

Анотація

ЩУБЕЛКА Х. М. Взаємозв'язок цукрового діабету, остеопорозу та вітаміну D в клінічному, епідеміологічному та генетичному аспекті. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина. ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Ужгород, 2020.

Захист відбудеться у спеціалізованій вченій раді ДФ 61.051.0010 ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, МОН України, Ужгород.

Дисертаційна робота присвячена вивченню стану скелету, рівня циркулюючого вітаміну D у пацієнтів з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу у порівнянні зі здоровими жителями Закарпатської області, а також вивченню генетичних детермінант остеопорозу та дефіциту вітаміну D у популяції українців.

Дослідження було проведено в три послідовні етапи:

На першому етапі методом ретроспективного аналізу медичної документації на підставі рентгенівської денситометрії було оцінено стан скелету у 136 стаціонарних пацієнтів ендокринологічного відділення ЗОКЛ ім. А. Новака зі встановленим діагнозом цукровий діабет (ЦД): 1-го типу (n=53; 49,05% жінок (n=26), 51% чоловіків (n=27); середній вік $34,88 \pm 14$ років) та 2-го типу (n=83, 66,2% жінок (n=55) та 33,8% чоловіків (n=28); середній вік $55,36 \pm 9,1$ років), які склали дві дослідні групи. У контрольну групу увійшли 32 практично здорових добровольців (75% жінок (n=24) та 25% чоловіків (n=8); середній вік $46,02 \pm 10,5$ років). Для порівняння стану скелету між групами були використані відносні показники рентгенівської денситометрії (РД, англ. DXA-scan), а саме Т-показник, що являє собою кількість стандартних відхилень від середнього показника мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) молодих здорових жінок та Z-показник, що виражає кількість стандартних відхилень від середнього показника МЩКТ відповідного за віком дорослого населення. За даними тесту ANOVA було

виявлено, що відносні показники рентгенівської денситометрії центрального скелету на рівні поперекового відділу хребта не відрізняються між трьома групами (рівень значимості $p > 0,05$), проте існує статистично значима різниця між цими показниками у трьох групах у периферичному скелеті на рівні кульшових суглобів ($p < 0,01$). Подальший POST HOC тест для виявлення попарних відмінностей між групами для T-показника периферичного скелету показав суттєву різницю його середніх значень між групою ЦД 1-го типу та контрольною групою ($-0,69 \pm 1,39$ та $0,36 \pm 1,16$ відповідно, $p = 0,003962$) та між групою ЦД 1-го типу та ЦД 2-го типу ($-0,69 \pm 1,39$ та $0,17 \pm 1,52$ відповідно, $p = 0,002375$). Статистично достовірної різниці по T-показнику периферичного скелету між контрольною та групою ЦД 2-го типу не виявлено ($p = 0,8937$). Для Z-показника периферичного скелету було встановлено, що існує його суттєва різниця між групою ЦД 2-го типу та контрольною групою ($0,47 \pm 1,31$ та $-0,31 \pm 0,46$ відповідно, $p = 0,0100$) та між групою ЦД 1-го типу та ЦД 2-го типу ($-0,45 \pm 1,20$ та $0,47 \pm 1,31$ відповідно, $p = 0,0001040$). Статистично достовірної різниці по Z-показнику периферичного скелету між контрольною та групою ЦД 1-го типу не виявлено ($p = 0,86169$).

Також, наші дані показали, що загалом жінки мають нижчу МЦКТ як центрального так і периферичного скелету у порівнянні з чоловіками у групі ЦД 2-го типу за середнім T-показником центрального скелету (жінки $-0,862$, чоловіки $0,138$, $p = 0,041$), T-показником периферичного скелету (жінки $-0,180$, чоловіки $0,851$, $p = 0,003$) та Z-показником периферичного скелету (жінки $-0,251$, чоловіки $0,885$, $p = 0,040$). У групі ЦД 1-го типу суттєво нижчі показники у жінок порівняно з чоловіками спостерігаються лише за T-показником периферичного скелету (жінки $-1,10417$, чоловіки $-0,245455$, $p = 0,035$).

