

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

*Каргина*

Каргина Ирина Геннадьевна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА  
РАХИТА У ДЕТЕЙ**

14.03.03 – патологическая физиология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, доцент

Щербак Владимир Александрович

Чита – 2019

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	11
1.1. Современное представление о физиологической роли витамина D .....	11
1.2. Современные представления о рахите .....	13
1.2.1. Патогенез витамин D-дефицитного рахита .....	16
1.2.2. Классификация и диагностика D-дефицитного рахита .....	17
1.3. Маркеры метаболизма костной ткани .....	20
1.3.1. Маркеры резорбции костной ткани .....	21
1.3.2. Маркеры формирования костной ткани .....	22
1.3.3. Гормональная регуляция обмена кальция и фосфора .....	24
1.4. Полиморфизмы генов в патологии костной системы .....	25
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	28
2.1. Общая характеристика обследованных групп .....	28
2.2. Лабораторные методы исследования .....	33
2.2.1. Определение уровня маркеров метаболизма костной ткани .....	33
2.2.2. Определение полиморфизма генов .....	34
2.3. Методы статистической обработки результатов исследования .....	35
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	37
3.1. Показатели метаболизма костной ткани в группах наблюдения .....	37
3.2. Исследование полиморфизмов генов метаболизма костной ткани .....	44
3.3. Прогностическое значение изучаемых показателей в развитии течения рахита у детей .....	71
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	80
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	90
ВЫВОДЫ .....	92

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- ИФА - иммуноферментный анализ
- КТ- кальцитонин
- КФ- кислая фосфатаза
- МЕ – международная единица
- ОПГ- остеопротегерин
- ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция
- ПТГ- паратиреоидный гормон
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ХВУГП - хроническая внутриутробная гипоксия плода
- ХФПН – хроническая фетоплацентарная недостаточность
- ЦНС – центральная нервная система
- ЩФ – щелочная фосфатаза
- Arg – аргинин
- $\beta$ -CrossLaps- продукт деградации коллагена
- CI - доверительный интервал
- Ca – кальций
- COL – Collagen
- Lys – Лизин
- ОР - относительный риск
- OR (ОШ) - Отношение шансов
- P - фосфор
- RANK - Receptor activator of nuclear factor kappa-B
- RANKL - Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
- SNP – Single nucleotide polymorphism
- VDR - Vitamin D-receptor

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень ее разработанности**

Проведенные исследования последних лет показали, что рахит определяется как процесс деминерализации костной ткани из-за нарушения баланса веществ, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене и недостаточности систем, обеспечивающих доставку микроэлементов в организм ребенка [64]. Большое количество работ посвящено этиологии, патогенезу, клиническим проявлениям и последствиям рахита, возникающим в старшем возрасте. Однако рахит все еще остается недостаточно изученным. Рахит вызывает костные изменения, в результате нарушения минерального обмена, что ухудшает течение фоновых заболеваний [85]. Именно в возрасте первых 3-х лет обмен веществ в организме ребенка несовершенен, что связано с интенсивным ростом и повышенной потребностью в минеральных веществах [54].

Рахит перестал считаться вопросом, решаемым только в педиатрической практике, в настоящее время его можно отнести к группе медико-социальных проблем, поскольку изменение в накоплении пиковой костной массы предшествует развитию других заболеваний костной системы, одним из таких является остеопороз. К последствиям перенесенного рахита можно отнести мышечную гипотонию, нарушения со стороны вегетативной нервной системы, включающие беспокойство, раздражительность, нарушения сна, а также дисфункции желудочно-кишечного тракта, проявляющиеся запорами. Найдена связь перенесенного рахита, возникающего из-за недостатка метаболитов витамина D, с нарушениями иммунного статуса пациента, что ведет к удлинению времени социальной адаптации ребенка в образовательных

учреждениях, учащению риска развития инфекционных заболеваний, утяжелению их течения, а также развитию осложнений [20].

Классический витамин-D-дефицитный рахит манифестирует чаще всего на 2-3 месяце жизни доношенного новорожденного. В периоде разгара, регистрируемого к концу шестого месяца жизни, определяются выраженные нервно-мышечные расстройства с клиникой поражения костной системы. Для периода реконвалесценции характерно улучшение самочувствия и общего состояния ребенка, ликвидация неврологических расстройств [57].

Для выявления риска развития заболеваний и их предупреждения в современной медицине проводится молекулярно-генетическое прогнозирование. На основании уже полученных данных выявлены ассоциации полиморфизмов гена рецептора витамина D и некоторых заболеваний [21, 39].

Хорошо изучена роль паратиреоидного гормона в патогенезе рахита, однако роль полиморфизма этого гена не исследована [93]. Много публикаций посвящено роли щелочной фосфатазы в развитии рахита, значению кислой фосфатазы уделено меньше внимания [83, 103].

Таким образом, хорошо изученными являются нарушения минерального и витаминного баланса. Однако отдельные патогенетические механизмы развития рахита недостаточно исследованы. В частности, не ясна роль мутаций генов рецептора витамина D, коллагена и гормонов, регулирующих фосфорно-кальциевый обмен в патогенезе рахита.

## **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Установить биохимические и молекулярно-генетические закономерности изменений метаболизма костной ткани при рахите у детей.

## **ЗАДАЧИ**

1. Исследовать концентрацию и активность маркеров метаболизма костной ткани при рахите – кальцитриола, паратиреоидного гормона,

кальцитонина, остеопротегерина, С-концевого телопептида коллагена I типа, кислой фосфатазы, остеокальцина, кальция, фосфора, щелочной фосфатазы у детей в Забайкальском крае.

2. Определить частоту носительства SNP аллельных вариантов генов молекул, регулирующих метаболизм костной ткани у больных рахитом детей – рецептора витамина D VDR:283 A>G (BsmI), VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], коллагена COL1A1: -1997 C>A, COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], остеопротегерина RANKL C>T [rs 9594738], RANKL C>T [rs 9594759].

3. Изучить концентрацию молекул метаболизма костной ткани при рахите в зависимости от варианта носительства SNP изучаемых генов: - рецептора витамина D VDR:283 A>G (BsmI), VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], коллагена COL1A1: -1997 C>A, COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], остеопротегерина RANKL C>T [rs 9594738], RANKL C>T [rs 9594759].

4. Оценить роль маркеров метаболизма костной ткани и генов коллагена, рецептора витамина D и остеопротегерина в прогнозировании варианта течения рахита у детей.

### **НАУЧНАЯ НОВИЗНА**

Установлено, что наличие минорной аллели А гена COL1A1: -1997 C>A, аллельного варианта Т промотора гена COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] ассоциировано с развитием рахита.

Обнаружено, что носительство SNP промоторных генов коллагена COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] оказывают влияние на продукцию молекул С-концевого телопептида коллагена I типа при рахите.

Описана патогенетическая ось рахита у детей, включающая SNP генов коллагена COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], концентрацию С-концевого телопептида коллагена I типа и кальция в сыворотке крови.

## ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РАБОТЫ

Автором расширены теоретические представления о механизмах развития рахита. Диссертантом установлена частота встречаемости SNP вариантов VDR:283 A>G (BsmI), VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], COL1A1: -1997 C>A, COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], среди здоровых резидентов Забайкальского края и у детей, больных рахитом, а также сведения об их влиянии на предрасположенность к рахиту.

Полиморфизмы промоторов гена коллагена COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] сопряжены с повышением концентрации С-концевого телопептида коллагена I типа.

Выявленные сведения о наличии полиморфизмов VDR:283 A>G (BsmI), VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], COL1A1: -1997 C>A, COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], RANKL C>T [rs 9594738], RANKL C>T [rs 9594759] могут использоваться в целях своевременного прогнозирования заболеваний и их профилактики, а также могут быть включены в генетический паспорт индивидуумов.

На основании полученных данных о концентрации интактного ПТГ в сыворотке крови и SNP гена коллагена COL1A1: -1997 C>A разработана оценка прогноза вероятного развития течения рахита на основании многофакторной математической модели основных звеньев патогенеза.

## МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За методологическую основу были взяты работы отечественных и зарубежных исследователей, изучавших механизмы развития и диагностику рахита у детей, в т.ч. включающие вопросы генетической предрасположенности в развитии нарушения обмена минеральных веществ. В соответствии с целью работы и поставленными задачами был разработан план необходимых исследований, в рамках которых применялся ряд методик:

1. Отбор в клинические подгруппы и группу здоровых детей проводился на основании клинических и лабораторных данных.

2. Оценка уровня биохимических показателей (остеопротегерина, С-концевого телопептида коллагена I типа (CrossLaps), кальцитонина, остеокальцина, паратиреоидного гормона, кальция, фосфора. уровень щелочной и кислой фосфатаз) проведена в образцах крови обследуемого ребенка.

3. Определение SNP генов рецепторов витамина D - VDR:283 A>G (BsmI) и VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], коллагена - COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], генов остеопротегерина - RANKL C>T [rs 9594738] и RANKL C>T [rs 9594759] проводилось методом ПЦР-диагностики.

4. Для обработки и представления полученных результатов применялись методы статистического анализа: медианы с перцентильным отклонением [25-75] (Me и 25-75 перцентиль), критерий Манна-Уитни (U-тест), уравнение равновесия Харди-Вайнберга, критерий Пирсона ( $\chi^2$ ), отношение шансов (ОШ).

5. Для прогнозирования особенностей течения рахита был проведен многофакторный регрессионный анализ, итогом которого стало получение уравнения регрессии. В уравнение включались показатели со статистически значимым результирующим признаком  $p < 0,05$ .

### **ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ**

1. Патогенетическая ось, включающая SNP варианты генов коллагена COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], кальцитриол, С-концевой телопептид коллагена I типа и остеопротегерин, играет роль в развитии рахита.

2. Полиморфизм генов коллагена COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] предрасполагает к развитию рахита. Присутствие генотипа AA гена коллагена COL1A1: -1997 C>A и аллельного варианта T гена COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] сопровождается высоким уровнем С-концевого телопептида коллагена I типа.

3. Уровень паратиреоидного гормона и генотип AA гена коллагена COL1A1: -1997 C>A обладают прогностической значимостью в развитии острого и подострого течения рахита у детей.

### **СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ И АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Достоверность результатов и выводов проведенного исследования в соответствии с поставленными задачами определяется объемом проведенных исследований и использованием современных статистических методов вариационной статистики (параметрических и непараметрических) и регрессионного анализа.

Результаты работы доложены на XX Съезде педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2018 г.); XXV Международном конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» (Москва, 2018 г.); XVII межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Медицина завтрашнего дня», посвященной 65-летию Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2018 г.); конференции «Актуальные вопросы первичной медико-санитарной помощи детям и подросткам» (Чита 2018 г.); международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию образования Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2018 г.); XVII Российского конгресса «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2018г.).

По теме диссертации опубликовано 11 работ, в том числе 3 статьи в журналах ВАК.

### **ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Комплекс разработанных диагностических мероприятий внедрен в работу ГУЗ «Детский клинический медицинский центр» г. Чита, Поликлиническое

подразделение №3.

Результаты используются в образовательном процессе кафедр патологической физиологии, пропедевтики детских болезней и педиатрии ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Читинской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения РФ.

### **ОБЪЕМ И СТРУКТУРА РАБОТЫ**

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка используемой литературы (118 отечественных и 82 зарубежных источников). Работа иллюстрирована 30 таблицами, 6 рисунками, 2 примерами.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современное представление о физиологической роли витамина D

Науке известно несколько форм витамина D, все они синтезируются под действием ультрафиолетовых лучей в растениях, коже животных и человека [111, 137, 198]. Действие витамина D основано на геномных и внегеномных механизмах реакций [143].

В ходе проведенных ранее исследований были получены расширенные данные о распространенности рецепторов витамина D (VDR), которые были обнаружены во всех системах организма [31, 49, 50, 73, 79].

Влияние на развитие костной патологии оказывают низкий уровень метаболитов витамина D, а также полиморфные варианты Bsm I, Folc I и Taq I гена рецептора витамина D [31, 97, 125, 193]. По последним полученным данным из ряда исследований витамин-D-обеспеченности населения различных стран у большинства респондентов выявлен гиповитаминоз витамина D [9, 118, 123, 131, 133, 136, 142, 160].

Исследователями была проведена и доказана связь между недостаточным обеспечением популяции витамином D и частотой инфекционных заболеваний дыхательной системы. Учеными была проведена оценка орального применения витамина D для профилактики инфекционных поражений дыхательных путей и отмечена положительная динамика [8, 143, 149, 189]. Однако, все также недостаточно выяснен генетический полиморфизм рецептора витамина D, в частности, при рахите, следовательно, необходимо исследовать мутации генов рецептора витамина D и их влияние на клинические проявления, а также тактику ведения и лечения детей с рахитом.

Широкое распространение рецепторов витамина D определяет их роль в регуляции функциональных особенностей систем [37, 38, 39, 52, 55]. Так исследователями представлены данные об их участии в секреции инсулина, работе кардиомиоцитов, мышечных волокон, нейронов, лимфоцитов [18, 82, 147, 164, 194].

В литературе представлены исследования, описывающие механизмы воздействия витамина D на сердечно-сосудистую систему и на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему [60, 62, 107, 143, 194]. Рецепторы витамина D преимущественно расположены в кардиомиоцитах, эндотелии, гладкомышечной ткани [93, 128], а метаболит витамина D - кальцитриол участвует в регуляции сократительной функции миокарда [65, 151, 180].

Доказано участие метаболитов витамина D в работе иммунной системы, так определена их роль в активации фагоцитоза, стимуляции выработки антимикробных тел, клеточной пролиферации [8, 107, 127, 194]. Также зарегистрирован синтез гормонально-активной формы витамина D иммуннокомпетентными клетками [1, 89, 93].

Проведенное S.M. Vanajeh (2009) исследование подтвердило теорию об улучшении качества жизни у пациентов с частыми инфекциями дыхательных путей, принимающих витамин D [126]. Все Пациенты были разделены на 2 группы, одна из которых, в дальнейшем, получала витамин D, другая плацебо. В начале исследования был определен уровень кальцидиола в обеих группах. После проведенной терапии, повторно было произведено определение содержания кальцидиола в сыворотке крови, результат показал, что увеличение содержания метаболита витамина D улучшает самочувствие пациентов и снижает риск частых заболеваний дыхательных путей [126]. А.Н. Власова и соавторы (2014) показали положительное влияние витамина D у часто болеющих детей [8]. Исследовательская группа P. Bergman и соавторы (2015) изучали влияние витамина D на состояние пациентов с частыми инфекциями

дыхательных путей. Они отметили улучшение состояния пациентов данной группы на фоне приема витамина D [196].

Изучение изменения D-витаминного статуса происходит с целью профилактирования появления данного состояния и исключения риска развития осложнений в дальнейшем [188]. В основном такие исследования проходили со включением в группы детей и женщин в постменопаузе, однако, имеются данные и о выявлении изменений в группах пациентов фертильного возраста [118, 169, 191]. В основном такие исследования проходили со включением в группы детей и женщин в постменопаузе, однако, имеются данные и о выявлении изменений в группах пациентов фертильного возраста Согласно Национальной программе «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» диагностировать недостаточность витамина D можно при уровне кальцидиола в сыворотке крови менее 75 нмоль/л, а дефицит при уровне содержания метаболита ниже 20 нмоль/л) [63].

Таким образом, витамин D по современным представлениям является гормоном, регулирующим практически все виды обмена веществ в связи с чем изучение его влияний на организм человека является важным для понимания патогенеза многих болезней, в том числе, и рахита.

## **1.2. Современные представления о рахите**

В настоящее время большое количество работ посвящено этиологии, патогенезу, клиническим проявлениям и последствиям рахита, возникающим в старшем возрасте. Однако рахит все еще остается не достаточно изученным. Рахит вызывает костные изменения, приводя к нарушению минерального обмена и вызывая ухудшение течения фоновых заболеваний [83]. Именно в возрасте первых 3-х лет обмен веществ в организме ребенка несовершенен, что вызвано интенсивным ростом и повышенной потребностью в минеральных

веществах [53, 140]. Также, несовершенство обмена веществ связано с незрелостью ферментативных систем, что приводит к нарушению всасывания ионов кальция и фосфора [4, 176]. Наряду с этим, влияние на развитие рахита оказывают экзогенные факторы: во время прогулок большая поверхность тела ребенка укрыта от попадания на кожу солнечных лучей, ранний перевод на искусственное либо смешанное вскармливание, ограничение двигательного режима ребенка (слишком тугое пеленание, отсутствие детского массажа и гимнастики, необходимость длительной иммобилизации при дисплазии тазобедренных суставов), прием некоторых лекарств (фенобарбитала, глюкокортикоидов) [146].

В связи с профилактическим применением витамина D и обогащением им продуктов питания детей практически исчез рахит тяжелой степени [74]. Перенесенный в детстве рахит оказывает патологическое действие на физическое и нервно-психическое развитие детей в дальнейшем [96]. У детей наблюдается нарушение осанки, возникает плоскостопие, деформация костей таза, чаще появляются заболевания зубов и даже нарушение зрения. Доказано влияние перенесенного в детстве рахита на минерализацию костей в отдаленном периоде [104, 163, 175].

Наряду с достаточным количеством работ по изучению рахита, не выявлено маркеров для наиболее ранней диагностики данного заболевания. Предполагается совершенствовать диагностику с помощью биохимического тестирования, которое поможет четко дифференцировать фазы заболевания на основе гомеостаза организма пациента [83].

Основным звеном патогенеза рахита считается недостаток витамина D и его метаболитов, таких как кальцитриол ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) – гормона, эндогенно синтезируемого из кальцидиола ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ) и  $\alpha$ -кальцидиола, являющегося предшественником кальцитриола. Активные метаболиты витамина D определяют минеральный состав костей и их структуру [41, 59, 144]. Однако, на основании проведенных исследований выявлено, что возникновению рахита

способствуют не только недостаток витамина D, кальция и фосфора, но также и недостаточное поступлении белка и незаменимых аминокислот [76, 173].

В старшем возрасте последствия перенесенного рахита и дефицит витамина D клинически проявляется мышечной гипотонией, размягчением трубчатых костей, а у взрослых – остеопорозом [76]. Кроме этого, перенесенный рахит, оказывает неблагоприятное влияние на нервно-психическое развитие детей. Впоследствии нарушения усвоения минералов у детей могут быть: нарушения вегетативной нервной системы и функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта [96]. Установлена связь перенесенного рахита с частыми инфекционным заболеваниями, в том числе респираторными инфекциями, из-за дисфункции иммунитета вследствие снижения уровня интерлейкинов, интерферона [85].

Особое внимание к витамин D-дефицитному рахиту вызвано широкой распространённостью и заболеваемостью детей в разных слоях населения, независимо от уровня дохода семьи [135]. Учитывая костные проявления, частота рахита в России колеблется от 1,6 до 35,0% [63]. Согласно результатам исследования РОДНИЧОК-1 среди детей, проживающих в крупных городах России, распространённость дефицита витамина D (оценка по содержанию 25(OH)D3) составляет чуть более 30%, недостаточности – 25%. Дефицит витамина D чаще встречается среди детей, проживающих в Сибирском и Дальневосточном округах, реже – среди детей из регионов центральной части России [67, 197].

Детям раннего возраста необходим дополнительный источник витамина D, так как, среди причин возникновения, выявляется: несбалансированное питание, преимущественно растительная диета, вскармливание неадаптированными смесями, поздние сроки введения прикормов, снижение активности движений (тугое пеленание, длительная иммобилизация), смуглая кожа, дерматологические заболевания, синдром мальабсорбции, хроническая патология почек и печени (происходит снижение интенсивности синтеза либо

повышенное разрушение 25(OH)D или 1,25(OH)D, желчевыводящих путей (билиарная обструкция), целиакия, нарушение работы поджелудочной железы (кистозный фиброз), прием некоторых лекарственных препаратов (рифампицин, изониазид, противосудорожные препараты), также страдает эндогенный путь поступления витамина D за счет дефицита инсоляции [104].

Данный факт требует широкого проведения превентивной работы среди родителей, с целью улучшения качества жизни маленьких пациентов, за счет прямой и непрямой профилактики гиповитаминоза D. Таким образом необходимо продолжить изучение патогенеза для обнаружения новых предрасполагающих к развитию рахита.

### 1.2.1. Патогенез витамин D-дефицитного рахита

Холекальциферол транспортируется к органам-мишеням посредством витамин D-связывающего белка [12]. Депо витамина D локализуется в жировой и мышечной тканях [197]. Большая часть холекальциферола транспортируется в печень, где происходит гидроксилирование и образуется метаболит – кальцидиол (25(OH)D<sub>3</sub>), который является основным показателем по уровню которого судят о недостаточности либо дефиците витамина D [63]. Из печени кальцидиол транспортируется с помощью D-связывающего белка в почки, там, в проксимальных извитых канальцах происходит трансформация до кальцитриола (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) или альтернативного метаболита 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> [12]. Кальцитриол поддерживает постоянство уровня кальция в сыворотке крови путем реабсорбции микроэлемента в почках и вымывания кальция из костной ткани. Катализатором для кальцитриола является α-1-гидроксилаза [148]. При повышении концентрации фосфора и кальция в сыворотке крови увеличивается содержание 24-гидроксилазы [129], под действием которой образуется другой метаболит 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, способствующий осаждению ионов кальция и фосфора в костную ткань. Между концентрациями витамина D

и кальцитриола возникает прямая зависимость – при снижении концентрации витамина D уменьшается и синтез кальцитриола, вследствие чего абсорбция кальция в кишечнике снижается [17]. Снижение уровня кальция активирует синтез паратиреоидного гормона, тем самым усиливается деградация костной ткани, происходит всасывание кальция в почках для поддержания оптимальной концентрации кальция в сыворотке крови, увеличивается экскреция фосфатов [192]. Паратиреоидный гормон активирует синтез  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  в почках из-за усиления всасывания кальция в кишечнике, при этом снижается и образование кальцитриола [56]. На основании недостаточно изученного патогенеза рахита, а именно влияния пептидов на фосфорно-кальциевый обмен, необходимо более тщательное изучение патогенеза для разработки профилактических и лечебных мероприятий.

### **1.2.2. Классификация и диагностика D-дефицитного рахита**

Длительное время педиатры использовали классификацию, предложенную С.О. Дулицким и принятую в 1947 году на VI Всесоюзном съезде детских врачей. В 1988 году Е.М. Лукьянова и соавторы внесли дополнения в уже принятую классификацию, выделив три клинических варианта течения рахита с учётом ведущего минерального дефицита (кальцийпенический, фосфоропенический, без отклонений в содержании кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови) [75]. В 2018 г. на основании Национальной программы «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» (табл. 1) решено не выделять начальный период заболевания в связи с отсутствием костных изменений, а также варианты с минеральным дефицитом [63].

Таблица 1

## Классификация рахита [63]

Степень тяжести	Период заболевания	Течение
Рахит легкий – I степень	Разгар	Острое
Рахит среднетяжелый – II степень	Реконвалесценция,	Подострое
Рахит тяжелый – III степень	Остаточных явлений	

Клиника рахита известна и зависит от степени тяжести заболевания. По современным представлениям, для диагностики легкой степени рахита изменения со стороны костной системы являются обязательными, чего не отмечалось в более ранних изданиях [63]. Выявление только симптомов вегетативной дисфункции (потливость, красный стойкий дермографизм, беспокойство) не является основанием для диагноза [56].

