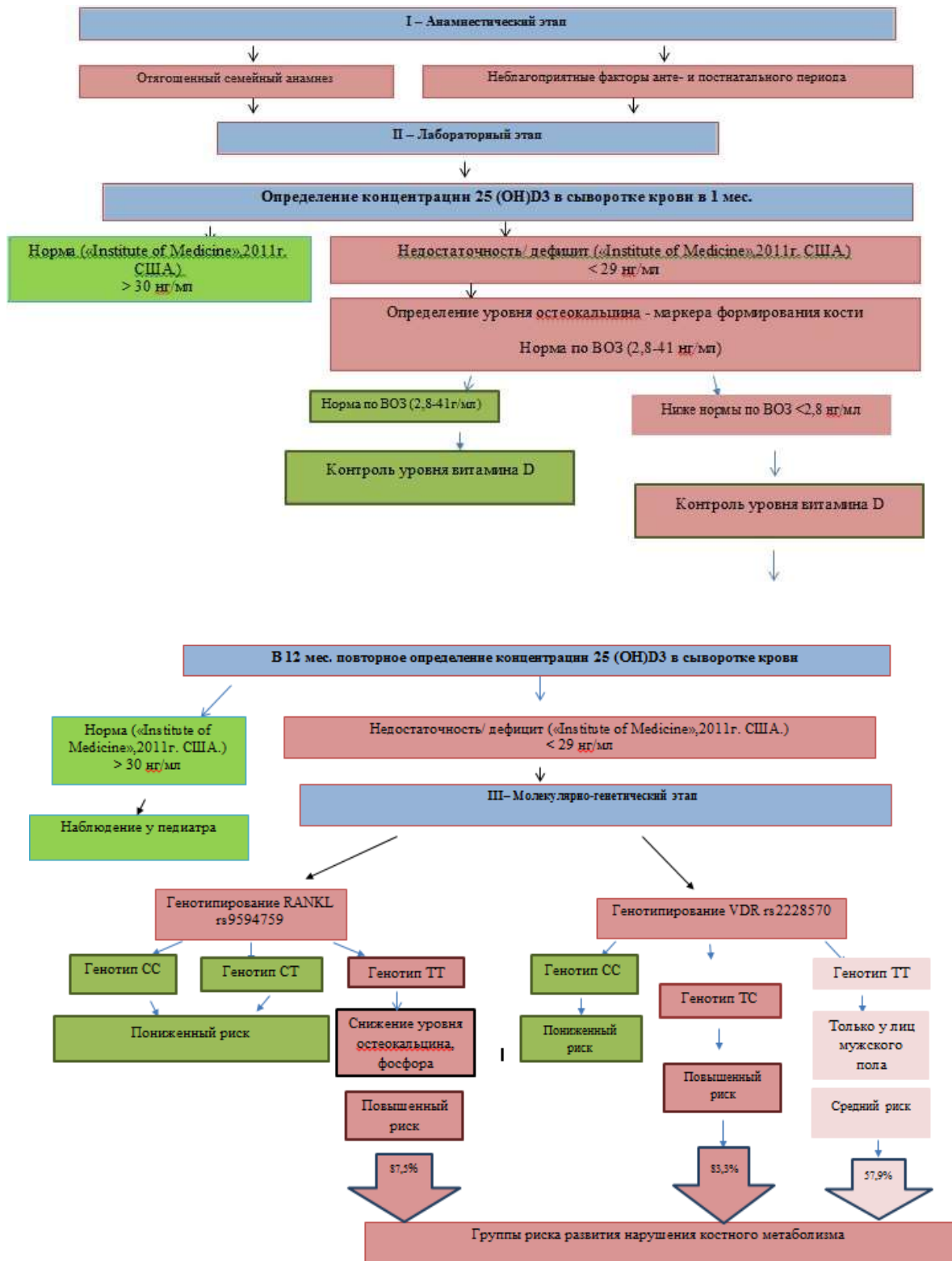
Частота распределения генотипов и аллелей полиморфизма гена VDR rs2228570: TT-0,26, TC-0,28, CC-0,46, частота аллелей T-0,51, C-0,68. У детей до года казахской популяции преобладал генотип CC (46%) и аллель C (68%) гена VDR rs2228570. По литературным источникам известно, что данный полиморфизм влияет на минеральную плотность костной ткани у детей и часто варьирует в зависимости от расы и национальной принадлежности, что подтверждено результатами исследования.

Частота распределения генотипов и аллелей полиморфизма гена VDR rs1544410: GG-0,59, GA-0,38, AA-0,03, частота аллелей G-0,77, A-0,23. Выявлено, что генотип GG у детей казахской популяции встречался в 59% случаев по сравнению с генотипами GA и AA, в соответствии с чем, частота аллеля G встречается чаще, чем аллеля A. Полученные результаты не противоречат данным литературы, которые свидетельствуют, что генотип GG отвечает за снижение риска нарушений низкой минеральной плотности костной ткани, GA-промежуточный риск, AA-повышенный риск.

В ходе дальнейшего обследования детей до года казахской популяции была определена частота распределения генотипов и аллелей гена RANKL полиморфизмов rs9594738 и rs9594759 и получены следующие результаты: CC-0,52, CT-0,18, TT-0,3, частота аллелей C-0,72, T-0,55 rs9594738 и CC-0,43, CT-0,31, TT-0,26, частота аллелей C-0,66, T-0,34. У детей до года казахской популяции преобладал генотип CC (52%) и аллель C (72%) гена RANKL rs9594738. При полиморфизме rs9594759 генотип CC (43%) и аллель C (66%) встречались в том же соотношении. Результаты исследования сопоставимы с литературными данными, так как известно, что полиморфизм rs 9594738 и rs 9594759 гена RANKL увеличивает восприимчивость к изменениям минеральной плотности костной ткани.

Далее были изучены взаимосвязи между показателями уровня витамина D, общего кальция, фосфора, паратгормона, кальцитонина, остеокальцина, дезоксипиридинолина и распределением частот генотипов генов VDR и RANKL при помощи критерия Хи-квадрат Пирсона и меру связи оценивали при помощи критерия CramerV. Была выявлена статистически значимая взаимосвязь носительства генотипа GG ($p < 0,05$) гена VDRrs1544410 со снижением содержания витамина D и уровня фосфора у детей до года казахской популяции. Установлена статистически значимая связь между наличием генотипа CT гена RANKL rs9594759 и концентрации кальцитонина у детей до года казахской популяции (сила связи по Крамеру V – 0.167).

Одной из задач проведенного обследования была разработка алгоритма для донозологической диагностики нарушений костного метаболизма у детей.



Выводы:

1. Выявлены достоверные различия в уровнях показателей костного метаболизма, таких как общий кальций ($p < 0,001$), фосфор ($p < 0,01$), кальцитонин ($p < 0,001$), остеокальцин ($p < 0,01$) и витамин D ($p < 0,001$) в различных возрастных группах.

2. Установлено, что частота генотипа GG rs1544410 полиморфного варианта гена VDR у детей до года казахской популяции составляет 59%. В то время как, частота генотипа CC rs9594759 полиморфизма гена RANKL варьирует в пределах 43%. 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.

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 казахской популяции. Обнаружена статистически значимая средняя корреляция между наличием генотипа CT rs9594759 полиморфизма гена RANKL и концентрацией кальцитонина у детей этой же группы.