Методом корелятивного аналізу в цій когорті було виявлено, що у групі ЦД 1-го типу T-показник як центрального, так і периферичного скелету слабо прямо корелює зі швидкістю клубочкової фільтрації (ШКФ) ($r = 0,3402$ та $r = 0,35843$

відповідно, $p < 0,05$). Також, у цих пацієнтів спостерігається слабка зворотня кореляція між рівнем сечової кислоти та показниками денситометрії (центрального скелета: Т-показник $r = -0,3430$, Z-показник $r = -0,2408$, периферичний скелет: Т-показник $r = -0,3908$, Z-показник $r = -0,3420$, $p < 0,05$). Натомість, у групі ЦД 2-го типу спостерігається пряма кореляція між рівнем сечової кислоти та відносними денситометричними показниками периферичного скелета (Т-показник $r = -0,4055$, Z-показник $r = -0,4206$, $p < 0,05$). Жоден інший клінічний чи біохімічний показник суттєво не корелює з показниками DXA-scan у цій групі.

Нами також проаналізовані результати обстеження даних пацієнтів з ЦД 1-го та 2-го типу на предмет забезпеченості вітаміном D та наявності порушень мінерального обміну шляхом оцінки результатів вимірювання 25(OH)D, ПТГ, кальцію іонізованого та магнію у сироватці крові у порівнянні з контрольною групою.

У обох дослідних групах пацієнтів з цукровим діабетом виявлено суттєво нижчий рівень 25(OH)D у порівнянні з практично здоровим контролем (середній рівень 25(OH)D у групі ЦД 1-го типу $15,5 \pm 3,42$ нг/мл, ЦД 2-го типу $20,62 \pm 4,64$ нг/мл, в контрольній групі $35,14 \pm 4,24$ нг/мл, $p = 0,0034$). Рівень паратиреоїдного гормону суттєво відрізняється між групою ЦД 1-го типу та контрольною групою, у групі ЦД 1-го типу від зворотньо корелює з 25(OH)D ($48,87 \pm 13,9$ пг/мл та $75,20 \pm 14,2$ пг/мл відповідно, коефіцієнт кореляції $r = -0,59$, $p < 0,05$).

Регресійний аналіз показав, що лише Т-показники центрального та периферичного скелета можна частково передбачити за допомогою врахування комбінованого впливу факторів віку, статі, наявності ЦД та індексу маси тіла (ІМТ), але моделі є достатньо слабкими, що свідчить про те, що лише низький рівень варіативності Т-показників залежить від впливу даних факторів.

На другому етапі дослідження, з метою вивчення рівня забезпеченості вітаміном D населення Закарпатської області протягом календарного року та

аналізу корелятивних зв'язків рівня метаболіту 25(OH)D з гормональними та біохімічними показниками було проведене ретроспективне дослідження когорти пацієнтів, які проходили лабораторне обстеження у мережі приватних лабораторій Закарпатської області протягом 2019 року (1824 особи). Жінки у даній когорті склали 85,03% обстежених (n=1551), а чоловіки – 14,97% (n=273). Серед досліджуваних 10,08% (n=184) склали діти (особи віком < 18 років).

В ході даного етапу дослідження були отримані наступні результати: аналіз рівня 25(OH)D у даній вибірці осіб показав суттєву сезонну варіативність показника 25(OH)D: найнижчий рівень спостерігався в лютому (середньомісячне значення 19,44 нг/мл), а найвищий у вересні та липні (26,97 нг/мл та 26,83 нг/мл відповідно). Жінки мали нижчий рівень 25(OH)D у порівнянні з чоловіками (22,45 нг/мл та 26,18 нг/мл відповідно) і ця тенденція спостерігалася практично в кожному місяці року. Взимку 51,74% обстежених мали рівень вітаміну 25(OH)D нижче 20 нг/мл, а 8,12% осіб - нижче 10 нг/мл. Серед осіб обстежених на даному етапі, за 2019 календарний рік в цілому 41,9% населення має рівень метаболіту 25(OH)D нижче 20 нг/мл, а 4,82 % - нижче 10 нг/мл. Серед дитячого контингенту в зимові місяці 46,5% осіб мали 25(OH)D нижче 20 нг/мл, а 4,6% дітей мали рівень нижче 10 нг/мл. Загалом діти мали вищий середньорічний рівень вітаміну D порівняно з дорослими (26 нг/мл проти 22,67 нг/мл, $p < 0,01$).

При аналізі вікових груп дорослих найвищий рівень дефіциту вітаміну D спостерігався у групі осіб старших 60 років (58,7% осіб з рівнем нижче 20 нг/мл та 9,9% осіб з рівнем нижче 10 нг/мл). Серед дітей найбільш поширеним дефіцит вітаміну D є групі дітей 8-12 років (41,86% нижче 20 нг/мл та 4,65% нижче 10 нг/мл). Дефіцит вітаміну D повністю відсутній у групі дітей 0-3 року, що співпадає з періодом активного введення харчових добавок вітаміну D з метою профілактики рахіту за світовими рекомендаціями в Україні[1, 2].