Чаще всего впервые клинически рахит проявляется у доношенных детей со 2-го месяца жизни. У недоношенных детей клинические признаки обнаруживаются раньше (с конца 1-го месяца жизни) [75, 81]. Рахит является полисистемным заболеванием, при котором происходит поражение многих систем организма: нервной, мышечной, иммунной, сердечно-сосудистой, эндокринной систем, повышается риск онкопатологий, аутоиммунных и воспалительных заболеваний [107, 108].

При рахите со стороны костей черепа появляются следующие симптомы: размягчение затылочной, теменной костей, размягчение краев большого родничка, появление лобных и теменных бугров. При рахите в нижней части грудной клетки формируется Гаррисонова борозда, происходит формирование «куриной груди» или «груди сапожника», на ребрах появляются рахитические «чётки», наблюдается деформация ключиц [98]. Со стороны позвоночника происходят изменения физиологических изгибов, проявляющиеся кифозом или сколиозом грудного и поясничного отделов. В области запястья появляются «браслеты», «нити жемчуга» на пальцах, происходит деформация нижних

конечностей по типу О- или Х- образных, формируется плоскостопие, вследствие нарушения роста трубчатых костей появляется разная длина конечностей, уплощение таза, а также сужение входа в малый таз, что в будущем может повлиять на детородную функцию у девочек, наблюдаются поздние сроки прорезывания зубов, как молочных, так и постоянных [87].

Со стороны мышечной системы при рахите появляется гипотония мышц, слабость связочного аппарата, вследствие чего больной может делать движения большего объема по типу «переразгибания», слабость мышц передней брюшной стенки проявляется «лягушачьим животом» и частыми проявлениями грыж белой линии живота, атония мышц кишечника приводит к задержке стула и далее к запорам [56]. Также вследствие гипотонии мышц и нарушения костно-мышечной системы грудной клетки появляются расстройства дыхания, которые могут явиться предрасполагающими факторами для развития пневмоний, затяжных бронхитов, а также появлению ателектазов [104].

Поражение нервной системы проявляется нарушением сна, потливостью, едкий пот раздражает кожу и вызывает зуд и облысение затылка, возникает двигательная заторможенность, у ребенка появляется малоподвижность, беспокойство. Дети отстают в развитии от сверстников – позже начинают удерживать голову, сидеть без поддержки, самостоятельно стоять и ходить [96, 168].

Диагностика рахита основана на клинической картине, изменении биохимических показателей крови: изменениях концентраций кальция и фосфора (в зависимости от периода заболевания); активности щелочной фосфатазы; изменение уровней кальцидиола (ниже 20 нг/мл) и кальцитриола (ниже 10 пг/мл), денситометрии: определение минеральной плотности костной ткани [63]. Концентрация кальция в крови у здоровых детей составляет 2,25-2,85 ммоль/л, а фосфора – 1,29-2,26 ммоль/л. Нормальным соотношением кальция к фосфору является 2:1 [140]. Дети с тяжелой степенью рахита должны быть обследованы на наличие генетически детерминированных форм [108].

Витамин D становится биологически активен только после превращения в 25(OH)D в печени или в канальцах почек в 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, который является конечным и самым активным метаболитом витамина D, а по специфике своего действия приравнивается к гормонам [70]. По современным представлениям, 1,25(OH)<sub>2</sub>D более активен в сравнении с 25(OH)D [200]. Более значимым в диагностике рахита является определение уровня 25(OH)D [112, 162], в связи с длительностью циркуляции метаболита в крови и его невысокой активностью, время его нахождения составляет 21 сутки, тогда как период полужизни 1,25(OH)<sub>2</sub>D составляет всего 3-6 суток [93].

В зависимости от возраста возникновения симптомов, рахит необходимо дифференцировать с витамин-D-резистентным рахитом (фосфатдиабет) [183], синдромом де Тони-Дебре-Фанкони [47, 53, 184], почечным тубулярным (канальцевым) ацидозом [25, 46], несовершенным остеогенезом [100, 115], хондродистрофией [11].

Таким образом, хорошо изучена дифференциальная диагностика рахита с другими заболеваниями, определены уровни некоторых маркеров минерализации костной ткани, но не все из них достаточно изучены. Генетическая диагностика предрасположенности к рахиту мало изучена, что послужило основой данного исследования.

### **1.3. Маркеры метаболизма костной ткани**

Кость является одним из видов соединительной ткани. Как и все соединительные ткани, она состоит из клеток и внеклеточного матрикса, образованного коллагеновыми волокнами и неколлагеновыми белками [101]. Клетками-регуляторами в процессе остеогенеза выступают остеокласты и остеобласты. Они поддерживают постоянный уровень минеральных веществ, участвующих в моделировании и ремоделировании костной ткани. Остеобласты вырабатывают новый строительный материал - коллаген и протеины, создавая

матрикс кости [58, 88]. Помимо этого остеобласты участвуют в процессе минерализации, связывая кальций во внеклеточном пространстве [58, 103].

Функция остеокластов заключается в разрушении старой костной ткани с помощью протеолитических ферментов [46]. Таким образом, остеокласты разрушают костную ткань, а остеобласты заполняют получившиеся полости коллагеновыми волокнами. Процессы ремоделирования костной ткани протекают в организме постоянно для обеспечения оптимального развития костно-суставной системы [58, 115].

Важнейшим компонентом костной ткани является межклеточный матрикс - уникальный комплекс органических и неорганических компонентов, заполняющих пространство между клетками. В его состав входят коллаген, минеральные вещества, ионы калия, натрия, магния [23, 73]. Минерализованный матрикс костной ткани поддерживает структуру скелета и под влиянием остеобластов и остеокластов обеспечивает резервуар как ионов, так и факторов роста, которые высвобождаются в процессе метаболизма [58, 109].

### **1.3.1. Маркеры резорбции костной ткани**

Заболевания костной ткани характеризуются изменениями в биохимическом составе крови. Процесс метаболизма костной ткани на протяжении всей жизни человека является следствием взаимодействия между остеобластами и остеокластами. Остеобласты выступают клетками формирования новой костной ткани, при этом остеокласты разрушают старую. Для большинства заболеваний костной системы характерны изменения уровней маркеров резорбции в сыворотке крови - к ним относят С-концевой телопептид коллагена I типа, кислую фосфатазу, деоксипиридинолин. С-концевой телопептид коллагена I типа является продуктом деградации коллагена I типа. Нарастание его концентрации в сыворотке крови можно обнаружить при

остеолизисе, новообразованиях легких, щитовидной железы, костей, ревматоидном артрите [86]. Выведение С-концевого телопептида коллагена I типа из организма осуществляется с помощью почек и при нарушении их экскреторной функции, вследствие заболевания, происходит накопление маркера в сыворотке крови и моче. Определение уровня фермента можно использовать для наблюдения за динамикой состояния костной ткани в процессе лечения пациента. Снижение концентрации наблюдается ко 2-3 месяцам лечения, при этом денситометрия может выявить положительные изменения только через 12-18 месяцев от начала терапии [122].

Кислая костная фосфатаза является ферментом, ускоряющим процесс распада молекул в организме человека. Считается, что повышение ее активности происходит при патологии костной ткани, сопровождающейся метаболическими нарушениями и при онкологических заболеваниях. На изменение концентрации фермента оказывают влияние заболевания щитовидной и паращитовидной желез. Выявлена связь между уровнем гормонов кальцитонина, ПТГ и содержанием кислой фосфатазы - кальцитонин подавляет образование фермента, а паратиреоидный гормон способствует нарастанию его концентрации [72].

Маркеры резорбции костной ткани можно использовать в качестве диагностического критерия контроля лечения пациентов с заболеваниями костной ткани и при онкологической патологии.

### **1.3.2. Маркеры формирования костной ткани**

Формирование костной ткани (остеогенез) — процесс, происходящий в организме человека на протяжении всей жизни. Оценить способность костной ткани к росту и развитию можно с помощью биохимических параметров в сыворотке крови. К ним относятся определение активности щелочной фосфатазы, пропептиды проколлагена I типа, остеокальцин. [33]. Маркеры

формирования кости являются продуктами деятельности остеобластов, они измеряются в сыворотке крови.

В кости щелочная фосфатаза секретируется остеобластами. Синтез костной щелочной фосфатазы возрастает в процессе дифференциации остеобластов при ускоренном формировании кости. Увеличение активности ЩФ отмечается при процессах остеοидной гиперплазии, когда наблюдается усиленная работа остеобластов — при травмах, переломах костей, рахите, гиперпаратиреозе, деформирующем остеоартрозе [35]. Одним из критериев постановки диагноза «рахит» является повышение активности ЩФ, наряду с этим изменения уровней кальция и фосфора обнаруживаются позднее. В стадии остаточных явлений высокая активность ЩФ сохраняется до момента восстановления матрикса костной ткани. Наиболее адекватными методами исследования костной щелочной фазы считаются радиоизотопные анализы с моноклональными антителами.

Остеокальцин - неколлагеновый кальций-связывающий белок, синтезируемый остеобластами и определяемый в сыворотке крови [33]. При заболеваниях костной системы уровень остеокальцина в сыворотке крови повышается. Изменение концентрации маркера в большую сторону может наблюдаться и при поражении почек, например при почечной недостаточности, когда происходит нарушение фильтрующей функции почек и фрагменты остеокальцина не выводятся из организма человека [69]. Определение уровня остеокальцина можно использовать для диагностики процессов моделирования и ремоделирования костной ткани. Наиболее точными методами подсчета содержания остеокальцина считаются радиоиммунный и иммуноферментный анализы с использованием антител [35].

### **1.3.3. Гормональная регуляция обмена кальция и фосфора**

Поддержание физиологического уровня кальция достигается путем функционирования системы, включающей паратиреоидный гормон,

кальцитонин и метаболиты витамина D [4, 61]. Паратиреоидный гормон (ПТГ) синтезируется околотитовидными железами в ответ на уменьшение внеклеточной концентрации кальция. Маркер оказывает влияние на клетки остеокласты, тем самым активируя выход из костной ткани в сосудистое русло кальция и фосфора. Интактный паратиреоидный гормон быстро расщепляется и образует несколько фрагментов. N-концевой фрагмент сохраняет полную биологическую активность и тоже быстро расщепляется в крови, C-концевые фрагменты обнаруживаются в крови пациента длительное время и в значительно большей концентрации. Все фрагменты и сам гормон выделяются почками. Концентрации паратиреоидного гормона и кальция в организме имеют обратную зависимость [78, 86]. Увеличение концентрации гормона в крови характерно для поражения эндокринной системы организма человека – щитовидных и паращитовидных желез. Низкий или нормальный уровень ПТГ при чрезвычайно высокой концентрации кальция в крови связан со злокачественной гиперкальциемией. [42]. У пациентов с поражением почек – при почечной недостаточности, в послеоперационном периоде после трансплантации почки могут наблюдаться повышение уровней кальция и паратиреоидного гормона в сыворотке крови [33].

Кальцитриол является наиболее активным метаболитом витамина D<sub>3</sub>. Он синтезируется в почках и активируя синтез фермента, отвечающего за всасывание кальция из просвета кишечника, регулирует его уровень в сыворотке крови [12, 31]. Определение уровня кальцитриола широко не используется, но должно применяться согласно стандартам обследования для проведения дифференциальной диагностики при гиперпаратиреозидизме, онкологических заболеваниях, для уточнения формы рахита – витамин-D-зависимый либо витамин-D-резистентный; при хронической почечной недостаточности и для оценки эффективности 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-терапии [107]. Концентрация метаболита поддерживается за счет поступлений кальция и

фосфора алиментарным путем, при этом сам кальцитриол участвует в регуляции уровня паратиреоидного гормона.

Кальцитонин – полипептидный гормон щитовидной железы. Участвует в регуляции уровня кальция в матриксе костной ткани путем захвата избыточного его количества из кровотока, снижает всасываемость фосфора в почках [68]. Определение уровня кальцитонина используют для диагностики новообразований щитовидной и паращитовидных желез. Следует учитывать, что при беременности, после парентерального введения кальций-содержащих препаратов уровень кальцитонина может незначительно повышаться [13].

Гормональная регуляция кальциево-фосфорного обмена хорошо изучена, известны данные о маркерах, участвующих в стимулировании и ингибировании всасывания кальция и реабсорбции фосфора.

#### **1.4. Полиморфизмы генов в патологии костной системы**

В настоящее время медицина идет по пути превентивной терапии - профилактика и своевременная диагностика являются залогом здорового человека. Поэтому это основные вопросы медицинского сообщества. Риск развития того или иного заболевания может быть предопределен с самого рождения пациента с помощью молекулярной генетики [15]. Это связано с тем, что заболевания человека в большей или меньшей степени связаны с особенностями наследственности. Заболевания могут быть следствием мутации одной аллели гена (доминантные), сочетания мутаций в двух аллелях: рецессивные и мультифакториального сочетания, так называемые полигенные заболевания [23]. Генетическим полиморфизмом считается разнообразие частот аллелей гомозигот. Различия между аллелями одного и того же гена, как правило, заключаются в незначительных вариациях его генетического кода. Большую долю в генетический полиморфизм вносят замены одного нуклеотида на другой и изменения числа повторяющихся фрагментов ДНК. Это вызвано

тем, что заболевания человека в большей или меньшей степени связаны с особенностями наследственности [78]. Практическое применение в медицине знаний о существовании «генов предрасположенности», мутантные аллели которые совместимы с нормальным жизнеобеспечением организма в постнатальном периоде, позволяет более точно осуществлять прогнозирование течения заболевания при неблагоприятных условиях. При правильном подходе к трактовке результатов молекулярного исследования возможно выявление не только генов, лежащих в основе наследственных заболеваний, но и генов предрасположенности к ним [40].

В ходе онтогенеза каскад генов последовательно включается в развитие тканей организма, обеспечивая процесс специализированной дифференцировки клеток и формирования органических структур [10].

Помимо изученных, известных наследственных и врожденных заболеваний костно-мышечной системы, рассматривается влияние предрасполагающих факторов на развитие рахита, в том числе и генетических. Показана связь минеральной плотности костной ткани с наличием различных аллельных вариантов генов витамина D и полиморфизмом в регуляторной области гена COL1A1. Аминокислотная структура основного структурного белка костной ткани, коллагена I типа, кодируется генами COL1A1 и COL1A2. Ассоциация полиморфизма Sp1 гена COL1A1 и риск возникновения переломов костной ткани изучалась и ранее. Однако имеющиеся данные свидетельствуют о противоречивости полученных результатов [51, 124]. По мнению большинства авторов, существует определенная зависимость между снижением минеральной плотности кости, остеопорозом и функциональным состоянием генов COL1A1 и VDR [5, 23]. Показана прямая корреляционная связь между аллелями TT TaqI rs731236 гена, кодирующего рецептор для витамина D (VDR), и наличием остеопороза. Указывается, что частота аллели T полиморфизма TaqI rs731236 гена VDR статистически значимо чаще встречается в группе у женщин с остеопатическими переломами, по сравнению со здоровыми женщинами [10].

В настоящее время в научном сообществе происходит активное изучение роли полиморфизма рецептора витамина D, так выявлена ассоциация между носительством аллельного варианта GG и аллели G и возникновением остеопороза у женщин в постменопаузе. Метаанализ L. Вао и соавторов показал, что генетический полиморфизм BsmI коррелирует с уровнем минеральной плотности кости у детей, в частности, аллель b (G) и генотип bb (GG) чаще наблюдались у детей с более высокой минеральной плотностью кости [125].

Одним из генов-кандидатов заболеваний костной ткани является ген TNFSF11, кодирующий белок RANKL. Их цитокинам принадлежит ключевая роль в формировании, дифференцировке и функционировании остеокластов [48]. Выявлено несколько мутаций гена TNFSF11, одной из которых является полиморфизм rs9594738 (C>T). К настоящему времени выполнен ряд исследований, направленных на изучение роли данного полиморфизма, в формировании патологий костной системы [16, 35, 130, 171].

Таким образом, общие представления о роли генетических факторов в патогенезе рахита убедительны, но остается достаточно вопросов относительно вклада конкретных генов, регулирующих рост и развитие костной системы. Поиск генетических маркеров молекул, влияющих на возникновение и особенности течения рахита, представляет теоретический и практический интерес в педиатрии, терапии, геронтологии. Дальнейшее изучение патофизиологической роли генетических факторов рецепторов витамина D и коллагена позволит существенно расширить представления о патогенезе рахита и сопутствующих ему заболеваний.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Общая характеристика обследованных групп

В работе соблюдены принципы Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association of Helsinki, 1964, редактированная в октябре 2013 г на 64-ой Генеральной Ассамблее ВМАЮ, Форталеза, Бразилия) и «Правила клинической практики Российской Федерации», утвержденными приказами Минздравом РФ от 19.03.2003 г. №266. Диссертационное исследование прошло экспертизу локального этического комитета при ФГБОУ ВО Читинской государственной медицинской академии от 06.11.2015 г. протокол № 74.

Обследование детей проводилось в ГУЗ «Детский клинический медицинский центр. Поликлиническое подразделение № 3» г. Читы в период с января 2015 года по июнь 2017 года, главный врач - к.м.н. И.В. Нардина. Исследование генетических полиморфизмов и биохимических показателей проведено в НИИ молекулярной медицины (директор - доктор медицинских наук, профессор Ю.А. Витковский) ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (ректор – заслуженный врач России, д.м.н., профессор А.В. Говорин).

Данная работа является одномоментным контролируемым клиническим сравнительным исследованием по типу случай-контроль. Проведено обследование 108 детей в возрасте от 3 месяцев до 2 лет, получавших профилактическую дозу (500МЕ) витамина D, в виде водного раствора (рис. 1).



**Рисунок 1. Дизайн исследования.**

Объективный статус включал оценку антропометрических данных (длины и массы тела, окружностей головы и груди) по центильным таблицам ВОЗ (2005). Нервно-психическое развитие оценивалось по таблицам Э.Л. Фрухт и Н.М. Щелованова (для детей до 1 года), и Н.М. Аксарина, Г.В. Пантюхина, К.Л. Печора (для детей старше 1 года).

Верификация диагноза «рахит» была проведена на основании клинико-анамнестических данных, согласно классификации С.О. Дулицкого 1947 года, с изменениями 2018 года [63]. Родители пациентов информировались о цели и задачах работы получением письменного согласия на проведение диагностических мероприятий их детям.

#### **Критерии включения в группу детей с рахитом:**

Доношенные дети в возрасте от 3 месяцев до 2 лет с манифестацией клинических признаков рахита (деформации грудной клетки, черепа, нижних конечностей, мышечная гипотония) [25].

#### **Критерии включения в группу контроля:**

Доношенные дети в возрасте от 3 месяцев до 2 лет без клинических и лабораторных признаков рахита соответствующего пола [25].

**Критерии исключения:**

Дети в возрастной категории младше 3 месяцев и старше 2 лет, от матерей употребляющих психоактивные препараты, алкоголь, из социально-неблагоприятных условий, младенцы с пороками развития, с внутриутробной инфекцией, от многоплодной беременности, недоношенные, страдающие заболеваниями почек, печени, желудочно-кишечного тракта, с синдромом мальабсорбции, поражением кожных покровов, нарушением функции щитовидной и паращитовидных желез, гипотрофией, принимающие глюкокортикоиды, гепарин, противосудорожные препараты, фуросемид, фосфаты, магний, антациды, на основе алюминия [25].

В целях соблюдения этических норм научного исследования проводился анализ внутриэтнической выборки, межрасовое сравнение не проводилось.

Все дети из группы с рахитом были из социально-адаптированных семей. Средний возраст пациентов с острым течением  $7,9 \pm 4,6$  месяцев, с подострым -  $10,1 \pm 4,7$  месяцев. Все обследованные дети из группы контроля родились доношенными, с массой при рождении по IV-V центильным коридорам. На момент осмотра дети не имели других острых, либо хронических заболеваний. Дети с острым течением рахита легкой степени имели поражения со стороны костной системы (100%). Дисфункция центральной и вегетативной нервной систем наблюдались у всех детей данной группы (100%), нервно-психическое развитие у всех обследованных детей с острым течением легкой степенью тяжести соответствовало возрасту. Мышечный тонус умеренно снижен в конечностях у всех пациентов, запоры преобладали у 72% детей.

Пациенты из подгруппы с острым течением средней степени тяжести рахита имели нарушения со стороны костно-суставной системы, имеющие следующие клинические проявления – краниотабес у всех детей данной группы

(100%), а также задержка сроков прорезывания зубов (76% пациентов). Со стороны нервной системы были отмечены быстрая утомляемость, сонливость, потливость головы, шеи, тела, красный дермографизм у всех детей, у 18% отмечались симптомы задержки нервно-психического развития. У всех детей данной группы определено снижение мышечного тонуса в конечностях, гипотония мышц передней брюшной стенки у 89% пациентов, запоры у 84% детей.

**Все пациенты подгруппы рахита с подострым течением легкой степенью тяжести** имели поражение костно-суставной системы в виде гиперплазии лобных и затылочных бугров, выбухание надбровных дуг отмечено у 58% детей. Со стороны нервной системы все пациенты группы обладали выраженным беспокойством, потливостью головы, в особенности затылочной части, а также стойким красным дермографизмом, задержка нервно-психического развития отмечалась у 30% пациентов. Мышечный тонус снижен в конечностях у всех пациентов, запоры преобладали у 90% детей.

Симптомами остеоидной гиперплазии характеризовалось поражение костно-суставной системы у **пациентов с подострым течением средней степенью тяжести рахита**. Они проявлялись уплощением затылочной части головы у 100% детей, выбуханием лобных, затылочных бугров у 84%, рахитическими четками у 36%, а также варусной деформацией костей нижних конечностей у 33% детей и задержкой сроков прорезывания зубов у 78%. Поражение нервной системы характеризовалось симптомами ее угнетения. Вялость, сонливость, быстрая утомляемость, нарушение сна, выраженная потливость головы, шеи, тела, стойкий красный дермографизм выявлены у всех детей данной группы. Также отмечалась задержка темпов нервно-психического развития у 67% младенцев. Снижение мышечного тонуса в конечностях зарегистрировано у всех детей, гипотония мышц передней брюшной стенки отмечена у 90% пациентов, запорами страдали 92% детей.

При дифференцировке по течению рахита, группы исследуемых распределялись с одинаковой частотой как острого течения (46%), так и подострого (54%).

**Группу контроля** составили дети из социально-адаптированных семей, сопоставимые по полу и возрасту с исследуемыми клиническими группами. Средний возраст пациентов группы контроля  $10,50 \pm 5,40$  месяцев. В антенатальном периоде у 40% матерей наблюдались ХФПН, ХВУГП, анемия легкой степени тяжести. Все обследованные дети из группы контроля родились доношенными, с массой при рождении по IV-V центильным коридорам. Физическое и нервно-психическое развитие в дальнейшем соответствовало эпикризным срокам. На момент осмотра дети не имели острых либо хронических заболеваний, наблюдались по I группе здоровья. 32% детей группы контроля находились на искусственном вскармливании адаптированными смесями, 68% детей – на естественном, прикормы вводились по возрасту. Диета и режим питания кормящими матерями соблюдались. Все дети ежедневно получали профилактическую дозировку водного раствора витамина D - 1 каплю (500 ME) с 21 дня жизни. На момент осмотра законные представители ребенка жалоб не предъявляли. Со стороны костной системы не наблюдалось патологических проявлений - форма черепа во всех случаях правильная, швы и края родничков плотные, грудная клетка не деформирована, форма нижних конечностей правильная. Мышечный тонус сохранен S=D. Живот правильной округлой формы. Физическое развитие соответствовало возрасту, во всех случаях среднее, гармоничное, мезасоматотип. Нервно-психическое развитие соответствовало I группе.

## 2.2. Лабораторные методы исследования

### 2.2.1. Определение уровня маркеров метаболизма костной ткани

Содержание гормонов (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, кальцитонина, интактного паратиреоидного гормона), пептидов (остеопротегерина, С-концевого телопептида коллагена I типа, остеокальцина), ферментов клеточного метаболизма (кислой и щелочной фосфатаз), а также микроэлементов сыворотки крови (кальция и фосфора) исследовалось в сыворотке крови у детей. Забор крови проводился с помощью пункции периферической вены, в объеме 4 мл. Для минимизации травматичности забор крови проводился параллельно с биохимическим обследованием, назначенным врачом по клинической ситуации. Для забора использовались пробирки BD Vacutainer с активатором свертывания крови. Доставка проб в лабораторию для исследования проводилось в термоконтейнере, в течение 2 часов с момента забора крови.

Исследование биохимических показателей осуществлялось методом ИФА. Уровень остеопротегерина (ОПГ) определялся набором RayBio (США), который представляет собой иммуносорбентный анализ для количественного измерения человеческого остеопротегерина в сыворотке крови. С-концевой телопептид коллагена I типа (CrossLaps) подсчитывался реагентами теста SEA892Hu 96 Tests Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Beta-Crosslaps (bCTX) (США). Это метод конкурентного ингибирования ферментативного иммуноанализа для количественного измерения *in vitro* bCTX в человеческой сыворотке, плазме, моче, гомогенатах тканей, клеточных лизатах, клеточных культурах и других биологических жидкостей [178].

Для определения концентрации кальцитонина проводилось иммуноферментное исследование с использованием набора ELISA Kit кальцитонина человека Biolabs, разработанный для обнаружения и количественного определения кальцитонина человека [158].

Количественное содержание остеокальцина было подсчитано с помощью Иммуноанализа Quantikine Human Osteocalcin. Паратиреоидный гормон (ПТГ) подсчитан с помощью набора для количественного определения концентрации интактного паратиреоидного гормона Access Intact PTH (США) [120, 155, 167].

Концентрация кальция (Ca) определена колориметрическим методом набором Кальций-Витал (Россия); фосфора (P) - фотометрическим УФ-тестом (Россия); щелочной фосфатазы (ЩФ) - оптимизированным кинетическим методом (Россия). Содержание кислой фосфатазы (КФ) было определено набором реагентов для биохимических исследований производства Human GmbH (Германия). Набор IDIA 1,25-дигидроксивитамин D EIA является полной аналитической системой для очистки 1,25D образца пациента образца путем иммуноэкстракции с последующим количественным определением по ОВОС, использован для количественного определения кальцитриола [120, 150, 156, 157].

Для проведения твердофазного иммуноферментного анализа использовалось следующее оборудование: шейкер-термостат «Elmi ST-3» (Латвия), автоматический вошер «Atlantis-4» (Великобритания) иммуноферментный анализатор «Expert 96» (Великобритания).

### 2.2.2. Определение полиморфизма генов

Для определения полиморфизма генов витамина D - VDR:283 A>G (BsmI) и VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], коллагена COL1A1: -1997 C>A и COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], а также генов остеопротегерина RANKL C>T [rs 9594738] и RANKL C>T [rs 9594759] был проведен забор крови из периферической локтевой вены в объеме 4 мл.

Для постановки полимеразной цепной реакции применяли комплекты реагентов для типирования одиночных нуклеотидных замен, с детекцией результатов в режиме реального времени: VDR:283 A>G (BsmI), VDR:2 A>G

(Lys2Arg) [FokI], COL1A1: -1997 C>A, COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s], RANKL C>T [rs 9594738], RANKL C>T [rs 9594759]. Производитель реагентов: «ООО НПО ДНК-Технология», г. Москва. Регистрация и учёт результатов ПЦР проводилось автоматически с помощью программного обеспечения для детектирующих амплификаторов.

### 2.3. Методы статистической обработки результатов исследования

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакетов программ Microsoft Excel 2010, STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Вариационные ряды тестировались на нормальность распределения при помощи методов асимметрии и эксцессов. Количественные результаты исследования описывались с использованием медианы с перцентильным отклонением [25-75] (Me и 25-75 перцентиль). Сравнение двух несвязанных групп проводили критерием Манна-Уитни (U-тест), значения уровня  $p < 0,05$  расценивались статистически значимыми.

Для оценки равновесия соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и для сравнений распределений частот генотипов и аллелей в исследованных группах использовался  $\chi^2$  (Пирсона). Об ассоциации изучаемых аллелей и генотипов с предрасположенностью к рахиту судили по величине относительного риска заболеваний (ОР) и отношение шансов (ОШ). Границы 95% доверительного интервала (CI) вычисляли методом В. Woolf. Корреляционный анализ проводился по методу ранговой корреляции Спирмена. Значение уровня  $p < 0,05$  считалось статистически значимым. Предсказания значений ряда зависимых переменных осуществлялось с помощью множественного регрессионного анализа. Независимыми предикторами считался набор биохимических и генетических факторов. Генетические факторы кодировались аддитивным принципом. В качестве предсказываемого показателя взята классификация

С.О.Дулицкого (1947) с правками, внесенными на основании Национальной программы «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» (2018) [63]. Рассмотрев полученные в ходе исследования данные, мы пришли к выводу, что 3 группа более тяжелая, поэтому мы решили ранжировать ее по нарастающей шкале.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Показатели метаболизма костной ткани в группах наблюдения

Хорошо известно, что течение рахита обусловлено снижением концентрации метаболитов витамина D, кальция, фосфора и повышением уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови. Учитывая это, нами были изучены некоторые показатели метаболизма костной ткани у детей с разными степенями и течением рахита. Показатели метаболизма представлены в таблицах 2 и 3. Установлено, что у детей с рахитом уровень кальцитриола был ниже среднего показателя детей контрольной группы. Наиболее низкое содержание зарегистрировано при подостром течении легкой степени тяжести. При сравнении групп попарно по течению заболевания, выявлено, что при остром течении концентрация  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  снижена при легкой степени на 20%, при подостром течении при легкой степени на 52% от уровня кальцитриола детей контрольной группы [32, 77, 79].

Во время проведения исследования нами был определен уровень ОПГ, увеличение концентрации показателя наблюдается при средне-тяжелой степени. Содержание гликопротеина повышалось при средне-тяжелой степени остром течении в 2 раза ( $p < 0,05$ ), в сравнении с группой контроля, и на 93% ( $p < 0,05$ ) выше при средне-тяжелой степени подостром течении. Уровень ОПГ повышен при легкой степени остром течении на 23% ( $p < 0,05$ ) и при легкой степени подостром течении на 67% [25, 77, 116, 179].

Таблица 2

**Биохимические показатели обмена костной ткани при рахите в зависимости от течения и степени рахита (Медиана [25; 75 центили])**

Показатель  1	Рахит n=68				Здоровые n=18  6
	Острое течение, n=32		Подострое течение, n=36		
	1 степень n=17	2 степень n=15	1 степень n=16	2 степень n=20	
	1 подгруппа	2 подгруппа	3 подгруппа	4 подгруппа	
	2	3	4	5	
ОПГ (пг/мл)	27,52 [24,29; 38,58]* p=0,046 p <sub>1-3</sub> =0,095 p <sub>1-2</sub> =0,019	44,82 [27,40; 77,50]* p=0,0025 p <sub>2-4</sub> =0,624	37,52 [27,10; 41,18]* p=0,0034 p <sub>3-4</sub> =0,682	43,4 [25,83; 57,7]* p=0,0028	22,35 [20,61; 23,8]
Beta Cross Laps (пг/мл)	0,49 [0,19; 0,67] p=0,062 p <sub>1-3</sub> =0,012 p <sub>1-2</sub> =0,0086	1,12 [0,56; 1,60]* p=0,035 p <sub>2-4</sub> =0,485	0,94 [0,45; 1,93]* p=0,040 p <sub>3-4</sub> =0,687	0,78 [0,23; 0,73] p=0,036	0,71 [0,47; 1,05]
Кальцитони н (пг/мл)	7,48 [3,84; 8,76]* p=0,0215 p <sub>1-3</sub> =0,112 p <sub>1-2</sub> =0,562	9,12 [8,55; 9,45] p=0,0612 p <sub>2-4</sub> =0,158	7,05 [4,18; 8,71]* p=0,018 p <sub>3-4</sub> =0,602	9,74 [8,88; 10,61] p=0,0810	10,09 [9,21; 10,52]
Остеокальц ин (пг/мл)	39,00[16,80; 44,30] p=0,069 p <sub>1-3</sub> =0,485 p <sub>1-2</sub> =0,171	42,00 [31,05; 46,60] p=0,120 p <sub>2-4</sub> =0,602	45,3 [30,45; 49,45]* p=0,0353 p <sub>3-4</sub> =0,379	50,7 [43,40; 57,50]* p=0,0082	36,0 [27,70; 43,20]

Таблица 2

**Биохимические показатели обмена костной ткани при рахите в зависимости от течения и степени рахита (Медиана [25; 75 центили]) (продолжение)**

1	2	3	4	5	6
КФ (Е/л)	4,91 [2,96; 8,98] p=0,0754 p <sub>1-3</sub> =0,431 p <sub>1-2</sub> =0,045	11,11 [6,3; 13,53]* p=0,0083 p <sub>2-4</sub> =0,032	6,02 [3,91; 8,49]* p=0,0096 p <sub>3-4</sub> =0,315	6,1 [1,22; 8,98]* p=0,0136	3,58 [1,36; 4,47]
ПТГ(пг/мл)	7,70 [5,90; 9,50]* p=0,0025 p <sub>1-3</sub> =0,173 p <sub>1-2</sub> =0,135	8,65 [5,20; 10,50]* p=0,0012 p <sub>2-4</sub> =0,0,69	5,95 [5,05; 7,22]* p=0,0301 p <sub>3-4</sub> =0,0502	9,10 [5,30; 11,40]* p=0,008	3,20 [1,50; 5,00]
1,25(ОН)2D3 (пмоль/л)	13,59 [7,73; 18,18]* p=0,0027 p <sub>1-3</sub> =0,248 p <sub>1-2</sub> =0,064	17,16 [14,05; 18,18]* p=0,035 p <sub>2-4</sub> =0,213	10,16 [3,39; 15,94]* p=0,019 p <sub>3-4</sub> =0,057	19,50 [17,69; 20,64] p=0,108	34,80 [28,20; 73,80]

Примечание: \* -  $p < 0,05$  - уровень значимости различий приведен по сравнению с группой контроля; p<sub>1-2</sub>; p<sub>1-3</sub>; p<sub>2-4</sub>; p<sub>3-4</sub> – уровень значимости различий между соответствующими подгруппами больных рахитом.

Установлено, что концентрация С-концевого телопептида коллагена I типа снижена лишь при легкой степени остром течении на 31% в отличии от группы здоровых детей [77]. Изменения носили статистически значимый характер при средней степени подостром течении ( $p=0,036$ ) и при подостром течении легкой степени тяжести ( $p=0,04$ ), чем в группе контроля. При сравнении групп попарно по степени тяжести и течению заболевания более

высокий показатель зарегистрирован при средней степени тяжести остром течении [30].

Анализируя данные биохимических показателей, мы выявили, что содержание кальцитонина незначительно снижалось в подгруппах детей с рахитом по сравнению со значениями в группе контроля. При легкой степени тяжести как при остром, так и подостром течениях, показатели имели статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) относительно группы контроля. В подгруппах со средней степенью тяжести при всех типах течения наблюдалось статистически незначимое снижение уровня кальцитонина в сравнении с уровнем маркера пациентов группы контроля [25, 27, 77].

Концентрация остеокальцина повышена во всех группах больных [27, 77]. Статистически значимыми можно считать увеличение концентрации при подостром течении. Так, у детей при легкой степени показатель выше уровня здоровых на 25%, что в среднем составляет 45,3 [30,45; 49,45] ( $p < 0,05$ ), а при средней степени тяжести – на 41% - 50,7 [43,40; 57,50] ( $p < 0,01$ ). Наряду с этим, при остром течении имеется тенденция к росту данного показателя, однако, не достигающая статистически значимой разницы. При сравнении концентрации показателя по течению и степени тяжести при подостром течении легкой степени тяжести содержание остеокальцина на 14% выше, чем при остром течении легкой степени тяжести, связь между признаками статистически не значима. Мы решили провести сравнительный анализ показателей при легкой степени тяжести. Выявлено преобладание концентрации при подостром течении на 19% ( $p > 0,05$ ) [77].

Активность КФ также повышена в сравнении с контрольной группой [77]. В 1 подгруппе на 37% и составляет 4,91 [2,96; 8,98] ( $p > 0,05$ ), во 2 подгруппе в 3,1 раза - 11,11 [6,3; 13,53] ( $p < 0,05$ ), в 3 и 4 подгруппах в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). При сравнении показателей в 3 подгруппе концентрация увеличена на 22% ( $p > 0,05$ ), чем в 1 подгруппе, а 2 подгруппа отлична по показателям от 4 на 82% ( $p > 0,05$ ).

ПТГ резорбирует костную ткань, является основным регулятором метаболизма. При остром течении отмечалось повышение концентрации в 2 раза ( $p < 0,05$ ) и составляло 7,70 [5,90; 9,50] и 8,65 [5,20; 10,50], соответственно. При сравнении показателей подострого течения рахита высокий уровень наблюдался в 4 подгруппе. В 3 подгруппе регистрировалось нарастание показателя в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) и составляло 8,65 [5,20; 10,50], в 4 подгруппе данный показатель был выше уровня здоровых в 2,8 раза - 9,10 [5,30; 11,40] ( $p < 0,05$ ) [26, 77].

Анализируя получение значения уровня кальция сыворотки крови (табл. 3) мы отметили, что его концентрация была ниже у всех пациентов с рахитом. Так при легкой степени остром течении уровень снижен на 13% ( $p < 0,05$ ), при подостром - на 26% ( $p < 0,05$ ). Оценивая значения кальция у пациентов со средней степенью тяжести рахита, мы получили меньшее значение показателя при остром течении на 24% ( $p < 0,01$ ) и при подостром на 42% ( $p < 0,01$ ). Мы провели сравнительный анализ концентрации кальция в подгруппах по степени тяжести, так, при легкой степени тяжести наблюдается более высокий уровень показателя при остром течении на 8% ( $p > 0,05$ ), при средней степени тяжести также при остром течении на 14% ( $p > 0,05$ ), разница показателей статистически не значима [77].

Таблица 3

## Биохимические показатели крови обследуемых детей

Показатель	Рахит n=68				Группа контроля n=18
	Острое течение n=32		Подострое течение n=36		
	1 степень n=17	2 степень n=15	1 степень n=16	2 степень n=20	
	1 подгруппа	2 подгруппа	3 подгруппа	4 подгруппа	
Кальций сыворотки (ммоль/л)	2,06 [2,01; 2,11] p=0,087 p <sub>1-3</sub> =0,344 p <sub>1-2</sub> =0,260	1,93 [1,89; 1,94]* p=0,0056 p <sub>2-4</sub> =0,625	1,90 [1,95; 2,02]* p=0,006 p <sub>3-4</sub> =0,485	1,69 [1,66; 1,71]* p=0,0042	2,40 [2,30; 2,47]
Фосфор сыворотки (ммоль/л)	1,07 [0,97; 1,09]* p=0,013 p <sub>1-3</sub> =0,352 p <sub>1-2</sub> =0,049	0,81 [0,73; 0,82]* p=0,027 p <sub>2-4</sub> =0,275	0,91 [0,86; 1,06]* p=0,008 p <sub>3-4</sub> =0,108	0,71 [0,69; 0,72]* p=0,012	1,47 [1,40; 1,50]
ЩФ (Е/л)	518,05 [498,50; 523,05]* p=0,048 p <sub>1-3</sub> =0,602 p <sub>1-2</sub> =0,158	722,10 [699,15; 726,70]* p=0,001 p <sub>2-4</sub> =0,562	577,45 [565,10; 603,00]* p=0,037 p <sub>3-4</sub> =0,379	698,35 [677,90; 725,67]* p=0,0024	202,90 [116,20; 290,60]

Примечание: \* -  $p < 0,05$  - уровень значимости различий приведен по сравнению с группой контроля,  $p_{1-2}$ ;  $p_{1-3}$ ;  $p_{2-4}$ ;  $p_{3-4}$  – уровень значимости различий между соответствующими подгруппами больных рахитом.

Наряду со снижением уровня кальция при рахите зарегистрировано снижение концентрации фосфора в сыворотке крови [77]. При остром течении легкой степени тяжести было отмечено снижение концентрации на 37%

( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы, при средней степени тяжести уровень снижен на 44% ( $p < 0,05$ ). При подостром течении легкой степени содержание фосфора на 39% ( $p < 0,05$ ) и при средней степени на 52% ( $p < 0,05$ ) относительно показателя здоровых детей.

Увеличение активности ЩФ свидетельствует о резорбции костной ткани. Ее концентрация повышена при I степени рахита в 2,5 ( $p < 0,05$ ) раза, а при II степени в 3 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация ЩФ в 3 подгруппе выше, чем в 1 подгруппе на 11%, разница между признаками статистически не значима, также не отличается активность фермента при подостром течении рахита [77].

Биохимический состав крови пациентов, больных рахитом характеризуется низким уровнем кальцитриола, кальцитонина, кальция и фосфора сыворотки крови, а также высокими показателями концентрации С-концевого телопептида коллагена I типа, остеокальцина, остеопротегерина, кислой и щелочной фосфатаз и паратиреоидного гормона [25, 26, 27, 30, 32, 77]. Нами отмечено, что наибольшее повышение ОПГ зарегистрировано при 2 степени течения рахита, как при остром, так и при подостром течении. Концентрация остеокальцина изменена в большую сторону во всех группах больных, наиболее высокие значения наблюдались при 2 степени, вне зависимости от течения заболевания. Активность КФ также возрастала в сравнении с контрольной группой. Повышена концентрация и уровня ПТГ в 2 и 1,7 раз у детей с рахитом. Тенденция к снижению концентрации кальцитриола, кальцитонина, кальция и фосфора наблюдается во всех группах детей с рахитом.

### 3.2. Исследование полиморфизмов генов метаболизма костной ткани

Анализируя результаты молекулярно-генетического исследования в клинических подгруппах по течению заболевания и группе здоровых пациентов мы установили, что дети с рахитом и здоровые существенно различались между собой по частоте генотипов (0,02), а также и аллелей (0,004) полиморфизма COL1A1: -1997 C>A (табл.4). При этом, среди больных рахитом с острым течением по сравнению с группой контроля чаще регистрировались генотипы CC и CA (OR= 2,059, 95%, CI: 0,595–7,121, p=0,249) и аллель C (OR= 3,0, 95%, CI: 0,894-10,064, p=0,068) [28, 29].

**Таблица 4**

**Распределение генотипов и частоты аллельных вариантов генов COL1A1: -1997 C>A среди детей с рахитом и группы контроля**

Генотипы и аллели	Частота вариации среди детей		P ( $\chi^2$ )
	Рахит, n=82	Группа контроля, n=26	
Генотип CC, n (%)	46 (56)	22 (84,6)	0,02 (7,43)*
Генотип CA, n (%)	28 (34,1)*	4 (15,4)	
Генотип AA, n (%)	8 (9,9)	0	
Аллель C, n (%)	74 (90,2)	26 (100)	0,004 (8,37)
Аллель A, n (%)	36 (43,9)	4 (15,4)	

Примечание: \* p<0,05 разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Анализ результатов в группах (табл. 4) показал, что дети - носители аллели A и генотипа AA (OR= 6,05, 95%, CI: 0,34-108,42, p=0,1) гена коллагена COL1A1: -1997 C>A среди пациентов с рахитом встречались статистически

значимо чаще, по сравнению со здоровыми детьми. Мутантный генотип (АА) в группе контроля не выделен.

При распределении генотипов и частоты аллельных вариантов COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] среди детей с рахитом и группы контроля (табл. 5), установлено значительное преобладание генотипа GG. Гетерозиготный мутантный аллель (GT) и гомозиготный мутантный аллель (TT) зарегистрирован в 29,3% и 2,4% случаев заболевания [28, 29].

**Таблица 5**

**Распределение аллельных вариантов гена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] среди детей с рахитом и группы контроля**

Генотипы и аллели гена коллагена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s]	Частота генотипов и аллелей полиморфизма среди детей		P ( $\chi^2$ )
	Рахит, n=82	Группа контроля, n=26	
Генотип GG, n (%)	56 (68,5)*	20 (77)	0,54 (0,38)
Генотип GT, n (%)	24 (29,3)	5 (19,2)	
Генотип TT, n (%)	2 (2,4)	1(3,8)	
Аллель G, n (%)	80 (83)	25 (87)	0,56 (0,38)
Аллель T, n (%)	26 (17)	6 (13)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Анализ результатов в группах по течению заболевания (табл. 6) показал, что дети с рахитом и здоровые существенно различались между собой по частоте генотипов (0,206), а также и аллелей (0,251) полиморфизма COL1A1: -1997 C>A. При этом, среди больных рахитом с острым течением по сравнению с группой контроля чаще регистрировались генотипы CC и CA (OR= 2,059, 95%, CI: 0,595–7,121,  $p=0,249$ ) и аллель C (OR= 3,0, 95%, CI: 0,894-10,064,  $p=0,068$ ).

Таблица 6

**Распределение аллельных вариантов гена COL1A1:-1997 C>A среди детей с рахитом и группы контроля в зависимости от течения рахита**

Генотипы и аллели гена COL1A1: -1997 C>A	Частота генотипов и аллелей полиморфизма -1997 C>A гена COL1A1 среди детей			P ( $\chi^2$ )
	Подострое течение рахита	Группа контроля		
Генотип CC, n (%)	18 (47,3)	28 (63,6)	14 (77,8)	0,206 (5,92)
Генотип CA, n (%)	16(42,1)*	12(27,3)	4 (22,2)	
Генотип AA, n (%)	4 (10,5)*	4 (9,1)*	0	
Аллель C, n (%)	34 (68)	40 (77)	18 (89)	0,251 (2,769)
Аллель A, n (%)	20 (32)*	16 (23)*	4 (11)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Генотип AA зарегистрирован в 10,5% случаев при остром течении (OR=4,83, 95%, CI: 0,25-94,62,  $p=0,02$ ). Среди больных с подострым течением генотип AA зарегистрирован в 9,1% (OR=2,64, 95%, CI: 0,785-8,931,  $p=0,109$ ).

При распределении генотипов и частоты аллельных вариантов COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] среди детей с рахитом и группы контроля в зависимости от течения рахита (табл. 7), установлено значительное преобладание генотипа GG, как при остром (66,7%), так и подостром (69,8%) течениях. Гетерозиготный мутантный генотип (GT) и гомозиготный мутантный генотип (TT) зарегистрированы в 30,7% и 2,6% случаев острого течения заболевания (OR=1,625, 95%, CI:0,447-5,911,  $p=0,459$ ). Число выявленных пациентов с генотипом GT статистически значимо выше, чем в группе контроля. Минорная аллель T выделена статистически значимо чаще в группе у пациентов с рахитом.

Таблица 7

**Распределение аллельных вариантов гена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] среди детей с рахитом и группы контроля в зависимости от течения рахита**

Генотипы и аллели гена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s]	Частота генотипов и аллелей полиморфизма -1997 C>A гена COL1A1 среди детей			P ( $\chi^2$ )
	Острое течение рахита	Подострое течение рахита	Группа контроля	
Генотип GG, n (%)	26 (66,7)	30 (69,8)	20 (75,8)	0,913 (0,984)
Генотип GT, n (%)	12 (30,7)*	12(28)*	5 (21,2)	
Генотип TT, n (%)	1 (2,6)	1 (2,2)	1 (3)	
Аллель G, n (%)	38 (82)	42 (84)	18 (87)	0,79 (0,460)
Аллель T, n (%)	13 (18)*	13 (16)*	4 (13)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

При анализе исследования в группах, разделенных по степени тяжести рахита и группе контроля (табл. 8), выявлена слабая связь как среди генотипов (0,206), так и аллелей (0,094) COL1A1: -1997 C>A, что говорит об их существенном различии в группах больных и здоровых детей. Среди пациентов с легкой степенью рахита почти в равных долях регистрировались генотипы CC и CA (OR=0,182, 95%, CI: 0,039-0,857,  $p=0,345$ ). Генотип AA зарегистрирован в 15,5 % случаев у 6 пациентов. При сравнении частот и аллелей при средне - тяжелой степени преобладал гомозиготный генотип CC - 67,4% ( $p=0,026$ ) (OR=2,333, 95%, CI: 0,678-8,025,  $p=0,172$ ).

Таблица 8

**Распределение аллельных вариантов полиморфизма -1997 С>А гена COL1A1 среди детей с рахитом и группы контроля в зависимости от степени тяжести рахита**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма -1997 С>А гена COL1A1 среди детей			Р ( $\chi^2$ )
	Легкая степень рахита	Средне-тяжелая степень рахита	Группа контроля	
Генотип СС, n (%)	17(43,5)	29(67,4)	14 (77,8)	0,206 (11,109) *
Генотип СА, n (%)	16(41)*	13(30,2)	4 (22,2)	
Генотип АА, n (%)	6(15,5)*	1(2,4)	0	
Аллель С, n (%)	33(64)	42 (83)	18 (89)	0,094 (4,742)
Аллель А, n (%)	28 (36)	28 (17)	20 (11)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Анализ результатов исследования гена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] в зависимости от степени тяжести рахита (табл. 9) в группах показал, что дети с рахитом и здоровые различались слабо между собой по частоте генотипов (0,710), а также и аллелей (0,647) полиморфизма. У больных чаще также регистрировались гомозиготные нормальные генотипы (GG) в 75% при легкой степени и 64,3% при средне-тяжелой степени.

Таблица 9

**Распределение аллельных вариантов полиморфизма COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] среди детей с рахитом и группы контроля в зависимости от степени тяжести рахита**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] среди детей			P ( $\chi^2$ )
	Легкая степень рахита	Средне-тяжелая степень рахита	Группа контроля	
Генотип GG, n (%)	30 (75)	27 (64,3)	20 (77)	0,710 (2,143)
Генотип GT, n (%)	9 (22,5)	14 (33,3)	5 (19,2)	
Генотип TT, n (%)	1 (2,5)	1 (2,4)	1(3,8)	
Аллель G, n (%)	39 (86)	41 (81)	25 (87)	0,647 (0,874)
Аллель T, n (%)	10 (14)	15(19)*	6 (13)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Нами выявлено, что дети - носители аллели A и генотипа AA гена коллагена COL1A1: -1997 C>A среди пациентов с рахитом встречались статистически значимо чаще, по сравнению с детьми, не имеющими признаки рахита. Так, при остром течении встречаемость аллели A в 5 раз выше в сравнении с группой контроля ( $\chi^2=2,018$ ,  $p < 0,05$ ), а при подостром течении в 4 раза ( $\chi^2=0,628$ ,  $p < 0,05$ ). При анализе результатов групп по степени тяжести, в сравнении с группой контроля, аллель A также встречалась значительно чаще, при легкой степени в 5 раз ( $p > 0,05$ ), при средне – тяжелой степени в 3 раза ( $\chi^2=0,367$ ,  $p < 0,05$ ). Гомозиготный мутантный генотип (AA) в группе контроля не выделен.

Носители аллели T, как и варианта гена коллагена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] встречались во всех группах пациентов, чаще регистрировался

при средней степени тяжести рахита. Во всех подгруппах отмечается соответствие наблюдаемых частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов COL1A1: -1997 C>A и COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] теоретически ожидаемым в соответствии с распределением по закону Харди-Вайнберга (табл. 10).

Таблица 10

**Частота генотипов полиморфизма COL1A1 у детей с рахитом**

Полиморфизм	Генотип, абс.число	Частота генотипа	HWE	$\chi^2$ (df=1), p
-1997 C>A	C/C-46	0,561	0,535	1,39 p=0,24
	C/A-28	0,341	0,393	
	A/A-8	0,098	0,072	
1546 (6252) G>T [Sp1 S>s]	G/G-26	0,6	0,58	0,09 p=0,76
	G/T-12	0,3	0,69	
	T/T-1	0,025	0,74	

Примечание:  $\chi^2$  (df=1). \*- отклонение от равновесия Харди-Вайнберга.

Аналогичных работ, по изучению влияния полиморфизма генов коллагена на развитие рахита проведено не было. Нами выявлен высокий риск развития события при появлении аллели А гена коллагена COL1A1: -1997 C>A в генотипе [28, 29].

Оценивая уровень С-концевого телопептида коллагена 1 типа мы выявили статистически значимое повышение уровня пептида при выделении генотипа АА гена COL1A1: -1997 C>A (табл.11).

Таблица 11

**Уровень С-концевого телопептида коллагена 1 типа в зависимости от распределения аллельных вариантов COL1A1: -1997 C>A**

Группа	C/C	C/A	A/A
Опытная группа, n=82	0,51 [0,29; 0,99]	0,31 [0,18; 0,48]	0,66 [0,29; 0,69]*
Контроль, n=26	0,70 [0,21; 1,21]	1,12 [ 0,73; 1,51]	0

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Таблица 12

**Уровень С-концевого телопептида коллагена 1 типа в зависимости от генотипов полиморфизма COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s]**

Группа	G/G	G/T	T/T
Опытная группа, n=82	0,7 [0,33; 1,66]	0,56 [0,15; 1,62]	1,09[0,88; 0,1,30]*
Контроль, n=26	0,98 [0,24; 1,66]	0,64 [ 0,57; 3,09]	0,76

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Ген рецептора витамина D играет наиболее важную роль в формировании заболеваний костной ткани. Одним из результатов исследования генов рецептора витамина D является определение плотности кости. Анализ результатов исследования гена VDR:283 A>G (BsmI) (табл. 13) в группах показал, что дети с рахитом и здоровые сильно различались между собой по частоте генотипов (0,42), но слабо по частоте аллелей (0,9) полиморфизма.

Таблица 13

**Распределение частот аллельных вариантов VDR:283 A>G (BsmI) среди детей с рахитом и группы контроля**

Генотипы и аллели	Частота аллельных вариантов 283 A>G (BsmI) гена VDR среди детей		P (x2)
	Рахит	Группа контроля	
AA, n (%)	7 (8,5)	4(15,4)	0,42 (1,71)
AG, n (%)	35 (42,7)	7(26,9)	
GG, n (%)	40 (48,8)	14 (57,7)	
A, n (%)	42 (30)	11(30)	0,9 (0,01)
G, n (%)	75 (70)	21(70)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Среди больных рахитом, чаще выделялись варианты гена AG и GG (OR=1,95, 95%, CI: 0,52–7,27,  $p=0,31$ ), аллельный вариант AA установлен в 8,5% случаев (OR= 0,51, 95%, CI: 0,14–1,92,  $p=0,31$ ) [79].

Таблица 14

**Распределение аллельных вариантов гена VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] среди детей с рахитом и группы контроля**

Генотипы и аллели	Частота аллельных вариантов 2 A>G (Lys2Arg) [FokI] гена VDR среди детей		P (x2)
	Рахит	Группа контроля	
AA, n (%)	28 (34,1)	4 (15,4)	0,19 (1,75)
AG, n (%)	37 (45,1)	16 (61,5)	
GG, n (%)	17 (20,8)	6 (23,1)	
A, n (%)	65 (57)	20 (46)	0,18 (1,77)
G, n (%)	54 (43)	22 (54)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

При статистической обработке данных полиморфизма VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], полученных в ходе исследования (табл. 14), было выявлено преобладание генотипов AA и AG у пациентов опытной группы (OR= 1,15 95%, CI: 0,40–3,30,  $p=0,07$ ). Мутантный генотип GG проявляется в 20,8 % случаев (OR= 0,87, 95%, CI: 0,30–2,51,  $p=0,07$ ) [79].

Нами выявлено, что носители мутантной аллели G гена VDR:283 A>G (BsmI) и аллели G гена VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] встречались во всех выделенных группах с рахитом, так же и в группе контроля. Отклонение от равновесия Харди – Вайнберга для полиморфизмов гена VDR:283 A>G (BsmI) и VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] не выявлено.

В изучаемых выборках статистически значимое снижение уровня 1,25(OH)2D3 (табл. 15, 16) выявлено в опытной группе при всех аллельных вариантах VDR:283 A>G (BsmI), а также аллельных вариантах GA и GG гена VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI].

Таблица 15

**Уровень 1,25(OH)2D3 в зависимости от распределения аллельных вариантов VDR:283 A>G (BsmI)**

Подгруппы	AA	GA	GG
Рахит, n=82	16,09 [10,2; 19,8]*	15,53 [10,45; 18,97]*	15,94 [7,63; 20,01]*
Контроль, n=26	92,77 [56,25; 111,83]	78,49 [36,33; 119,15]	99,39 [76,83; 120,17]

Примечание: \* -  $p < 0,05$  - значимость различий по сравнению с группой контроля.

Таблица 16

**Уровень 1,25(OH)2D3 в зависимости от распределения аллельных вариантов VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI]**

Группы	AA	GA	GG
Опытная группа, n=82	20,32 [14,58; 22,71]	17,08 [15,48; 19,35]*	16,0 [8,83; 18,18]*
Контроль, n=26	83,96 [60,49; 107,43]	83,43 [35,16; 115,82]	99,39 [73,69; 120,17]

Примечание: \* -  $p < 0,05$  - значимость различий по сравнению с группой контроля.

Анализ результатов исследования гена VDR:283 A>G (BsmI) в зависимости от течения рахита (табл. 17) в группах показал, что дети с рахитом и здоровые сильно различались между собой по частоте генотипов (0,377), но слабо по частоте аллелей (0,967) полиморфизма.

Таблица 17

**Распределение генотипов и частоты аллельных вариантов VDR:283 A>G (BsmI) среди детей с рахитом и группы контроля в зависимости от течения рахита**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма 283 A>G (BsmI) гена VDR среди детей			P ( $\chi^2$ )
	Острое течение рахита	Подострое течение рахита	Группа контроля	
AA, n (%)	2 (5,1)	5(11,4)	4(15,4)	0,377 (4,222)
AG, n (%)	19(50)	16(36,4)	7(26,9)	
GG, n (%)	17(44,9)	23(52,2)	14 (57,7)	
A, n (%)	21(36,8)	21(35)	11(34,4)	0,967 (0,069)
G, n (%)	36(63,2)	39(65)	21(65,6)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

У больных регистрировались гомозиготные нормальные генотипы (GG) в 44,9 при остром и 52,2% при подостром течении.

Среди больных с острым течением рахита, в сравнении с группой контроля, чаще регистрировались аллели AA и AG (OR=1,57, 95%, CI: 0,57–4,34,  $p=0,38$ ), минорная аллель GG установлена в 44,9% случаев (OR= 0,64, 95%, CI: 0,23–1,76,  $p=0,38$ ).

При подостром течении чаще регистрировалась минорная аллель GG в 52,2 % случаев (OR= 0,86, 95%, CI: 0,32–2,31,  $p=0,77$ ). В группе контроля аллель GG также была выявлена, что говорит о риске развития заболеваний костной системы.

Таблица 18

**Распределение генотипов и частоты аллельных вариантов VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] среди детей с рахитом и группы контроля в зависимости от течения рахита**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма 2 A>G (Lys2Arg) [FokI] гена VDR среди детей			P ( $\chi^2$ )
	Острое течение рахита	Подострое течение рахита	Группа контроля	
AA, n (%)	10 (26,3)	18 (40,9)	4(15,4)	0,088 (8,112)
AG, n (%)	22(57,9)	15(34)	16 (61,5)	
GG, n (%)	6 (15,8)	11 (25,1)	6 (23,1)	
A, n (%)	32 (53,3)	33 (55,9)	20(47,6)	0,708 (0,691)
G, n (%)	28 (46,7)	26 (44,1)	22 (52,4)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

При статистической обработке данных полиморфизма VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI], полученных в ходе исследования (табл. 18), было выявлено слабое различие как по частоте генотипов (0,088), так и аллелей (0,708) с преобладанием генотипов GG и AG (OR= 0,51, 95%, CI: 0,14–1,84,  $p=0,3$ ) [80]. Существует статистически значимая связь между признаками. Мутантный генотип GG проявляется в 15,8 % случаев (OR= 0,63, 95%, CI: 0,18–2,21,  $p=0,46$ ).

При подостром течении рахита, также регистрировалось преобладание генотипов GG и AG (OR= 0,26, 95%, CI: 0,08–0,89,  $p=0,03$ ). Мутантный генотип GG встречается в 25,1 % (OR=1,11, 95%, CI: 0,36–3,47,  $p=0,86$ ), а в группе контроля в 25,1% случаев. Нами выявлено, что носители мутантной аллели G гена VDR:283 A>G (BsmI), так и аллели G гена VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI]

встречались во всех выделенных группах с рахитом, так же и в группе контроля.

Анализ результатов исследования гена VDR:283 A>G (BsmI) в зависимости от степени тяжести рахита (табл. 19) в группах показал, что дети с рахитом и здоровые слабо различались между собой по частоте генотипов (0,925), так и аллелей (0,947) полиморфизма. У больных регистрировались гомозиготные мутантные генотипы (GG) в 24,3% при легкой (OR=1,35, 95%, CI: 0,40–4,53, p=0,62) и 26,8% при средне-тяжелой степени (OR=1,54, 95%, CI: 0,47–5,09, p=0,48).

**Таблица 19**

**Распределение аллельных вариантов VDR:283 A>G (BsmI) среди детей с рахитом и группы контроля в зависимости от степени тяжести рахита**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма 283 A>G (BsmI) гена VDR среди детей			P ( $\chi^2$ )
	Легкая степень рахита	Средне-тяжелая степень рахита	Группа контроля	
AA, n (%)	9 (22)	11 (26,8)	7(26,9)	0,925 (0,903)
AG, n (%)	22 (53,7)	19 (46,4)	14(53,8)	
GG, n (%)	10 (24,3)	11 (26,8)	5 (19,3)	
A, n (%)	31 (49,2)	30 (50)	21 (52,5)	0,947 (0,110)
G, n (%)	32 (50,8)	30(50)	19(47,5)	

Примечание: \* p<0,05 разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

У пациентов как с острым, так и подострым течением преобладали генотипы AA и AG (табл. 20). Мутантный генотип GG представлен в 2,5% случаев при остром течении и в 9% при подостром течении.

**Распределение генотипов и частоты аллельных вариантов VDR:2  
A>G (Lys2Arg) [FokI] среди детей с рахитом и группы контроля в  
зависимости от степени тяжести рахита**

Генотипы и аллели	Частота генотипов и аллелей полиморфизма 2 A>G (Lys2Arg) [FokI] гена VDR среди детей			P ( $\chi^2$ )
	Острое течение	Подострое течение	Группа контроля	
AA, n (%)	33 (82,5)	29 (65,9)	18 (69,2)	0,400 (4,047)
AG, n (%)	6 (15)	11 (25)	7 (26,9)	
GG, n (%)	1(2,5)	4(9)	1 (3,9)	
A, n (%)	39 (84,8)	38(55)	25 (75,8)	0,003 (12,300)
G, n (%)	7 (15,2)	31(45)	8 (24,2)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Нами выявлено, что носители мутантной аллели G гена VDR:283 A>G (BsmI), так и аллели G гена VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] встречались во всех выделенных группах с рахитом, так же и в группе контроля. Во всех подгруппах отмечается соответствие наблюдаемых частот генотипов и аллелей полиморфизмов гена VDR:283 A>G (BsmI) и VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] теоретически ожидаемым в соответствии с распределением по закону Харди-Вайнберга (табл. 21).

**Частота генотипов полиморфизма VDR у детей с рахитом в зависимости от течения заболевания**

Полиморфизм	Генотип, абс. число	Частота генотипа	HWE	$\chi^2$ (df=1), p
Острое течение				
VDR:283 A>G (BsmI)	A/A-2	0,053	0,092	1,29 p=0,26
	A/G-19	0,500	0,422	
	G/G-17	0,447	0,486	
VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI]	A/A-10	0,263	0,305	0,65 p=0,42
	A/G-22	0,579	0,494	
	G/G-6	0,158	0,200	
Подострое течение				
VDR:283 A>G (BsmI)	A/A-5	0,144	0,087	0,70 p=0,4
	A/G-16	0,364	0,416	
	G/G-23	0,523	0,496	
VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI]	A/A-18	0,409	0,336	3,97 p=0,05
	A/G-15	0,341	0,487	
	G/G-11	0,250	0,177	
Группа контроля				
VDR:283 A>G (BsmI)	A/A-4	0,160	0,090	2,78 p=0,1
	A/G-7	0,280	0,420	
	G/G-14	0,560	0,490	
VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI]	A/A-4	0,154	0,213	1,47 p=0,22
	A/G-16	0,615	0,497	
	G/G-6	0,231	0,290	

Примечание:  $\chi^2$  (df=1, df=2); \* - p<0,05

При оценке влияния гена VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] на уровень 1,25(OH)2D3 (табл. 22) было установлено снижение концентрации показателя у больных рахитом при всех генотипах, значительнее выраженное при выявлении генотипа GG в группах с острым течением.

Таблица 22

**Влияние полиморфизма VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] на уровень 1,25(OH)2D3**

Подгруппы	AA	GA	GG
1 подгруппа	21,75 [18,13; 23,38]*	13,5 [4,85; 17,57]*	8,29 [6,2; 8,83]*
2 подгруппа	-	17,93 [7,09; 19,15]	15,73 [13,98; 16,42]*
3 подгруппа	20,83 [14,44; 21,39]*	12,02 [3,39; 14,01]*	14,00 [9,52; 16,41]*
4 подгруппа	19,81 [14,61; 25,43]*	20,72 [19,50; 23,47]	19,7 [17,69; 20,67]*
Контроль	83,96 [60,49; 107,43]	83,43 [35,16; 115,82]	99,39 [73,69; 120,17]

Примечание: \* -  $p < 0,05$  - значимость различий по сравнению с группой контроля.

При оценивании влияния гена VDR:283 A>G (BsmI) на уровень 1,25(OH)2D3 (табл. 23) также выявлено снижение медианы при I степени рахита, а также при II степени генотипа GG и II степени подостром течении генотипа AA.

Таблица 23

## Влияние полиморфизма VDR:283 A&gt;G (BsmI) на уровень 1,25(OH)2D3

Подгруппы	GG	GA	AA
1 подгруппа	8,83[5,52; 18,75]*	10,89 [6,78; 15,42]*	9,31[6,00; 12,62]*
2 подгруппа	16,14 [7,41; 18,7]*	18,07 [11,76; 18,97]	-
3 подгруппа	11,11 [7,95; 16,91]*	15,02 [13,01; 16,85]*	-
4 подгруппа	20,4 [9,38; 21,14]*	19,20[18,18; 20,52]	16,24 [12,26; 18,63]*
Контроль	75,2 [32,18; 112,5]	37,02[32,29; 88,38]	92,79 [67,78; 120,17]

Примечание: \* -  $p < 0,05$  - значимость различий по сравнению с группой контроля.

Установлено, что обследованные дети существенно различались по частоте генотипов (0,083) полиморфизма RANKL C>T [rs 9594738] (табл. 24). При этом среди больных с острым течением рахита, в сравнении с группой контроля, чаще регистрировались генотипы CC и CT (OR= 1,90, 95%, CI: 0,59–6,14,  $p=0,28$ ), генотип TT также выявлен в 19% случаев (OR= 0,53, 95%, CI: 0,16–1,69,  $p=0,28$ ). При подостром течении также чаще определялись генотипы CC и CT (OR= 2,06, 95%, CI: 0,66–6,37,  $p=0,21$ ), аллель TT также установлена в 17,9% случаев (OR= 0,49, 95%, CI: 0,16–1,51,  $p=0,21$ ). В группе контроля генотип TT также был выявлен, что говорит о риске развития заболеваний костной системы на основании данных, полученных другими исследователями [35, 40, 49].

**Распределение аллельных вариантов RANKL C>T [rs 9594738] среди детей  
в зависимости от течения рахита**

Генотипы и аллели гена RANKL C>T [rs 9594738]	Частота аллельных вариантов полиморфизма C>T [rs 9594738] гена RANKL при рахите			P ( $\chi^2$ )
	Острое течение, n=37	Подострое течение, n=45	Группа контроля, n=26	
Генотип CC, n (%)	18(48,6)	11(24,4)	8(30,8)	0,083 (8,260)
Генотип CT, n (%)	12(32,4)	26(57,7)	10(38,4)	
Генотип TT, n (%)	7(19)	8(17,9)	8(30,8)	
Аллель С, n (%)	30(61,2)	37(52,1)	18(50)	0,509 (1,351)
Аллель Т, n (%)	19(38,8)	34(47,9)	18(50)	

Примечание: \* -  $p < 0,05$  - значимость различий по сравнению с группой контроля.

При статистической обработке данных полиморфизма RANKL C>T [rs 9594759], полученных в ходе исследования, было выявлено существенное различие как по частоте генотипов (0,163), так и аллелей (0,419) с преобладанием генотипов CC и CT (OR= 3,79, 95%, CI: 1,18–12,21,  $p=0,02$ ), существует статистически значимая связь между признаками, мутантная аллель TT проявляется в 42,3% случаев (OR= 0,26, 95%, CI: 0,08–0,85,  $p=0,02$ ) (табл. 25). При подостром течении рахита, также регистрировалось преобладание генотипов CC и CT (OR= 2,20, 95%, CI: 0,78–6,19,  $p=0,13$ ), аллель TT также зарегистрирована в 19% случаев (OR= 0,45, 95%, CI: 0,16–1,28,  $p=0,13$ ).

**Распределение вариантов RANKL C>T [rs 9594759] среди детей в зависимости от течения рахита**

Генотипы и аллели гена RANKL C>T [rs 9594759]	Частота генотипов и аллелей полиморфизма C>T [rs 9594759] гена RANKL среди детей			P ( $\chi^2$ )
	Острое течение рахита, n=37	Подострое течение рахита, n=45	Группа контроля, n=26	
Генотип CC, n (%)	11(29,7)	8(18,2)	4(15,4)	0,163 (6,544)
Генотип CT, n (%)	20(54)	25(56,8)	11(42,3)	
Генотип TT, n (%)	6(16,3)	11(25)	11(42,3)	
Аллель С, n (%)	31(54,4)	33(47,8)	15(40,5)	0,419 (1,742)
Аллель Т, n (%)	26(45,6)	36(52,2)	22(59,5)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Нами выявлено, что носители мутантной аллели Т, как гена RANKL C>T [rs 9594738], так и RANKL C>T [rs 9594759] встречались во всех выделенных группах с рахитом, так же и в группе контроля. Так, частота встречаемости аллели Т при остром течении рахита составляет 38,8% ( $\chi^2=0,717$ ,  $p > 0,05$ ), а при подостром течении 47,9% ( $\chi^2=0,982$ ,  $p > 0,05$ ). Мы выявили, что мутантная аллель была выявлена как при различных видах рахита, так и в группе контроля. Генотип TT встречается практически в равных долях во всех группах.

Отклонение от равновесия Харди – Вайнберга для полиморфизма RANKL C>T [rs 9594738] выявлено только в группе легкой степени полиморфизма RANKL C>T [rs 9594759] и группе контроля гена RANKL C>T [rs 9594759] (Таблицы 26, 27) преимущественно за счет разницы наблюдаемой и ожидаемой гомозиготности по мутантной аллели.

**Частота аллельных вариантов полиморфизма RANKL у детей с рахитом в зависимости от течения заболевания и группы здоровых пациентов**

Полиморфизм	Генотип, абс. число	Частота генотипа	HWE	$\chi^2$ (df=1), p
Острое течение				
RANKL C>T [rs 9594738]	C/C-18	0,486	0,421	3,08 p=0,08
	C/T-12	0,324	0,456	
	T/T-7	0,189	0,123	
RANKL C>T [rs 9594759]	C/C-11	0,297	0,322	0,38 p=0,54
	C/T-20	0,541	0,491	
	T/T-6	0,162	0,187	
Подострое течение				
RANKL C>T [rs 9594738]	C/C-11	0,244	0,284	1,16 p=0,28
	C/T-26	0,578	0,498	
	T/T-8	0,178	0,218	
RANKL C>T [rs 9594759]	C/C-8	0,182	0,217	0,88 p=0,35
	C/T-25	0,568	0,498	
	T/T-11	0,250	0,285	
Группа контроля				
RANKL C>T [rs 9594738]	C/C-8	0,308	0,250	7,49 p=0,006*
	C/T-10	0,385	0,500	
	T/T-8	0,308	0,250	
RANKL C>T [rs 9594759]	C/C-4	0,154	0,134	0,03 p=0,87
	C/T-11	0,423	0,464	
	T/T-11	0,423	0,403	

Примечание:  $\chi^2$  (df=1, df=2).

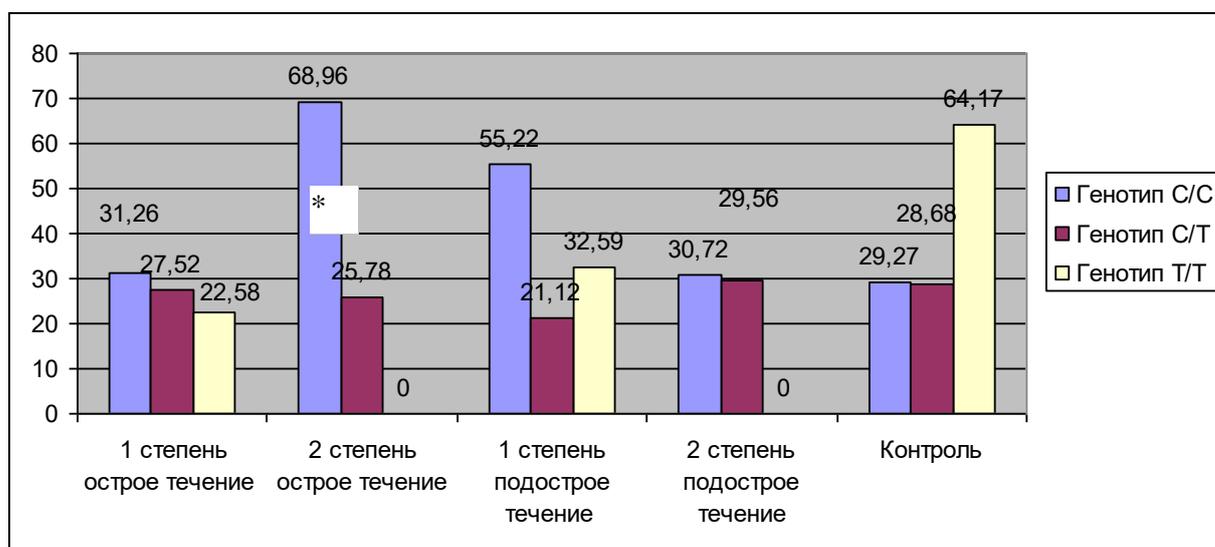
Таблица 27

**Частота аллельных вариантов полиморфизма RANKL у детей с рахитом в зависимости от степени тяжести и группы здоровых пациентов**

Полиморфизм	Генотип, абс. число	Частота генотипа	HWE	$\chi^2$ (df=1), p
Легкая степень				
RANKL C>T [rs 9594738]	C/C-13	0,325	0,263	2,49 p=0,11
	C/T-15	0,375	0,500	
	T/T-12	0,300	0,238	
RANKL C>T [rs 9594759]	C/C-8	0,195	0,172	0,37 p=0,54
	C/T-18	0,439	0,485	
	T/T-15	0,366	0,343	
Средне-тяжелая степень				
RANKL C>T [rs 9594738]	C/C-17	0,405	0,444	1,34 p=0,25
	C/T-22	0,524	0,444	
	T/T-3	0,071	0,111	
RANKL C>T [rs 9594759]	C/C-4	0,114	0,250	10,31 p=0,001*
	C/T-27	0,771	0,500	
	T/T-4	0,114	0,250	
Группа контроля				
RANKL C>T [rs 9594738]	C/C-8	0,308	0,250	1,32 p=0,24
	C/T-10	0,385	0,500	
	T/T-8	0,308	0,250	
RANKL C>T [rs 9594759]	C/C-4	0,154	0,134	0,20 p=0,65
	C/T-11	0,423	0,464	
	T/T-11	0,423	0,403	

Примечание:  $\chi^2$  (df=1, df=2).

Мы оценили зависимость уровня остеопротегерина в зависимости от выделенных генотипов RANKL C>T [rs 9594738]. Так, при выделении генотипа CC, выявлено статистически значимое изменение показателя при средне-тяжелой степени остром течении и легкой степени подостром течении ( $p<0,05$ ), при выделении генотипа CT также увеличение показателя при легкой степени подостром течении. При оценке показателей генотипа TT статистически значимой является разница показателей при легкой степени остром и подостром течении (рис. 2).



**Рисунок 2. Влияние полиморфизма гена RANKL C>T [rs 9594738] на уровень остеопротегерина в зависимости от генотипа.**

Примечание: \* -  $p<0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Оценивая уровень остеопротегерина в зависимости от аллельных вариантов гена RANKL C>T [rs 9594759] выявлено статистически значимое изменение остеопротегерина при средне-тяжелой степени остром течении при всех 3 генотипах, а также при средне-тяжелой степени подостром течении (рис. 3).



**Рисунок 3. Влияние полиморфизма гена RANKL C>T [rs 9594759] на уровень остеопротегерина, в зависимости от генотипа**

Примечание: \*  $p < 0,05$  разница статистически значима по сравнению с группой контроля.

Мутантные аллели генов остеопротегерина (RANKL C>T [rs9594738], RANKL C>T [rs9594759]) встречались во всех группах с рахитом, так же и в контроле с одинаковой частотой. Мы выявили, что мутантная аллель была выявлена как при различном течении рахита, так и в группе контроля, на основании чего можно сделать вывод о том, что они не оказывают влияние на развитие или ухудшение течения рахита.

### **Корреляционный анализ между лабораторными показателями при рахите**

Нами изучено наличие корреляции между лабораторными показателями минерального обмена и маркерами метаболизма костной ткани у детей с рахитом. При  $r > \pm 0,7$  отмечалась сильная связь, при  $\pm 0,699 > r > \pm 0,30$  – средняя, при  $\pm 0,299 > r > \pm 0$  – слабая прямая или обратная корреляционная связь. Различия считались статистически достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  (табл. 28).

Выявлена обратная слабая связь между концентрацией кальция и уровнем С-концевого телопептида коллагена I типа, обратная сильная связь между уровнем кальция и активностью щелочной фосфатазы. Прямая связь средней силы зарегистрирована между уровнем кальцитриола и содержанием кальция в сыворотке крови при подостром течении, между концентрацией кальция и уровнем кальцитонина. Между содержанием кальция в сыворотке крови и уровнем паратиреоидного гормона отмечается обратная связь средней силы (рис. 4, 5).

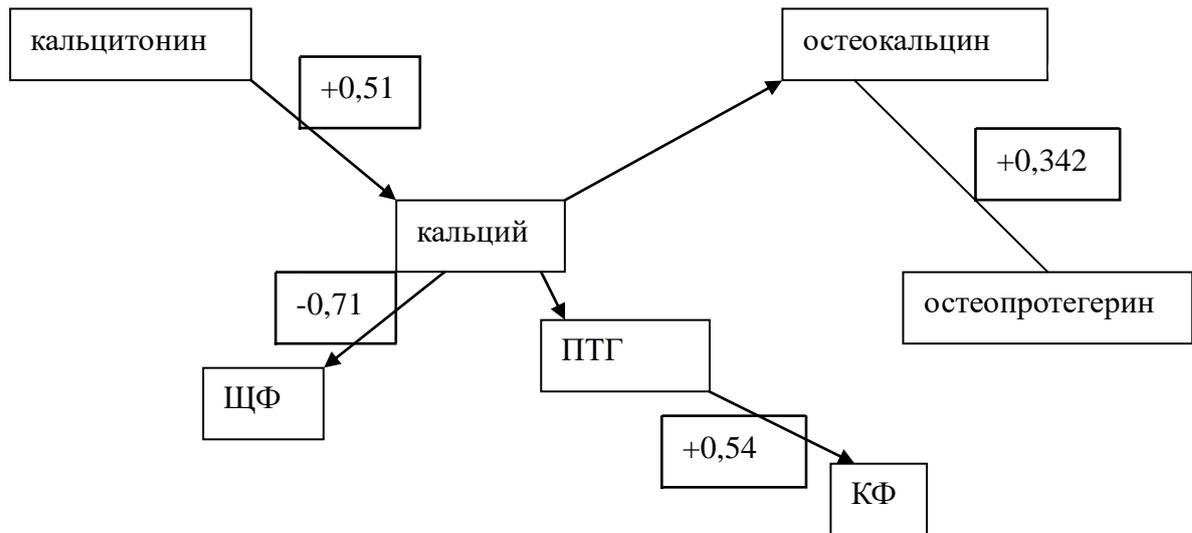
Положительная корреляционная связь была зарегистрирована между концентрацией кислой фосфатазы и уровнем паратиреоидного гормона. Она составила при остром течении  $r=0,54$  ( $p<0,05$ ), а при подостром  $r=0,18$  ( $p>0,05$ ). Связь уровня паратиреоидного гормона с активностью щелочной фосфатазы также положительная при подостром течении ( $r=0,46$ ;  $p<0,05$ ).

**Коэффициент корреляции Спирмена между различными маркерами метаболизма костной ткани у детей с рахитом**

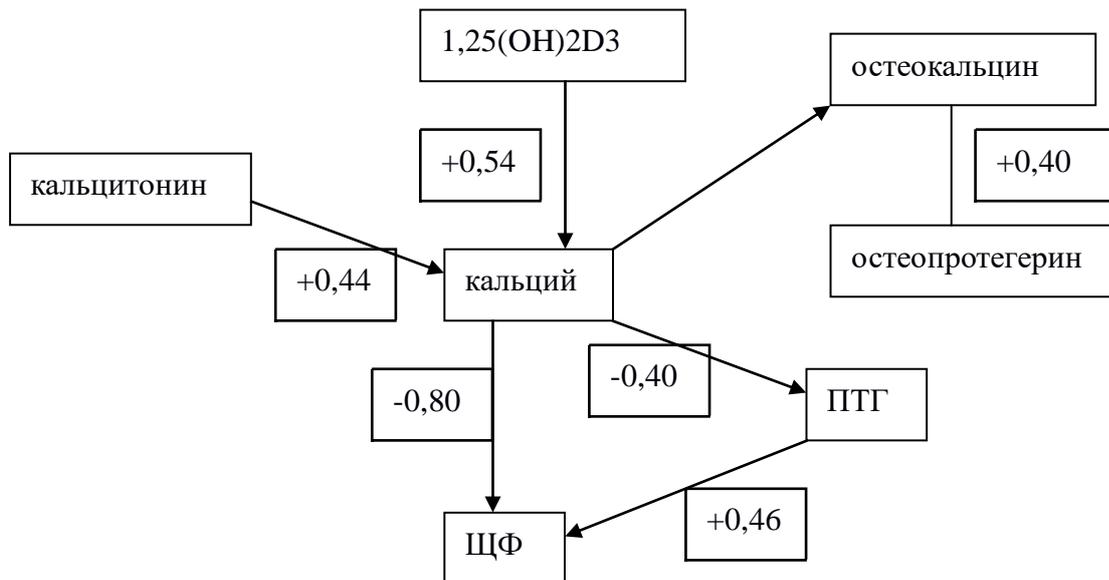
Показатели	Витамин D-дефицитный рахит		Группа контроля
	Острое течение	Подострое течение	
Связь с уровнем 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>			
Остеокальцин	-0,23 p>0,05	-0,13 p>0,05	-0,011 p>0,05
Кальций сыворотки крови	0,24 p>0,05	<b>0,54 p&lt;0,05</b>	0,28 p>0,05
Связь с уровнем кальция			
кальцитонин	<b>0,51 p&lt;0,05</b>	<b>0,44 p&lt;0,05</b>	<b>0,076 p&lt;0,01</b>
C-концевой телопептид коллагена I типа	<b>-0,30 p&lt;0,05</b>	-0,10 p>0,05	-0,23 p>0,05
Щелочная фосфатаза	<b>-0,71 p&lt;0,01</b>	<b>-0,80 p&lt;0,01</b>	-0,01 p>0,05
Паратиреоидный гормон	-0,04 p>0,05	<b>-0,40 p&lt;0,05</b>	-0,12 p>0,05
Связь с уровнем остеокальцина			
остеопротегерин	<b>0,342 p&lt;0,05</b>	<b>0,40 p&lt;0,05</b>	<b>0,36 p&lt;0,05</b>
Связь с уровнем паратиреоидного гормона			
Кислая фосфатаза	0,54 p<0,05	<b>0,18 p&gt;0,05</b>	0,08 p>0,05
Щелочная фосфатаза	<b>0,07 p&gt;0,05</b>	0,46 p<0,05	<b>0,36 p&lt;0,05</b>

Примечание: p<0,05 – связь статистически значима

Таким образом, установлено, что у здоровых детей, в большинстве случаев, связи отсутствуют, однако, они появляются у больных рахитом. Следовательно, такую связь необходимо считать патологической, играющей роль в развитии рахита.



**Рисунок 4. Коэффициент корреляции между различными маркерами метаболизма костной ткани у детей с острым течением рахита**



**Рисунок 5. Коэффициент корреляции между различными маркерами метаболизма костной ткани у детей с подострым течением рахита**

### 3.3. Прогностическое значение изучаемых показателей в развитии течения рахита у детей

В настоящее время общепринятыми критериями определения рахита являются данные клинической картины рахита, рентгенологические данные и биохимические изменения крови. В результате исследования рахита установлены генетические полиморфизмы гена COL1A1: -1997 C>A, а также изменение уровней биохимических показателей С-концевого телопептида коллагена I типа, остеопротегерина, остеокальцина, кальцитриола, кальцитонина, а также кальция сыворотки крови, фосфора, и кальцитриола.

Мы изучили связь данных анамнеза, результатов лабораторного обследования с помощью регрессионной модели, включающей показатели, выявленные у больных с рахитом. Многофакторный регрессионный анализ был использован для исследования связей между несколькими независимыми переменными и зависимой переменной (развитие рахита) с целью создания медико-математической модели возможного прогнозирования течения заболевания. В математическую модель было включено 11 показателей (биохимические показатели и данные генотипа). При составлении уравнения регрессии использовался пошаговый подход, включение дополнительных переменных происходило только в случае, если их добавление к уже отобранным факторам указывало на нарастание значимой прогностической мощности.

Результаты данного многофакторного регрессионного анализа показали, что наиболее близко связанными с возникновением рахита оказалось выявление изменения уровня интактного ПТГ в сыворотке крови и носительство мутантного генотипа AA гена COL1A1: -1997 C>A (Таблица 29).

**Прогностическое значение показателей в многофакторной модели  
течения рахита у детей**

	БЕТА	Ст.Ош.	В	Ст.Ош.	t(97)
Св.член			<b>0,520010</b>	<b>0,124746</b>	<b>4,16855</b>
COL1A1: -1997 C>A, генотип AA	<b>0,215837</b>	<b>0,096757</b>	<b>0,190148</b>	<b>0,085241</b>	<b>2,23071</b>
COL1A1: 1546 (6252) G>T [ Sp1 S>s], генотип AA	0,018579	0,093282	0,017734	0,089040	0,19917
RANKL C>T [rs 9594738], генотип TT	0,003858	0,120700	0,003454	0,108059	0,03197
RANKL C>T [rs 9594759], генотип TT	-0,039533	0,118388	-0,041965	0,125673	-0,33392
ОПГ	0,048292	0,098308	0,021601	0,043973	0,49123
С-телопептид	-0,126577	0,116839	-0,110136	0,101664	-1,08334
кальцитонин	0,149697	0,119298	0,128798	0,102643	1,25482
остеокальцин	0,013159	0,097512	0,011377	0,084310	0,13495
Ин ПТГ	<b>0,233563</b>	<b>0,109888</b>	<b>0,207894</b>	<b>0,097811</b>	<b>2,12546</b>
Кислая фосфатаза	0,040421	0,125271	0,034568	0,107134	0,32267

Примечание: \*beta - регрессионный коэффициент.

При добавлении других показателей в дополнение к уже отобранным, нарастания значимой прогностической мощности не отмечалось.

Многофакторный регрессионный анализ представлен уравнением:

$$Y = a + b_1 \times X_1 + b_2 \times X_2 + \dots + b_p \times X_p,$$

где, Y – течение рахита;

a – суммарный коэффициент прогноза (СКП) для данного течения рахита;

$b_i$  – весовой коэффициент репрезентативной величины  $i$ ;

$X_i$  – значение репрезентативного признака  $i$ .

Таким образом, уравнение регрессии для определения течения рахита имеет следующий вид:

$$Y = 0,520 + 0,215 \times [\text{генотип COL1A1: -1997 C>A}] + 0,234 \times [\text{Ин ПТГ}]$$

Примечание: Следует считать генотип CC гена COL1A1: -1997 C>A как «0», генотипы CA и AA гена COL1A1: -1997 C>A как «1».

На практике модель работает следующим образом: в правую часть формулы вносятся соответствующие показатели пациента, полученное число позволяет отнести пациента в определенную группу, соответствующую классификации рахита.

**Таблица 30**

**Количественная оценка прогноза особенностей течения рахита**

Степень вероятности развития заболевания	Суммарный коэффициент прогноза
Риск реализации заболевания:	
Подострое течение	0,5 – 5,0
Острое течение	> 5,0
Норма	< 0,5

Для проведения анализа развития течения рахита мы отобрали показатели по критериям включения регрессионных коэффициентов в математическую модель со значимостью  $p < 0,05$ , таким образом, все отобранные показатели

(таблица 29) независимы в прогнозировании течения развития рахита. При анализе прогностической модели, полученной в результате проведенного многофакторного регрессионного анализа мы получили значение множественного коэффициента корреляции -  $R=0,44205673$ . На его основании мы можем сделать вывод о линейной зависимости между факторами влияния и откликом (течение рахита). Коэффициент детерминации ( $R^2$ )= $0,19541415$  свидетельствует о высокой степени соответствия регрессионной модели эмпирическим данным. Уровень значимости регрессионной модели  $p<0,01543$ , что еще раз свидетельствует о высокой чувствительности и достоверности. Величина F-критерия (10,97) составила 2,355892 с уровнем значимости  $p<0,05$ , что доказывает высокую чувствительность и достоверность данной модели.

В качестве примера приводим 2 случая заболевания витамин-D-дефицитным рахитом детей с острым и подострым течением.

### **Пример №1**

Ребенок Игорь И., 10 месяцев.

**Жалобы при осмотре (со слов родителей)** на повышенную потливость, недлительный дневной сон, прерывистый ночной, беспокойство, запоры (задержка стула до 3-4 дней), быструю утомляемость во время кормления и игр.

**Anamnesis vitae:** Родился от 2 беременности, 1 родов. Матери 36 лет, 1-я беременность завершилась медицинским абортom. Во время беременности мать не получала молочных продуктов (аллергическая реакция на белок коровьего молока), присутствовали вредные привычки- курение), перенесла ОРВИ без повышения температуры тела, в III триместре – ХВУГП, ХФПН, компенсированная, хронический пиелонефрит, компенсированная форма. Роды путем кесарева сечения на сроке 36-37 недель. По Апгар 7-8 баллов. Масса при рождении - 2680 г, рост при рождении – 49 см., окружность головы- 35 см., груди 34 см. Ребенок находится на естественном вскармливании, режим питания и диета кормящей матери не соблюдается. Прикормы введены с 8 месяцев, самостоятельно приготовленные (неадаптированное питание), до

этого момента ребенок получал только грудное молоко. Ребенок испытывает недостаток инсоляции – редкие прогулки. Перенесенные заболевания: ОРВИ 3-хкратно, перинатальное поражение ЦНС смешанного генеза. Наследственный анамнез отягощен: у матери хронический пиелонефрит, шейный остеохондроз, у бабушки по линии матери- гипертоническая болезнь. Аллергологический анамнез: без особенностей.

**Anamnesis morbi:** Со слов матери первые признаки появились в 5 месяцев, когда начала наблюдаться повышенная потливость, далее присоединились частые ночные пробуждения, беспокойство и запоры. Ребенок получал препарат водного раствора витамина D в дозе 1 капля (500МЕ) в сутки с возраста 21 дня, режим дозирования не соблюдался. Проведены исследования уровней биохимических показателей нарушения минерализации костной ткани.

**Объективно:** общее состояние удовлетворительное. Сознание ясное. На осмотр реагирует беспокойно: плаксивый, наблюдается повышенная потливость, гипергидроз ладоней, стоп. Кожные покровы чистые, бледно-розового цвета, влажные, стойкий красный дермографизм. Со стороны костной системы: кости черепа неправильной формы- уплощен в затылочной части, размеры большого родничка 2,0\*2,0 см. Края родничка размягчены, «краниотабес». Число зубов -2. Грудная клетка деформирована- нижняя апертура развернута. Форма конечностей правильная, на периферии пальпируются «рахитические браслеты». Со стороны мышечной системы наблюдается снижение мышечного тонуса в руках S=D. Стул уплотнен с частотой 1 раз в 3 дня с болезненным натуживанием. По другим органам и системам без особенностей.

**Лабораторные данные:** Биохимический анализ крови: 1,25-Dihydroxy Vitamin D – 14,51 пмоль/л, остеопротегерин - 38,58 пг/мл, С-концевой телопептид коллагена I типа – 1,21 пг/мл, кальцитонин – 8,76 пг/мл, остеокальцин – 44,30 нг/мл, кислая фосфатаза- 14,44 Ед/л, интактный паратиреоидный гормон – 58,60 пг/мл, кальций сыворотки крови – 2,1, кальций

сыворотки крови – 2,1 ммоль/л, фосфор – 0,69 ммоль/л, щелочная фосфатаза-558, Ед/л

### **Полиморфизм генов:**

1. рецептора витамина D VDR: 283 A>G (BsmI) G/A
2. рецептора витамина D VDR: 2 A>G (Lys2Arg) [FokI] A/A
3. рецептора остеопротегерина RANKL: C>T [rs9594738] T/T
4. рецептора остеопротегерина RANKL: C>T [rs9594759] T/T
5. гена коллагена COL1A1: -1997 C>A C/A
6. гена коллагена COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] G/T

**Оценка биохимического анализа крови:** Учитывая отсутствие нормативных показателей в наборах реактивов для детей, результаты сравнивались между группой контроля. До получения лечения было отмечено снижение концентрации кальцитриола в 2,4 раза, кальцитонина на 15%, кальция на 14%, фосфора в 2 раза, повышение уровня остеопротегерина на 40%, С-концевого телопептида коллагена I типа на 70%, остеокальцина на 23%, кислой фосфатазы в 4 раза, интактного паратиреоидного гормона в 14 раз, щелочной фосфатазы в 2,7 раза.

**При оценке полиморфизмов генов выявлены мутантные генотипы следующих генов:** рецептора витамина D VDR: 2 A>G (Lys2Arg) [FokI], рецептора остеопротегерина RANKL: C>T [rs9594738] и RANKL: C>T [rs9594759].

Уравнение регрессии :

$$Y = 0,520 + 0,215 \times 1 + 0,234 \times 58,6$$

$$Y = 13,71$$

На основании полученных анамнестических, физикальных и лабораторных данных был выставлен диагноз: Витамин-D-дефицитный рахит острое течение средне-тяжелой степени, период разгара.

### **Пример №2**

Ребенок Кирилл С., 10 месяцев.

**Жалобы при осмотре (со слов мамы)** на повышенную потливость, беспокойство, чаще ночное, запоры (задержка стула до 3-4 дней), быструю утомляемость во время кормления.

**Anamnesis vitae:** Родился от 3 беременности, 3 родов, во время беременности мать перенесла железодефицитную анемию, лечения не получала, хронический поверхностный гастрит. Диету кормящей матери во время беременности и лактации не соблюдала - нарушены режим и сбалансированность питания. Роды на сроке 38-39 недель. По Апгар 8-9 баллов. Масса при рождении - 2820 г, рост при рождении - 48 см., окружность головы - 34 см., груди - 32 см. Ребенок находится на искусственном вскармливании неадаптированным питанием (козье молоко) с 2 месяцев (гипогалактия матери), с 7 месяцев получает прикормы самостоятельно приготовленные мамой (глютеновые каши, пюре, супы). Перенесенные заболевания: Железодефицитная анемия легкой степени тяжести, ОРВИ, ППЦНС смешанного генеза. Наследственность отягощена за счет заболеваний матери. Аллергологический анамнез: без особенностей.

**Anamnesis morbi:** Со слов матери первые признаки заметили в 6 месяцев, тогда же и появилась повышенная потливость, далее присоединились частые ночные пробуждения, беспокойство и запоры. Ребенок получал препарат водного раствора витамина D в дозе 1 капля (500МЕ) в сутки с возраста 3 месяцев, нерегулярно. Проведены исследования уровней биохимических показателей нарушения минерализации костной ткани.

**Объективно:** общее состояние удовлетворительное. Сознание ясное. На осмотр реагирует беспокойно: плаксивый, наблюдается повышенная потливость. Кожные покровы чистые, бледно-розового цвета, влажные, гипергидроз ладоней и стоп, наблюдается стойкий красный дермографизм. Слизистые оболочки чистые, влажные. Со стороны костной системы: кости черепа уплощены в передне-заднем направлении, разрастание лобных и теменных бугров, большой родничок 1,5\*1,5 см. Число зубов -2. Грудная клетка

уплощена в переднее-заднем направлении, кривизна ключиц усилена. Форма конечностей правильная, присутствуют «рахитические браслеты». Со стороны мышечной системы наблюдается снижение мышечного тонуса в руках и ногах S=D. Живот округлой формы, мягкий, безболезненный, слегка увеличен в объеме. По остальным органам и системам патологических изменений не выявлено.

**Лабораторные данные:** Биохимический анализ крови: 1,25-Dihydroxy Vitamin D – 20,42 пмоль/л, остеопротегерин – 46,9 пг/мл, С-концевой телопептид коллагена I типа – 1,63 пг/мл, кальцитонин – 7,91 пг/мл, остеокальцин – 62,2 нг/мл, кислая фосфатаза - 20,39 Ед/л, интактный паратиреоидный гормон – 12,5 пг/мл, кальций сыворотки крови – 1,9 ммоль/л, фосфор – 0,54 ммоль/л, щелочная фосфатаза- 612,3 Ед/л

Полиморфизм генов:

1. рецептора витамина D VDR: 283 A>G (BsmI) G/G
2. рецептора витамина D VDR: 2 A>G (Lys2Arg) [FokI] G/G
3. рецептора остеопротегерина RANKL: C>T [rs9594738] C/T
4. рецептора остеопротегерина RANKL: C>T [rs9594759] C/T
5. гена коллагена COL1A1: -1997 C>A C/C
6. гена коллагена COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] G/T

**Оценка биохимического анализа крови:** было отмечено снижение концентрации кальцитриола на 59%, кальцитонина на 17%, кальция на 79%, фосфора на 54%. Повышение уровня остеопротегерина в 1,7 раза, С-концевого телопептида коллагена I типа в 2 раза, остеокальцина в 1,7 раза, кислой фосфатазы в 5,7 раза, интактного паратиреоидного гормона в 3 раза, щелочной фосфатазы в 3 раза.

**При оценке полиморфизмов генов выявлены мутантные генотипы следующих генов:** рецептора витамина D VDR: 283 A>G (BsmI).

$$Y = 0,520 + 0,215 \times 0 + 0,234 \times 2,92$$

$$Y = 3,44$$

На основании полученных анамнестических, физикальных и лабораторных данных был выставлен диагноз: Витамин-D-дефицитный рахит подострое течение средне-тяжелой степени, период разгара.

Таким образом, с помощью многофакторного регрессионного анализа подтверждены положения, выносимые нами о наличии в патогенезе рахита единичных полиморфизмов генов VDR: 283 A>G (BsmI) и COL1A1: -1997 C>A, изменений некоторых биохимических показателей, а также влияния анамнестических данных, а именно течения беременности и питания.

Полученные результаты могут служить основополагающими факторами для появления новых подходов к оценке риска возникновения, профилактике и прогнозу развития заболеваний костной системы у детей, а именно рахита.

Выявление данных о наличии полиморфизмов могут быть включены в генетический паспорт, для оценки риска развития заболеваний костной системы, а также своевременной коррекции образа жизни с целью поддержания полного здоровья пациента.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблема рахита является актуальной в связи с широкой распространенностью и недостаточно изученными вопросами патогенеза данного заболевания. Хорошо известна клиника, однако в 2018 г. претерпела изменения классификация С.О. Дулицкого (1947г.) [63]. В настоящее время для легкой степени рахита обязательным является выявление костных изменений, чего не было в предыдущей редакции. Также упразднен начальный период заболевания.

Рахит характеризуется нарушением во всех типах обменов веществ. Ранее было установлено, что дефицит витамина D приводит к изменениям концентраций фосфора, кальция, кальцитонина, остеокальцина и паратиреоидного гормона [116, 200]. Изменение концентрации ОПГ при рахите ранее было ассоциировано с развитием атеросклероза, ревматоидного артрита, сахарного диабета, гипотиреоза, однако с рахитом связи не проводилось. поэтому нами предпринята попытка выяснить его роль в развитии патогенеза рахита [116]. Недостаточная изученность роли маркеров ремоделирования костной ткани явилась обоснованием для проведения нашего исследования [116, 119, 179].

Патогенез рахита, как и многих других заболеваний, является результатом сложного взаимодействия процессов моделирования и ремоделирования костной ткани [7, 71, 100, 109]. Однако, рахит, в отличие от других заболеваний костной системы, является стартовым звеном в развитии поражения других систем организма. При рахите имеют место дисфункции нервной системы, мышечной, сердечно-сосудистой и иммунной, желудочно-кишечного тракта и ухудшение течения фоновых заболеваний.

Недостаточная изученность роли полиморфизма генов в патогенезе рахита явилась обоснованием нашей работы. Все эти аспекты обратили наше внимание на изучение особенностей патогенеза рахита у детей. Исследование мы начали с определения содержания биохимических молекул в сыворотке крови у детей с различными вариантами течения и степени тяжести рахита.

Полученные нами данные по биохимическому составу сыворотки крови у детей при различных вариантах рахита подтверждают уже имеющиеся сведения [11, 33, 56, 75, 77].

Учитывая, что большинство работ, касающихся изменению биохимических маркеров – метаболитов костной ткани, посвящены исследованиям у взрослых остеопороза, полученные нами данные позволяют углубить уже имеющиеся данные и обобщить схему регулирования биохимических маркеров при рахите.

Диагностика рахита основана на клинической картине, изменении биохимических показателей крови: снижении концентраций кальция и фосфора, повышении активности щелочной фосфатазы, снижении кальцитриола (25(OH)D<sub>3</sub>) ниже 20 нг/мл; кальцитриола (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) ниже 10 пг/мл [64].

Кальцитриол – наиболее активная форма витамина D, участвующая в регуляции метаболизма кальция и стимулирующая клеточно-опосредованный иммунитет [31]. Поскольку витамин D<sub>3</sub> оказывает действие на костную ткань и процессы минерализации, то его рецепторам (VDR) принадлежит ключевая роль. В настоящее время представляется, что его различные аллельные гены лучше всего подходят для прогнозирования минеральной плотности кости [34, 54, 83, 90, 97]. Мы установили, что содержание 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> снижается и зависит от тяжести и течения рахита, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [8, 11, 53, 63, 130].

Что касается продукции ОПГ - достоверно повышена, в сравнении с группой контроля, что доказывает утяжеление процессов резорбции костной ткани. В ходе ранее проведенных исследований у взрослых при остеопорозе,

было доказано, что при поражении костной системы происходит экспрессия ОПГ [25, 143].

Обнаруженная гиперпродукция молекул остеокальцина при рахите может свидетельствовать о высокой активности клеток, формирующих костную ткань, а также возникновении внекостных изменений. Убедительные доказательства представили М.И. Шупина и соавторы (2015), Ю.В. Панкратова и соавторы (2013), Н.С. Рытикова (2016) при остеопорозе, заболеваниях поджелудочной железы, сердечно-сосудистой системы [58, 69, 86].

У детей с рахитом, отмечалось снижение концентрации С-концевого телопептида коллагена I типа относительно группы здоровых лиц. Маркеры  $\beta$ -Cross Laps можно использовать как для диагностики, так и для лечения пациентов с нарушениями метаболизма костной ткани. Ранее их определяли при ревматоидном артрите, миеломе, гиперпаратиреозе, болезни Педжета [7, 33, 57, 122]. Выявленное нами увеличение содержания  $\beta$ -Cross Laps показывает, что при подостром течении, невзирая на преобладание процессов остеонной гиперплазии также активно происходит и остеомаляция. С-концевой телопептид коллагена I типа является следствием повышенной резорбции, тем самым, обедняя костную систему солями кальция. На основании приведенных данных можно сказать о повышении концентрации С-концевого телопептида коллагена I типа при ремоделировании костей.

Повышение продукции маркеров резорбции костной ткани сопровождалось увеличением содержания кислой фосфатазы при всех степенях и течениях рахита [77]. Экспрессия КФ наиболее повышена при средней степени тяжести заболевания, превышая аналогичные показатели при рахите легкой степени, независимо от течения. Повышение КФ возрастает с усилением резорбции костной ткани, таким образом, степень тяжести рахита можно характеризовать по уровню КФ.

Концентрация ЩФ, выполняющая роль маркера формирования костной ткани, возрастает при утяжелении степени и тяжести рахита, так, при средней степени тяжести экспрессия выше, чем при легкой степени тяжести [77].

При рахите отмечается динамическое повышение уровня ПТГ в сравнении с группой здоровых детей, независимо от степени тяжести и течения. Подобные данные были получены А.Н. Курзановым (2016), Н.В. Даниловым (2014), С.Б. Павловым (2013) при изучении остеопороза у женщин в постменопаузе и в совокупности с заболеваниями щитовидной железы [13, 42, 68].

Кальций является регулятором большинства физиологических процессов в организме. Однако, основная роль состоит в контроле процессов моделирования и ремоделирования в костной системе. Следовательно, снижение содержания кальция в сыворотке крови ведет к запуску патологических механизмов, ведущих к развитию рахита и сопутствующих заболеваний [4, 7, 14, 53].

Проведенное нами исследование подтверждает значимость маркеров, участвующих в регуляции процессов, происходящих в костной ткани, а также в формировании степени тяжести и течения заболеваний костной системы [77]. Современное представление патогенеза различных заболеваний костной системы обосновано изучением генетического аспекта того или иного нарушения. Согласно исследованиям последних лет, выявлена значимая роль генетических полиморфизмов гормона витамина D, остеопротегерина и коллагена в развитии соматических, неврологических и эндокринных заболеваний [122, 185, 193]. Нами не найдено упоминаний о проведенных исследованиях по изучению влияния маркеров метаболизма костной ткани (гены коллагена и рецептора остеопротегерина на развитие рахита. Это явилось основанием для данного исследования.

В ходе исследования нами обнаружено, что возникновение рахита обусловлено носительством генотипа GG гена рецептора витамина D - VDR:283

A>G (BsmI), генотипа GG гена рецептора витамина D - VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] [79]. Выявлены ассоциации, подтверждающие уже имеющиеся исследования в развитии рахита. Некоторые ассоциации генов, обнаруженные при различных заболеваниях костной системы, не были исследованы при рахите, например генотип AA гена коллагена - COL1A1: -1997 C>A, генотипы TT - RANKL C>T [rs 9594738] и RANKL C>T [rs 9594759].

Коллаген – пептид, составляющий основу соединительной ткани (костная, хрящевая ткани) и обеспечивающий их прочность и эластичность. Синтез коллагена ускоряется при травмах, в периоды ускоренного роста детей и подростков [44]. Изучение полиморфизма COL1A1 проводилось при различных нарушениях костной системы: остеопорозе [48], болезни Крона [2], при сахарном диабете [170]. Полиморфизм гена COL1A1 обусловлен нуклеотидной заменой G (гуанина) на T (тимин). Аналогами считается замена C (цитозина) на A (аденин). У пациентов, имеющих в генотипе вариацию T (A), происходит нарушение соотношения субъединиц в молекуле коллагена, что приводит к нарушению свойств соединительных тканей. В результате происходят нарушения в остеогенезе, остеомалация, остеонидная гиперплазия, проявляющиеся такими заболеваниями как остеопороз, частые переломы, нарушение осанки, рахит.

Достаточно большое количество работ проведено по изучению влияния аллели и генотипа гена коллагена на развитие остеопороза. Так, в исследовании, описанном Э.А. Майлян (2017), выявлены данные предрасположенности к развитию остеопороза [51]. Однако, работ, касающихся роли гена коллагена в развитии рахита проведено не было. Нами впервые зарегистрировано влияние минорной аллели A гена COL1A1: -1997 C>A на развитие рахита [28, 29]. Так, генотип AA регистрировался только у здоровых детей, что повышало риск развития рахита в 4 раза. Наши данные согласуются с мнением других авторов, давших количественную оценку шансов с подсчетом доверительного интервала при различных заболеваниях, ассоциированных с

геном коллагена, проводили исследователи при заболеваниях пародонта [22], сколиоза [23], остеопороза [44].

Кальцитриол оказывает влияние на организм человека посредством несколько разных систем: эндо-, ауто- и паракринных, действуя в связи с рецепторами витамина D, расположенными во всех системах организма (костно-мышечная, мочевыделительная, половая, сердечно-сосудистая, эндокринная, иммунная) [99, 143, 147]. Также рецепторы витамина D обнаруживаются в жизненноважных органах человека - головной и костном мозге, печени [21, 136]. Наиболее значимые полиморфизмы гена VDR, участвующие в развитии заболеваний: BsmI, FokI, TaqIFokI, ApaI [20, 21 165]. Полученная информация о широкой распространенности рецепторов витамина D в органах и системах дала возможность провести ассоциацию носительства полиморфизма гена VDR с определенными заболеваниями: остеопороз, онкологические заболевания, заболевания челюстно-лицевого аппарата, почек, поражение сердца [6, 18, 21, 118, 164, 186, 194]. Также изучается роль полиморфизмов гена рецептора витамина D и при патологиях скелета. Так, при изучении ассоциации BsmI полиморфизма с остеопорозом в различных участках скелета у женщин в постменопаузальном возрасте выявлена связь остеопороза с генотипом GG ( $p=0,009$ ) полиморфизма [21, 50]. Распространенность аутоиммунной патологии детского возраста, к примеру, ревматоидного артрита, способствовало началу изучения возможного влияния полиморфизма гена VDR на возникновение данного заболевания. Наши данные согласуются с мнением М.М. Костик с соавторами (2014), который зарегистрировал связь ( $p=0,03$ ) маркера гена VDR, а именно генотипа GG полиморфизма BsmI у детей с активной стадией ювенильного идиопатического артрита [38, 79].

Изучение предрасположенности, в том числе генетической, связанной с определением концентрации витамина D, позволило выявить роль некоторых генетических полиморфизмов. В качестве основных генов кандидатов, мутации

в которых влияют на концентрации 25(OH)D, были определены гены рецептора витамина D- VDR и других [132, 139, 185]

Нами было проведено исследование полиморфизмов гена витамина D: VDR:283A>G (BsmI) и VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI]. Мы выявили, что носители мутантной аллели G гена VDR:283 A>G (BsmI), так и аллели A гена VDR:2 A>G (Lys2Arg) [FokI] встречались во всех выделенных группах с рахитом, так же и в группе контроля, но с преобладанием в группах с рахитом [79].

На основании полученных данных, мы предлагаем концептуальную схему развития рахита, с включением в нее основных звеньев патогенеза, маркеров метаболизма костной ткани и генетической составляющей. Основными звеньями развития острого течения рахита являются: снижение концентрации кальцитриола, гипокальциемия и гипофосфатемия, повышение уровня паратиреоидного гормона, что вызывает активацию остеокластов и развитию остеомалиции, результатом которой является увеличение в сыворотке продуктов деградации коллагена 1 типа (рисунок 6). Активирование остеокластов снижает концентрацию кальцитонина, что приводит к понижению уровня кальция в крови. Остеокласты секретируют кислую фосфатазу, резорбирующую костную ткань. Для подострого течения рахита основными звеньями являются: повышение секреции остеобластами остеокальцина, ЩФ, остеопротегерина и RANKL.

Нами предложена концептуальная схема патогенеза рахита на которой представлены основные звенья: снижение уровня кальцитриола, фосфора, кальция, кальцитонина; увеличение концентрации остеопротегерина, остеокальцина,  $\beta$ -CrossLaps, паратиреоидного гормона, активности кислой и щелочной фосфатаз. Предрасполагающими факторами в развитии рахита являются: носительство генотипа AA гена COL1A1: -1997 C>A, аллельного варианта T COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] [29, 30, 80].



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рахит, являясь полисистемным заболеванием, несет в себе риск развития осложнений со стороны большинства систем организма человека. Известно, что диагностика рахита основана на изменении концентрации биохимических показателей – кальция, фосфора, щелочной фосфатазы и кальцитриола в сыворотке крови. Проведя анализ полученных в ходе исследования результатов мы выявили показатели метаболизма костной ткани с высокой и низкой концентрацией – С-концевой телопептид коллагена I типа, остеопротегерин, паратиреоидный гормон, остеокальцин, кислая фосфатаза, кальцитонин.

Перспективным направлением научных исследований является поиск генов, регулирующих развитие патологических процессов в организме человека. В настоящее время поиск полиморфизмов маркеров метаболизма костной ткани является актуальным направлением в науке. Проведенное нами исследование демонстрирует вовлечение в патогенез рахита полиморфизмов генов коллагена - COL1A1: -1997 C>A, COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s]. SNP генов коллагена усиливают вероятность развития остеомаляции, остеоидной гиперплазии и тяжести течения заболевания. Полученные результаты объясняют клеточные механизмы и молекулярное развитие событий в процессе ремоделирования костной ткани.

Изучив распределение аллельных вариантов полиморфизмов генов коллагена выявлен высокий риск развития рахита у носителей аллели А гена COL1A1: -1997 C>A и аллельного варианта Т промотора гена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s]. Определено повышение уровня С-концевого телопептида коллагена I типа в зависимости от носительства генотипов генов коллагена. Уровень С-концевого телопептида коллагена I типа повышен при выделении

генотипа AA гена COL1A1: -1997 C>A на 25% и на 43% при выделении SNP варианта TT гена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s].

В ходе проведенного регрессионного анализа установлено, что прогнозировать течение рахита можно с помощью многофакторной модели развития течения рахита у детей. Для этого необходимы данные о концентрации паратиреоидного гормона и SNP-варианте гена коллагена.

## ВЫВОДЫ

1. Высокий уровень остеопротегерина, паратиреоидного гормона, С-концевого телопептида коллагена I типа, остеокальцина, кислой и щелочной фосфатаз наряду с низкой концентрацией кальцитриола, кальцитонина, кальция, фосфора регистрируются у детей в Забайкальском крае как при остром, так и подостром течении рахита.

2. Минорная аллель А гена коллагена COL1A1: -1997 C>A выявлена у 37,1% детей с острым течением и 28,6% с подострым течением. Гомозиготный генотип AA гена коллагена COL1A1: -1997 C>A зарегистрирован у 10,5% детей с острым течением и 9,1% детей с подострым течением рахита у детей Забайкальского края. В группе пациентов с рахитом аллель Т промотора гена COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] обнаружена у 25,5% пациентов с острым ( $p<0,05$ ) и у 23,6% детей с подострым течением ( $p<0,05$ ). Носительство аллели Т промотора гена COL1A1: 1546 (6252) G>T [Sp1 S>s] предрасполагает к развитию рахита.

3. У детей, больных рахитом, при носительстве генотипа AA гена коллагена COL1A1: -1997 C>A уровень С-концевого телопептида коллагена I типа на 25% выше в сравнении с носителями вариантов CC и CA, и на 43% выше при выявлении SNP варианта TT гена COL1A1:1546 (6252) G>T [Sp1 S>s].

4. Предрасполагающим фактором в развитии рахита у детей является сочетание носительства SNP варианта AA гена коллагена COL1A1: -1997 C>A и повышение уровня паратиреоидного гормона в сыворотке крови. При суммарном коэффициенте прогноза вероятного течения рахита  $Y>0,5$  возникает высокий риск развития острого течения заболевания. При коэффициенте прогноза  $Y=0,5-5,0$  реализуется риск развития подострого течения рахита.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абатуров А.Е. Лечение и профилактика недостаточности и дефицит витамина D у детей и подростков / А.Е. Абатуров, Т.П. Борисова, Е.Л. Кривуша // Здоровье ребенка. – 2015. – Т. 63, № 3. – С. 73-78.
2. Ассоциация генетического полиморфизма генов полиморфизма генов рецептора витамина D (VDR), коллагена AI цепи коллагена A I типа (COL1A1), и фактора некроза опухоли-А (TNF-А) и состояния минерализации скелета у детей с болезнью Крона / Т. Габруская, М.О. Ревна, Ю.А. Насыхова, М.М. Костик // Остеопороз и остеопатии. – 2016. – № 2. – С. 95-96.
3. Ахметжанова В.Н. Региональные особенности проблемы рахита у детей / В.Н. Ахметжанова // Студенческий научный форум: материалы X Международной студенческой электронной научной конференции. – 2017. – Т. 3, № 3. – С. 25-29.
4. Ахполова В.О. Обмен кальция и его гормональная регуляция / В.О. Ахполова, В.Б. Брин // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2017. – № 2. – С. 38-46.
5. Базилевская Е.М. Оценка генетической предрасположенности молодых жителей Санкт-Петербурга к заболеваниям, связанным с нарушением обмена кальция / Е.М. Базилевская, И.Ш. Якубова, А.А. Топанова // Профилактическая и клиническая медицина. – 2014. – Т. 52, № 3. – С. 96-101.
6. Баннур Р. Роль рецептора к витамину D и его генетического полиморфизма в прогнозировании течения миопии у детей / Р. Баннур, А.Н. Войтович, В.И. Ларионова // Офтальмологические ведомости. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 27-33.

7. Биохимические маркёры в диагностике нарушений ремоделирования костной ткани при остеопорозе / И.С. Захаров, Г.И. Колпинский, Г.А. Ушакова, Г.В. Вавин // Вестник Авиценны. – 2013. – Т. 57, № 4. – С. 119-123.
8. Власова А.Н. Применение витамина Д у часто болеющих детей / А.Н. Власова, И.Н. Гаймоленко, О.А. Тихоненко // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – № 2. – С. 92-95.
9. Выявления дефицита витамина D у дошкольников и школьников Москвы и Санкт-Петербурга / Т.М. Ивашикина, Т.Н. Котова, Ю.В. Хлехлина [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 11. – С. 22-24.
10. Генетические предикторы переломов проксимального отдела бедра у женщин с остеопорозом г. Красноярска / В.С. Мордовский, Е.В. Капустина, А.С. Кенц, С.Ю. Никулина // Наука XXI века: проблемы и перспективы. – 2016. – Т.4, № 1. – С. 29-31.
11. Гипофосфатемический рахит у детей / С.Ю. Кузнецова, П.В. Новиков, Т.Ю. Прошлякова, Е.Ю. Захарова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2013. – Т. 58, № 4. – С. 14-19.
12. Громова О.А. Витамин D – смена парадигмы / О.А. Громова, И.Ю. Торшин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 576 с. – ISBN 978-5-4439-0680-5.
13. Данилов Н.В. Остеопороз как проблема тиреоидной хирургии / Н.В. Данилов // Наука молодых – Eruditio Juvenium. – 2014. – № 1. – С. 105-113.
14. Дворниченко М.В. Характеристика маркеров нормального и патологического ремоделирования костной ткани в крови детей и подростков / М.В. Дворниченко, А.Е. Сизикова, Л.А. Дмитриева // Бюллетень сибирской медицины. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 24-32.
15. Демикова Н.С. Современное состояние, перспективы и роль клинической генетики в педиатрии / Н.С. Демикова // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2012. – Т. 91, № 3. – С. 53–58.
16. Желнин Е.В. Роль полиморфизмов генов *il-1 $\beta$*  и *tnfrsf11b* в развитии хронического периодонтита / Е.В. Желнин // Актуальні проблеми сучасної

медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. – 2015. – Т. 15, № 2 (50). – С. 57-61.

17. Захарова И.Н. Известные и неизвестные факты о витамине D / И.Н. Захарова, С.В. Яблочкова, Ю.А. Дмитриева // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 26-31.

18. Захарова И.Н. Роль метаболитов витамина D при рахите у детей / И.Н. Захарова, Н.А. Коровина, Ю.А. Дмитриева // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2010. – Т. 89, № 3. – С. 68-73.

19. Захарова И.Н. Современный взгляд на патогенез и профилактику рахита / И.Н. Захарова, Н.А. Коровина, Ю.А. Дмитриева // Практика педиатра. – 2012. – № 2. – С. 34-40.

20. Значение дефицита витамина D в развитии заболеваний человека / С.В. Реушева, Е.А. Паничева, С.Ю. Пастухова, М.Ю. Реушев // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 11. – С. 27-31.

21. Значение полиморфизма гена рецептора витамина D в патологии человека / М.А. Бухалко, Н.В. Скрипченко, У.Ю. Скрипченко, Е.Н. Имянитов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62, № 6. – С. 23-28.

22. Зорина О.А. Взаимосвязь полиморфизма генов некоторых коллагенов с развитием заболеваний пародонта / О.А. Зорина, О.А. Борискина // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». – 2012. – Т. 14, № 2. – С. 9-13.

23. Исследование полиморфизмов генов COL1A1 и VDR у детей со сколиозом / С.В. Виссарионов, В.И. Ларионова, И.В. Казарян [и др.] // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. – 2017. – Т. 5, № 1. – С. 5-12.

24. Канальцевые дисфункции с рахитоподобным синдромом / Н.Н. Картамышева, Т.В. Вашурина, А.М. Мазо [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2011. – Т. 8, № 4. – С. 140-145.

25. Каргина И.Г. Комплекс остеопротегерин - кальцитонин в системе остеогенеза при рахите // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 5. – С. 45-51. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29214>

26. Каргина И.Г. Паратиреоидный гормон в развитии рахита / И.Г. Каргина, Н.М. Щербак // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию образования Читинской государственной медицинской академии, г. Чита, 26 октября 2018 г. ; Читинская государственная медицинская академия. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2018. – С. 164.

27. 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, г. Чита, 30 марта 2018 г. – Чита : РИЦЧГМА, 2018. – С. 57-58.

28. Каргина И.Г. Роль полиморфизма гена коллагена в патогенезе рахита / И.Г. Каргина, В.А. Щербак // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. – 2018. – № 2. – С. 98-104. – URL: <http://medacadem.chita.ru/zmv> (дата обращения: 29.05.2018).

29. Каргина И.Г. Роль полиморфных генов коллагена в возникновении рахита у детей г. Читы / И.Г. Каргина, В.А. Щербак // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию образования Читинской государственной медицинской академии, г. Чита, 26 октября 2018 г. ; Читинская государственная медицинская академия. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2018. – С. 163.

30. Каргина И.Г. С-концевой телопептид коллагена I типа в развитии рахита // Медицина завтрашнего дня: материалы XVII межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 65-летию Читинской государственной медицинской академии, г. Чита, 17-20

апреля 2018 г. ; Читинская государственная медицинская академия. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2018. – С. 152-153.

31. Каргина И.Г. Современные представления о роли витамина D / И.Г. Каргина, В.А. Щербак // Российский педиатрический журнал. – 2016. – Т. 19, № 2. – С. 103-105.

32. Каргина И.Г. Уровень кальцитриола у детей с рахитом на территории Забайкальского края / И.Г. Каргина, В.А. Щербак, Н.М. Щербак // Актуальные проблемы педиатрии: сборник тезисов XX Съезда педиатров России с международным участием, Москва, 16-18 февраля 2018 г. – Москва, 2018. – С. 127.

33. Киселёва И.В. Изменение маркеров метаболизма костной ткани в сыворотке крови у больных остеопорозом / И.В. Киселёва // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 3. – С. 552.

34. Климова Ж.А. Современная лабораторная диагностика остеопороза / Ж.А. Климова, А.А. Зафт, В.Б. Зафт // Международный эндокринологический журнал. – 2014. – Т. 63, № 7. – С. 75-84.

35. Клинико-прогностическое значение молекулярно-генетических факторов при постменопаузальном остеопорозе / С.В. Юренева, А.Е. Донников, Е.В. Бордакова [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2015. – № 1. – С. 3–6.

36. Клинико-рентгенологические проявления фосфат-диабета / Н.О. Науменко, Т.А. Кинчая-Полищук, С.М. Марциняк, Н.Ф. Сивак // Вісник ортопедії та протезування. – 2013. – Т. 79, № 4 – С. 48-53.

37. Корнилов Н.Н. Полиморфизм генов рецептора витамина D3 (VDR), коллагена первого типа (COL1A1), остеокальцина (BGLAP) и рецептора кальцитонина (CALCR) у больных идиопатическим деформирующим артрозом коленного сустава в северо-западном регионе Российской Федерации / Н.Н. Корнилов, М.В. Асеев // Травматология и ортопедия России. – 2003. – № 1. – С. 24-29.

38. Костик М.М. Роль генетического полиморфизма гена рецептора витамина D (VDR) в патогенезе ювенильного идиопатического артрита: теоретические и практические аспекты / М.М. Костик, Л.А. Щеплягина, В.И. Ларионова // Современная ревматология. – 2014. – № 3. – С. 28–33.

39. Костное ремоделирование у больных с хронической сердечной недостаточностью / И.Н. Тотров, М.С. Хестанова, И.В. Антониади [и др.] // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. – 2014. – Т. 2, № 3s1. – С. 53b-54a.

40. Кочеткова Е.А. Генетические аспекты остеопороза / Е.А. Кочеткова, О.Ю. Бубнов, Т.Г. Васильева // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2005. – № 2. – С. 14-17.

41. Крохина К.Н. Особенности формирования костной ткани у новорожденных детей / К.Н. Крохина, И.Е. Смирнова, И.А. Беяева // Российский педиатрический журнал. – 2010. – № 5. – С. 36-41.

42. Курзанов А.Н. Паратиреоидный гормон–родственный белок – современные представления о структуре, биохимических характеристиках и физиологической роли в организме / А.Н. Курзанов, И.М. Быков, М.Ю. Ледванов // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 52.

43. Кушлинский Н.Е. Система RANK/RANKL/OPG при метастазах и первичных новообразованиях костей / Н.Е. Кушлинский, Ю.А. Тимофеев, Е.С. Герштейн // Молекулярная медицина. – 2013. – № 6. – С. 3-10.

44. Ларин А.С. Ассоциация однонуклеотидного полиморфизма T1245G гена COL1A1 с уровнем остеоассоциированных гормонов при постменопаузальном остеопорозе / А.С. Ларин, Д.С. Зяблицев // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2015. – Т.49, № 1. – С. 44-48.

45. Левиашвили Ж.Г. Тубулопатии с ведущим синдромом рахита, почечного канальцевого ацидоза и алкалоза, редкие синдромы у детей: автореф. дис. д-ра мед. наук : 14.01.08 / Левиашвили Жанна Гавриловна ; Санкт-

Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. – Санкт-Петербург, 2015. – 42 с.

46. Левченко О.А. Основные механизмы ремоделирования костной ткани / О.А. Левченко // Дерматология та венерология. – 2016. – Т. 72, № 2– С. 5-12.

47. Лембрик И.С. Современные взгляды на синдром де Тони-Дебре-Фанкони: данные литературы и описание клинического случая / И.С. Лембрик, С.И. Якимив, О.В. Лесюк // Здоровье ребенка. – 2013. – Т. 50, № 7. – С. 169-173.

48. Майлян Э.А. Ассоциации полиморфизма rs9594738 (c>t) гена TNFSF11 с остеопорозом в зависимости от длительности постменопаузы / Э.А. Майлян // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2017. – № 3. – С. 53-61.

49. Майлян Э.А. Ассоциация полиморфизма генов системы витамина D с некоторыми заболеваниями человека / Э.А. Майлян, Н.А. Резниченко, Д.Э. Майлян // Вятский медицинский вестник – 2017. – Т. 54, № 2. – С. 30-40.

50. Майлян Э.А. Влияние полиморфизма 283 A>G (BsmI) гена рецептора витамина D на развитие остеопороза у женщин в постменопаузе / Э.А. Майлян // Медицинский вестник Юга России. – 2016. – № 4. – С. 32–38.

51. Майлян Э.А. Полиморфизм SP1 гена COL1A1 и риск развития остеопороза у женщин в постменопаузальном периоде / Э.А. Майлян // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – № 1. – С. 90-94.

52. Майлян Э.А. Экстраскелетные эффекты витамина D: роль в патогенезе аллергических заболеваний / Э.А. Майлян, Н.А. Резниченко, Д.Э. Майлян // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2017. – Т. 37, № 5– С. 22-32. - (Медицина. Фармация).

53. Мальцев С.В. Витамин D, кальций и фосфаты у здоровых детей и при патологии / С.В. Мальцев, Н.Н. Архипова, Э.М. Шакирова. – Казань, 2012. – 115 с. – ISBN 5990344414.

54. Мальцев С.В. Генетически детерминированные нарушения обмена фосфатов у детей и пути их коррекции / С.В. Мальцев, Н.Н. Архипова // Практическая медицина. – 2010. – Т.41, № 2 – С. 41-45.
55. Мальцев С.В. Метаболизм витамина D и пути реализации его основных функций / С.В. Мальцев, Г.Ш. Мансурова // Практическая медицина. – 2014. – Т. 85, № 9. – С. 12-18.
56. Мальцев С.В. Рахит у детей: причины, диагностика, лечение / С.В. Мальцев // Практическая медицина. – 2017. – Т. 106, № 5 – С. 44–48.
57. Маркеры костного ремоделирования у детей с врожденной и приобретенной патологией опорно-двигательного аппарата / Т.А. Никонова, И.М. Устьянцева, О.И. Хохлова, Д.А. Довгаль // Политравма. – 2012. – № 3. – С. 68-71.
58. Метаболизм костной ткани и остеопороз / М.И. Шупина, Г.И. Нечаева, Д.В. Шупин [и др.] // Лечащий врач. – 2015. – № 10. – С. 78-82.
59. Метаболиты витамина D: роль в диагностике и терапии витамин D-зависимой патологии / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, И.К. Томилова, А.В. Гилельс // Практическая медицина. – 2017. – Т. 106, № 5 – С. 4-10.
60. Морголь А.С. Роль витамина D в патогенезе хронической сердечной недостаточности / А.С. Морголь, Л.В. Янковская // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2013. – Т. 44, № 4– С. 11-16.
61. Морозов Ю.А. Маркеры метаболизма костной ткани / Ю.А. Морозов // Справочник заведующего КДЛ. – 2014. – № 1. – С. 25-33.
62. Наумов А.В. Кальций и витамин D3: от остеопороза до полиморбидности сердечно-сосудистых заболеваний / А.В. Наумов // Лечащий врач. – 2012. – № 4. – С. 36.
63. Национальная программа «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции»; Союз педиатров России. – Москва : ПедиатрЪ, 2018. – 96 с.

64. Национальная программа оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации; Союз педиатров России. – Москва, 2011. – 68 с.
65. Никитина И.Л. Дефицит витамина Д и здоровье / И.Л. Никитина, Т.Л. Каронова, Е.Н. Гринёва // Артериальная гипертензия. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 277-281.
66. Новиков П.В. Рахит и наследственные рахитоподобные заболевания у детей: диагностика, лечение, профилактика / П.В. Новиков. – Москва : Триада-Х, 2006. – 336 с.
67. Обеспеченность витамином D детей грудного возраста / И.Н. Захарова, Л.Я. Климов, С.В. Долбня [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – Т. 61, № 6. – С. 68–76.
68. Павлов С.Б. Участие паратиреоидного гормона и кальцитонина в регуляции метаболизма костной ткани при моделировании его нарушений / С.Б. Павлов // Вестник проблем биологии и медицины. – 2013. – Т. 1, № 2. – С. 185-189.
69. Панкратова Ю.В. Витамин К-зависимые белки: остеокальцин, матриксный GLA-белок и их внекостные эффекты / Ю.В. Панкратова, Е.А. Пигарова, Л.К. Дзеранова // Ожирение и метаболизм. – 2013. – Т. 35, № 2. – С. 11-18.
70. Плудовски П. Еще раз об алиментарном рахите / П. Плудовски, И.Н. Захарова // Медицинский совет. – 2016. – № 16. – С. 27–31.
71. Поворознюк В.В. Влияние кальцитонина на репаративную регенерацию костной ткани / В.В. Поворознюк, Н.В. Дедух, А.В. Макогончук // Травма. – 2014. – Т. 15, № 4. – С. 30-34.
72. Полиморфизм генов костного метаболизма и остеогенеза у детей с деформациями позвоночника / С.В. Виссарионов, Д.Н. Кокушин, А.Н. Филиппова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 4-2. – С. 342-345.

73. Полиморфизм некоторых генов метаболизма костной ткани (VDR Bsm1 с.IVS7G>A, LCT 13910 T>C, COL1A 12046 G->T) у представительниц русской и бурятской национальностей / С.В. Верхотурова, С.Ю. Царенок, В.В. Горбунов, Т.А. Аксенова. – DOI 10.14341/osteo201713-6 // Остеопороз и остеопатии. – 2017. – Т. 20, № 1. – С. 3-7.

74. Прокопцева Н.Л. Рахит у детей / Н.Л. Прокопцева // Сибирское медицинское обозрение. – 2012. – Т. 77, № 5– С. 88-98.

75. Рахит у детей в общей врачебной практике (семейной медицине) / под ред. И.Н. Денисова. – Москва, 2014 – 24 с.

76. Рахит, недостаточность витамина D и всемирный консенсус по профилактике и лечению нутритивного рахита: взгляд российских педиатров / В.М. Студеникин, К.А. Казакова, Ю.С. Акоев, А.В. Мигаля // Российский педиатрический журнал. – 2017. – Т. 20, № 2. – С. 116-122.

77. Ремоделирование костной ткани при рахите у детей / И.Г. Каргина, В.А. Щербак, Н.М. Щербак, П.П. Терешков // Забайкальский медицинский вестник. – 2018. – № 1. – С. 98-104. – URL: <http://medacadem.chita.ru/zmv>. – (дата обращения: 10.04.2018).

78. Роль молекулярно-генетических факторов в развитии постменопаузального остеопороза / Е.В. Бордакова, А.Е. Донников, С.В. Юренева [и др.] // Боль. Суставы. Позвоночник. – 2012. –Т. 07, № 3. – С. 26-30.

79. Роль полиморфизма генов рецептора витамина D в патогенезе рахита / В.А. Щербак, И.Г. Каргина, Н.М. Щербак, Н.А. Хамина // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2018. – Т. 63, № 4. – С. 287.

80. Роль эндогенных и экзогенных факторов в развитии остеопороза у детей / Е.А. Статинова, Р.Я. Омельченко, Л.С. Васковская, С.А. Сохин // Травма. – 2013. – Т. 14, № 5. – С. 89- 93.

81. Рооз О. Остеопения недоношенных новорожденных / О. Рооз // Неонатология. Практические рекомендации / О. Рооз, О. Генцель-Боровичени, Г. Прокитте. – Москва : Медицинская литература, 2011. – С. 404-407.

82. Рудык А.В. Роль витамина D в противоинфекционном иммунитете / А.В. Рудык // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2017. – № 1. – С. 54-57.

83. Рывкин А.И. Диагностическая значимость изменений показателей минерального гомеостаза при рахите у детей первого года жизни / А.И. Рывкин // Медицинский альманах. – 2015. – № 2. – С. 110-112.

84. Рывкин А.И. К патогенезу анемии при рахите у детей / А.И. Рывкин // Медицинский альманах. – 2014. – Т. 32, № 2 – С. 114-117.

85. Рылова Н.В. Роль витамина D в регуляции иммунной системы / Н.В. Рылова, С.В. Мальцев, А.В. Жолинский // Практическая медицина. – 2017. – Т. 106, № 5. – С. 10-14.

86. Рытикова Н.С. Маркеры метаболизма костной ткани / Н.С. Рытикова, М.А. Смирнова // Журнал международной медицины. Неврология / Психиатрия. Ревматология. Реабилитация. – 2016. – Т.21, № 4. – С. 32-44.

87. Рязанова Е.А. Рахит и рахитоподобные заболевания: клинико-рентгенологические, биохимические проявления, лечение / Е.А. Рязанова // Вестник РНЦРР МЗ РФ. – 2010. – Т. 1, № 10. – С. 10.

88. Смирнов А.В. Строение и функции костной ткани в норме и при патологии. Сообщение I / А.В. Смирнов, А.Ш. Румянцев // Нефрология. – 2014. – Т. 18, № 6. – С. 9-25.

89. Смирнова Г.Е. Роль витамина D в развитии детского организма и коррекция его дефицита / Г.Е. Смирнова, А.В. Витебская, Н.А. Шмаков // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium medicum. – 2010. – № 3. – С. 7-12.

90. Современные подходы к диагностике, лечению и профилактике рахита у детей: учеб.-метод. пособие / А.С. Почкайло, В.Ф. Жерносек, Э.В. Руденко [и др.]. – Минск, 2014. – 72 с.

91. Содержание витамина D у детей школьного возраста Приуралья и Северо-Запада РФ / А.И. Козлов, Ю.А. Атеева, Г.Г. Вершубская, В.Г. Рыжаенков // Педиатрия. Журнал им. Г.Н.Сперанского. – 2012. – Т. 91, № 1. – С. 144-148.

92. Соматоневрология новорожденных / В.М. Студеникин, Ш.Ш. Шамансуров, Ю.С. Акоев [и др.]. – Москва : Медфорум, 2014. – С. 272-288. – (Неонатальная неврология / под ред. В.М. Студеникина, Ш.Ш. Шамансурова ; Глава 17).

93. Спиричев В.Б. О биологических эффектах витамина D / В.Б. Спиричев // Педиатрия. Журнал им. Г.Н.Сперанского. – 2011. – Т. 90, № 6. – С. 113-119.

94. Стрельченко О.В. Основные показатели здоровья населения и здравоохранения Сибирского федерального округа в 2014 году: сборник статистических и аналитических материалов / О.В. Стрельченко. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2015. – Вып. 15. – 270 с.

95. Студеникин В.М. Вегетативная дисфункция у детей / В.М. Студеникин // iDoctor. – 2016. – Т. 40, № 3. – С. 8–11.

96. Студеникин В.М. Рахит: соматоневрология и нейропедиатрия / В.М. Студеникин // Лечащий врач. – 2017. – № 1. – С. 20-23.

97. Токарчук Н.И. Анализ связи между однонуклеотидным полиморфизмом bsm1 гена VDR и статусом витамина D у детей, больных рахитом / Н.И. Токарчук, М.Н. Пугач // Современная педиатрия. – 2015. – № 1 (65). – С. 40.

98. Третьякова О.С. Рахит или «болезнь растущего организма»: современный взгляд на проблему / О.С. Третьякова // Детский доктор. – 2010. – Т.4, № 2. – С. 24-39.

99. Тяжкая А.В. Проведение скрининга среди здоровых детей и детей с аллергическими заболеваниями на выявление витамин – D-дефицита / А.В. Тяжкая, З.В. Сельская // Перинатология и педиатрия. – 2014. – Т. 58, № 2. – С. 34

100. Фархутдинова Л. Несовершенный остеогенез / Л. Фархутдинова // Врач. – 2017. – № 8. – С. 6-8.

101. Фигурска М. Структура компактной костной ткани / М. Фигурска // Российский журнал биомеханики. – 2007. – Т. 11, № 3. – С. 28-38.

102. Физиологическая потребность и эффективные дозы витамина D для коррекции его дефицита. Современное состояние проблемы / В.М. Коденцова, О.И. Мендель, С.А. Хотимченко [и др.] // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 2. – С. 47–62.

103. Хисматуллина З.Н. Факторы, оказывающее влияние на метаболизм костной ткани и приводящие к заболеваниям костной системы / З.Н. Хисматуллина // Вестник технологического университета. – 2015. – Т. 18, № 22. – С. 165-172.

104. Хлебовец Н.И. Клиника и диагностика рахита у детей в современных условиях / Н.И. Хлебовец // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2011. – Т. 35. - № 35. – С. 51-54.

105. Храмцова С.Н. Минералы, влияющие на рост и качество кости у здоровых детей / С.Н. Храмцова, Л.А. Щеплягина, Т.Ю. Моисеева // Остеопороз и остеопатии. – 2011. – № 3. – С. 36.

106. Частота встречаемости полиморфных вариантов генов, «ответственных» за минерализацию костной ткани у подростков / Н.Г. Плехова, Е.В. Крукович, С.В. Воронин [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 5. – С. 192-200.

107. Что нужно знать педиатру о витамине D: новые данные о его роли в организме. Часть 1 / И.Н. Захарова, Ю.А. Дмитриева, С.В. Васильева, Е.А. Евсеева // Педиатрия. Журнал им. Г.Н.Сперанского. – 2014. – Т. 93, № 3. – С. 111-117.

108. Что нужно знать педиатру о витамине D: новые данные о его роли в организме. Часть / И.Н. Захарова, Ю.А. Дмитриева, Т.М. Творогова [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2014. – Т. 93, № 6. – С. 125-131.

109. Чубаров Т.В. Современный взгляд на патофизиологические механизмы нарушения костного ремоделирования / Т.В. Чубаров, И.А.

Сутормина, Е.В. Рублева // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2016. – Т. 15, № 3. – С. 404-411.

110. Шепелькевич А.П. Современные подходы к профилактике и лечению дефицита витамина D / А.П. Шепелькевич // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2016. – Т. 22, № 4. – С. 7-22.

111. Шестерикова В.В. Современный взгляд на витамин D / В.В. Шестерикова, И.Е. Иванова, Н.В. Стержанова // Лечение и профилактика. – 2014. – Т. 9, № 1. – С. 57–61.

112. Шилин Д.Е. Кальций, витамин D и формирование здорового скелета / Д.Е. Шилин. – Москва, 2008. – 60 с.

113. Щеплягина Л.А. Антенатальная профилактика рахита / Л.А. Щеплягина // Лечение и профилактика. – 2013. – Т. 6, № 2 – С. 7–12.

114. Щеплягина Л.А. Витамин D и программирование кости / Л.А. Щеплягина // Лечение и профилактика. – 2014. – Т. 11, № 3– С. 91-98.

115. Щеплягина Л.А. Несовершенный остеогенез у детей: известные и неизвестные факты / Л.А. Щеплягина, Е.Ю. Полякова, Н.А. Белова // Лечение и профилактика. – 2017. – Т. 21, № 1. – С. 5-11.

116. Щербак В.А. Роль остеопротегерина в патогенезе рахита / В.А. Щербак, И.Г. Каргина, Н.М. Щербак // Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей: материалы XXV Международного конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ, Москва, 13-15 марта 2018 г. / под общей редакцией С.В. Бельмера, Л.И. Ильенко. – Москва : Медпрактика-М, 2018. – С. 60-62.

117. Эффективность профилактики рахита у грудных детей при использовании масляного раствора витамина D: результаты краткосрочного сравнительного исследования / Т.В. Маргиева, Е.П. Зимина, Е.А. Бакович [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13, № 3. – С. 299-302.

118. D-витаминный статус населения Пермского края, республик Коми и Удмуртия / А.И. Козлов, Ю.А. Атеева, Г.Г. Вершубская [и др.] // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82, № 2. – С. 31–36.

119. A candidate gene association study of bone mineral density in an Iranian Population / S.A. Dastgheib, A. Gartland, S.M. Tabei [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2016. – Vol. 7. – P. 141.

120. A systematic review of the association between common single nucleotide polymorphisms and 25-hydroxyvitamin D concentrations / J.J. McGrath, S. Saha, T.H. Burne, D.W. Eyles // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2010. – Vol. 121, № 1–2. – P. 471–477.

121. Acar S. Genetic causes of rickets / S. Acar, K. Demir, Y. Shi // J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol. – 2017. – Vol. 9, Suppl. 2. – P. 88-105.

122. Assay specific decision limits for two new automated parathyroid hormones and 25-hydroxyvitamin D assays / J.C. Souberbielle, V. Fayol, C. Sault [et al.] // Clin. Chem. – 2006. – Vol. 51. – P. 395–400.

123. Assessment of vitamin D status — a changing landscape / M. Herrmann, C.L. Farrell, I. Pusceddu [et al.] // Clin. Chem. Lab. Med. – 2017. – Vol. 55, № 1. – P. 3–26.

124. Association analysis of the COL1A1 polymorphism with bone mineral density and prevalent fractures in Polish postmenopausal women with osteoporosis / J. Dytfeld, M. Marcinkowska, N. Drwęska-Matelska [et al.] // Arch. Med. Sci. – 2016. – Vol. 12, № 2. – P. 288–294.

125. Association between vitamin D receptor BsmI polymorphism and bone mineral density in pediatric patients: A meta-analysis and systematic review of observational studies / L. Bao, M. Chen, Y. Lei [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2017. – Vol. 96, № 17. – P. e6718.

126. Banajeh S.M. Nutritional rickets and vitamin D deficiency--association with the outcomes of childhood very severe pneumonia: a prospective cohort study / S.M. Banajeh // Pediatr. Pulmonol. – 2009. – Vol. 44, № 12. – P. 1207-1215.

127. Basatemur E. Incidence of hypocalcemic seizures due to vitamin D deficiency in children in the United Kingdom and Ireland / E. Basatemur, A. Sutcliffe // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2015. – Vol. 100, № 1. – P. E91-95.

128. Bener A. Nutritional rickets among children in a sun rich country / A. Bener, G.F. Hoffmann // *Int. J. Pediatr. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 2010. – P. 410502.

129. Bikle D. Vitamin D and immune function: understanding common pathways / D. Bikle // *Curr. Osteoporos. Rep.* – 2009. – Vol. 7. – P. 58-63.

130. Bothra M. Effect of intramuscular cholecalciferol megadose in children with nutritional rickets / M. Bothra, N. Gupta, V. Jain // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 29, № 6. – P. 687–692.

131. Bouillon R. Vitamin D: from photosynthesis, metabolism and action to clinical applications / R. Bouillon // *Endocrinology* / eds. L.J. de Groot, J.L. Jameson. – Philadelphia : WB Saunders, 2001. – P. 1009-1028.

132. Cashman K.D. Standardizing serum 25-hydroxyvitamin D data from four Nordic population samples using the Vitamin D Standardization Program protocols : Shedding new light on vitamin D status in Nordic individuals / K.D. Cashman, K.G. Dowling, Z. Skrabakova // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2015. – Vol. 75. – P. 549-561.

133. Common variants in CYP2R1 and GC genes predict vitamin D concentrations in healthy Danish children and adults / J. Nissen, L.B. Rasmussen, G. Ravn-Haren [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 2. – P. e 89907.

134. Dittmer K.E. Skeletal deformities associated with nutritional congenital rickets in newborn lambs / K.E. Dittmer, R.E. Morley, R.L. Smith // *N. Z. Vet. J.* – 2017. – Vol. 65, № 1. – P. 51–55.

135. Dougall W. Molecular pathways: osteoclast-dependent and osteoclast-independent roles of the RANKL/RANK/OPG pathway in tumorigenesis and metastasis / W. Dougall // *Clin. Cancer Res.* – 2012. – Vol. 18, № 2. – P. 326–335.

136. Epidemiology of nutritional rickets in children / M.S. Al-Atawi, I.A. Al-Alwan, A.N. Al-Mutair [et al.] // Saudi J. Kidney Dis. Transpl. – 2009. – Vol. 20, № 2. – P. 260-265.

137. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline / M.F. Holick, N.C. Binkley, H.A. Bischoff-Ferrari [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2011. – Vol. 96, № 7. – P. 1911–1930.

138. Fiscoletti M. The importance of vitamin D in maternal and child health: a global perspective / M. Fiscoletti, P. Stewart, C.F. Munns // Public Health Rev. – 2017. – Vol. 38. – P. 19.

139. Follow-up study of Gambian children with rickets-like bone deformities and elevated plasma FGF23: possible aetiological factors / V. Braithwaite, L.M. Jarjou, G.R. Goldberg [et al.] // Bone. – 2012. – Vol. 50, № 1. – P. 218-225.

140. Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D3 supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial / E.L. Barry, J.R. Rees, J.L. Peacock [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2014. – Vol. 99, № 10. – P. 2133–2137.

141. Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets / C.F. Munns, N. Shaw, M. Kiely [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2016. – Vol. 101, № 2. – P. 394–415.

142. Goldacre M. Hospitalization for children with rickets in England: a historical perspective / M. Goldacre, N. Hall, D.G. Yeates // Lancet. – 2014. – Vol. 383. – P. 597-598.

143. Greenbaum L.A. Micronutrient Mineral Deficiencies / A.L. Greenbaum // Nelson Textbook of Pediatrics / ed. by R.M. Kliegman. – Philadelphia, PA : Elsevier/Saunders, 2010. – Ch. 51. – P. 331–341.

144. Gregory P. Genetic variants and associations of 25- hydroxyvitamin D concentrations with major clinical outcomes / P. Gregory // JAMA. – 2012. – Vol. 308, № 18. – P. 1898-1905.

145. High incidence of rickets in extremely low birth weight infants with severe parenteral nutrition-associated cholestasis and bronchopulmonary dysplasia / S.M. Lee, R. Namgung, M.S. Park [et al.] // *J. Korean Med. Sci.* – 2012. – Vol. 27, № 12. – P. 1552-1555.

146. Hogler W. Complications of vitamin D deficiency from the foetus to the infant: One cause, one prevention, but who's responsibility? / W. Hogler // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2015. – Vol. 29, № 3. – P. 385-398.

147. Holick M.F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets / M.F. Holick // *J. Clin. Invest.* – 2006. – Vol. 116, № 8. – P. 2062-2072.

148. Holick M.F. Vitamin D status and ill health / M.F. Holick, W.B. Grant // *Lancet Diabetes Endocrinol.* – 2014. – Vol. 2, № 4. – P. 273-274.

149. Holick M.F. Vitamin D status: measurement? Interpretation and clinical application / M.F. Holick // *Ann. Epidemiol.* – 2009. – Vol. 19, № 2. – P. 73-78.

150. Holick M.F. Vitamin D: extraskeletal health / M.F. Holick // *Rheum. Dis. Clin. North Am.* – 2012. – Vol. 38, № 1. – P. 141–160.

151. Hollis B.W. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> -26,23-Lactone Interferes In Determination of 1,25-Dihydroxyvitamin D by RIA after Immunoextraction // *Clin. Chem.* – 1995. – Vol. 41. – P. 1313-1314.

152. Hossein-Nezhad A. Vitamin D for health: global perspective / A. Hossein-Nezhad, M.F. Holick // *Mayo Clin. Proc.* – 2013. – Vol. 88, № 7. – P. 720–755.

153. Hypovitaminosis D in the Middle East and North Africa: Prevalence, risk factors and impact on outcomes / D. Bassil, M. Rahme, M. Hoteit, H. Fuleihan Gel // *Dermatoendocrinology.* – 2013. – Vol. 5, № 2. – P. 274-298.

154. Incidence of vitamin D deficiency rickets among Australian children: an Australian Paediatric Surveillance Unit study / C.F. Munns, P.J. Simm, C.P. Rodda [et al.] // *Med. J. Aust.* – 2012. – Vol. 196. – P. 466-468.

155. Increasing incidence of nutritional rickets: a population-based study in Olmsted County, Minnesota / T.D. Thacher, P.R. Fischer, P.J. Tebben [et al.] // *Mayo Clin. Proc.* – 2013. – Vol. 88, № 2. – P. 176-183.

156. Interlaboratory/intermethod differences in functional sensitivity of immunometric assays of Thyrotropin (TSH) and impact on reliability measurement of subnormal concentrations of TSH / C.A. Spencer, M. Takeuchi, M. Kazarosyan [et al.] // *Clin. Chem.* – 1995. – Vol. 41. – P. 367–374.

157. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Enzymes. Part 5. IFCC method of alkaline phosphatase // *Clin. Chim. Acta.* – 1983. – Vol. 135. – P. 339F-367F.

158. Iqbal S.J. Vitamin D metabolism and the clinical aspects of measuring metabolites // *Ann. Clin. Biochem.* – 1994. – Vol. 31, № 109. – P.124.

159. Lee S.M. Calcitonin and Amylin Receptor Peptide Interaction Mechanisms: Insights Into Peptide-Binding Modes And Allosteric Modulation Of The Calcitonin Receptor By Receptor Activity-Modifying Proteins / S.M. Lee, D.L. Hay, A.A. Pioszak. – DOI 10.1074/jbc.M115.713628 // *J. Biol. Chem.* – 2016. – Vol. 291(16). – P. 8686-8700.

160. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition / P. Lips // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 121, № 1–2. – P. 297–300.

161. Low 25-hydroxyvitamin D levels in children with spina bifida / L.J. Mazur, L.D. Wilsford, L. Rosas, E. Sullivan // *South. Med. J.* – 2016. – Vol. 109, № 1. – P. 31-35.

162. Miyamoto T. Bone remodeling through a phosphate metabolism / T. Miyamoto // *Clin. Calcium.* – 2017. – Vol. 27, № 12. – P. 1745-1749.

163. Muller M.J. Mass spectrometric profiling of vitamin D metabolites beyond 25-hydroxyvitamin D / M.J. Muller, D.A. Volmer // *Clin. Chem.* – 2015. – Vol. 61, № 8. – P. 1033-1048.

164. Murguiaw-Peniche T. Vitamin D, vitamin A, maternal-perinatal considerations: old concepts, new insights, new questions / T. Murguiaw-Peniche // *J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 162. – P. 25-30.

165. Norman A.W. Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future / A.W. Norman, R. Bouillon // *Exp. Biol. Med.* – 2010. – Vol. 235, № 9. – P. 1034-1045.

166. Novel vitamin D receptor mutations in hereditary vitamin D resistant rickets in Chinese / L.M. Lim, X. Zhao, M.C. Chao [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 9. – P. e0138152.

167. Nutritional rickets in Norway: a nationwide register-based cohort study / H.E. Meyer, K. Skram, I.A. Berge [et al.] // *BMJ Open.* – 2017. – Vol. 7, № 5. – P. e015289.

168. Osteocalcin regulates murine and human fertility through a pancreas-bone-testis axis / F. Oury, M. Ferron, W. Huizhen [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2015. – Vol. 123. – P. 2421-2433.

169. Ozono K. Diagnostic criteria for vitamin D-deficient rickets and hypocalcemia / K. Ozono // *Clin. Calcium.* – 2016. – Vol. 26, № 2. – P. 215-222.

170. Palermo N.E. Vitamin D, bone health, and other health benefits in pediatric patients / N.E. Palermo, M.F. Holick // *J. Pediatr. Rehabil. Med.* – 2014. – Vol. 7, № 2. – P. 179-192.

171. Polymorphisms in genes in the RANKL/RANK/OPG pathway are associated with bone mineral density at different skeletal sites in post-menopausal women / P. Tu, P. Duan, R.S. Zhang [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2015. – Vol. 26, № 1. – P. 179–185.

172. Prevalence of vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism during winter in premenopausal Bangladeshi and Somali immigrant and ethnic Finnish women: associations with forearm bone mineral density / M.Z. Islam, H.T. Viljakainen, M.U. Karkkainen [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2012. – Vol. 107, № 2. – P. 277-283.

173. Prevention of nutritional rickets in Nigerian children with dietary calcium supplementation / T.D. Thacher, P.R. Fischer, C.O. Isichei [et al.] // *Bone.* – 2012. – Vol. 50. – P. 1074-1080.

174. Prosser D.E. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D / D.E. Prosser, G. Jones // Trends Biochem. Sci. – 2004. – Vol. 29, № 12. – P. 664-673.

175. Rickets and vitamin D deficiency in Alaska native children / R. Singleton, R. Lescher, B.D. Gessner [et al.] // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. – 2015. – Vol. 28, № 7-8. – P. 815-823.

176. Role of calcium deficiency in development of nutritional rickets in Indian children: a case control study / V. Aggarwal, A. Seth, S. Aneja [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2012. – Vol. 97. – P. 3461-3466.

177. Role vitamin D in hospitalized children with lower tract acute respiratory infections / M. Cebey-López, J. Pardo-Seco, A. Gómez-Carballa [et al.] // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 2016. – Vol. 62, № 3. – P. 479-485.

178. Spiro A. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe / A. Spiro, J.L. Buttriss // Nutr. Bull. – 2014. – Vol. 39, № 4. – P. 322-350.

179. Spontaneous growth and effect of early therapy with calcitriol and phosphate in X-linked Hypophosphatemic Rickets / M. Cagnoli, R. Richter, P. Böhm [et al.] // Pediatr. Endocrinol. Rev. – 2017. – Vol. 15, Suppl. 1. – P. 119-122.

180. Stosstherapy in nutritional rickets: an insight into the safety and efficacy of treatment / D. Chatterjee, M.K. Swamy, V. Gupta [et al.] // Clin. Res. Pediatr. Endocrinol. – 2017. – Vol. 9, № 1. – P. 63-69.

181. Successful medical therapy for hypophosphatemic rickets due to mitochondrial complex I deficiency induced de Toni-Debré-Fanconi Syndrome / S.A. Bowden, H.P. Patel, A. Beebe, K.L. McBride // Case Rep. Pediatr. – 2013. – Vol. 2013. – P. 354314.

182. The polymorphism of type 1 of collagen (COL1A1) gene does not correlate with an increased risk of foot ulcers in patients with diabetes mellitus / G. Tamagno, K. Fedtke, P.H. Kann [et al.] // Exp. Clinical. Endocrinol. Diabetes. – 2015. – Vol. 123, № 4. – P. 240-245.

183. The relationship between maternal and child bone density in Nigerian children with and without nutritional rickets / T.J. Bommersbach, P.R. Fischer, J.M. Pettifor, T.D. Thacher. – DOI 10.1007/s00198-018-4422 // *Osteoporos. Int.* – 2018. – Vol. 27. – P. 1-8.

184. The role of osteocalcin in human glucose metabolism: marker or mediator? / S.L. Booth, A. Centi, S.R. Smith, C. Gundberg // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 9. – P. 43.

185. The role of osteoprotegerin in the pathogenesis of rickets / V.A. Shcherbak, I.G. Kargina, P.P. Tereshkov, N.M. Shcherbak // *World Summit of Pediatrics 4-Th edition, Madrid, 21-24 June 2018.* – P. 38.

186. Thouvenot E. Vitamin D and neurology / E. Thouvenot, W. Camu // *Presse Med.* – 2013. – Vol. 42, № 10. – P. 1398–1404.

187. Uday S. Nutritional rickets and osteomalacia in the twenty-first century: revised concepts, public health, and prevention strategies / S. Uday, W. Högler // *Curr. Osteoporos. Rep.* – 2017. – Vol. 15, № 4. – P. 293-302.

188. Vitamin D deficiency in childhood: old lessons and current challenges / R. Antonucci, C. Locci, M.G. Clemente [et al.] // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2018. – Vol. 31, № 3. – P. 247-260.

189. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-a review of recent evidence / P. Pludowski, M.F. Holick, S. Pilz [et al.] // *Autoimmun. Rev.* – 2013. – Vol. 12, № 10. – P. 976–989.

190. Vitamin D in health and disease: the global threat of vitamin D deficient rickets / W. Kiess, YJ. Bae, M. Penke [et al.] // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 29, № 4. – P. 391-393.

191. Vitamin D intake and season modify the effects of the GC and CYP2R1 genes on 25-hydroxyvitamin D concentrations / C.D. Engelman, K.J. Meyers, S.K. Iyengar [et al.] // *J. Nutr.* – 2013. – Vol. 143, № 1. – P. 17–26.

192. Vitamin D metabolites and/or analogs: which D for which patient? / S. Mazzaferro, D. Goldsmith, T.E. Larsson [et al.] // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 12, № 2. – P. 339-349.

193. Vitamin D receptor mutations in patients with hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets / P.J. Malloy, V. Tasic, D. Taha [et al.] // *Mol. Genet. Metab.* – 2014. – Vol. 111, № 1. – P. 33-40.

194. Vitamin D status and ill health: a systematic review / P. Autier, M. Boniol, C. Pizot, P. Mullie // *Lancet Diabetes Endocrinol.* – 2014. – Vol. 2, № 1. – P. 76-89.

195. Vitamin D status in recently arrived immigrants from Africa and Asia: a cross-sectional study from Norway of children, adolescents and adults / A.R. Eggemoen, K.V. Knutsen, I. Dalen, A.K. Jenum // *BMJ Open.* – 2013. – Vol. 3. – P. e003293.

196. Vitamin D supplementation improves well-being in patients with frequent respiratory tract infections: a post hoc analysis of a randomized, placebo-controlled trial / P. Bergman, A.C. Norlin, S. Hansen, L. Björkhem-Bergman // *BMC Res. Notes.* – 2015. – Vol. 8. – P. 498.

197. Vitamin D: Musculoskeletal health / H.P. Bhattoa, J. Konstantynowicz, N. Laszcz [et al.] // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2017. – Vol. 18, № 3. – P. 363–371.

198. Vitamin D: the more we know, the less we know / M.G. Scott, A.M. Gronowski, I.R. Reid [et al.] // *Clin. Chem.* – 2015. – Vol. 61, № 3. – P. 462-465.

199. Vitamin D - Deficient Rickets in Japan / M. Itoh, J. Tomio, S. Toyokawa [et al.]. – DOI 10.1177/2333794X17711342 // *Glob. Pediatr. Health.* – 2017. – Vol. 4. – P. 155-167.

200. Zerwekh J.E. Blood biomarkers of vitamin D status / J.E. Zerwekh // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2008. – Vol. 87, № 4. – P. 1087-1091.