З метою оцінки можливого виявлення асоціації глікованого гемоглобіну та 25(OH)D в даній когорті з 1824 обстежених ми виділили субкогарту дорослих осіб, які мали заміри глікованого гемоглобіну (n=271). Так, особи з рівнем HbA1C вище 6,5% (n=84) мали нижчий рівень 25(OH)D протягом календарного року у порівнянні з особами, в кого HbA1C був нижче 6,5% (n=187): 18,79 нг/мл проти 22,57 нг/мл, $p=0,000800$. Встановлено, що особи з HbA1C>6,5% мають в 2,88 разів більшу вірогідність розвитку дефіциту вітаміну D (ДІ 1,69 - 4,91, $p=0,0001$). Жінки з HbA1C>6,5% мають суттєво нижчий рівень 25(OH)D протягом року у порівнянні з чоловіками в цій групі (17,29 нг/мл проти 22,72 нг/мл, $p=0,0084$).

У групі осіб з HbA1C>6,5% вік не корелює з рівнем вітаміну D у жінок ($r= -0,056$), але негативно корелює у чоловіків ($r=-0,470$), тобто у старших чоловіків з підвищеним глікованим гемоглобіном є тенденція до нижчих рівнів вітаміну D. У даній групі також спостерігається негативна кореляція між рівнем 25(OH)D та ПТГ ($r=-0,7882$), а також загальним холестерином ($r=-0,6378$) та тригліцидами крові ($r=-0,3227$).

В групі осіб, які мали HbA1C<6,5% теж спостерігався суттєво нижчий рівень 25(OH)D серед жінок у порівнянні з чоловіками (21,54 нг/мл та 27,1 нг/мл відповідно, $p=0,00048$).

Також, ми виявили, що рівень метаболіту 25(OH)D негативно корелює з показником інсулінорезистентності (індексом НОМА) у дітей ($r=-0,61$, $p<0,05$), проте така відносно сильна кореляція відсутня у дорослих.

На третьому етапі дослідження ми проаналізували геномні дані 97 українців, які були отримані в ході міжнародного проекту “Геномне різноманіття населення України”. Було виконано повногеномне секвенування геномів 97 зразків людської ДНК на апараті BGISEq500 в лабораторії BGI Шенджен, Китай. Додатково, для валідації отриманих даних ми генотипували 87 з цих зразків за допомогою панелі Illumina Global Screening Array (GSAMD-24v1-0) (<https://grcf.jhmi.edu/wp->

content/uploads/2017/12/infinium-commerce-gsa-data-sheet-370-2016-016.pdf) для 700078 локусів. Дані аналізували за допомогою стандартного аналізу даних мікроматриці Illumina. Для конкретного дисертаційного дослідження визначили частоту пулу однонуклеотидних поліморфізмів, які були описані в літературі, як такі, що асоційовані з рівнем вітаміну D чи мінеральною щільністю кісткової тканини у даній когорті осіб.

Статистичний аналіз частот геномних варіантів (алелей), що асоційовані з рівнем вітаміну D чи остеопорозом в українській популяції показав наступне:

- серед включених в аналіз 22-ох однонуклеотидних поліморфізмів 10 статично достовірно відрізняються за частотою в популяції українців порівняно з популяцією CEU (особи західно- та північно-європейського походження штату Юта, дані яких публічно доступні з проекту “1000 геномів”), $p < 0,05$.

- 7 з цих однонуклеотидних поліморфізмів знаходяться в гені GC, частота їх мінорної алелі (в даному випадку шкідливої алелі, асоційованої з нижчим рівнем 25(OH)D з ефектом сумації) в українській популяції більша порівняно з популяцією CEU. Так, мінорна алель ОНП rs2282679, rs4855, rs3755967 та rs17467825 зустрічається в українців у 1,64 частіше порівняно з європейцями. Ці 4 ОНП повністю корелюють один з одним, що означає знаходження в одній групі зчеплення гену і успадкування повністю залежно один від одного в осіб даної когорти. Дана група зчеплення займає щонайменше 12802 нуклеотиди гена GC. Важливо зауважити, що rs4588 є несинонімічною заміною (амінокислота Thr змінюється на Lys у положенні 436 в екзоні 12), інші три алелі є синонімічними і можуть бути її маркерами. Мінорні алелі даних ОНП були описані як такі, що асоційовані зі зниженим рівнем 25(OH)D в сироватці крові. ОНП rs1155563 корелює з вищеописаними ОНП у групі зчеплення, проте коефіцієнт кореляції є дещо нижчим ($r=0,86$). Це означає, що група зчеплення може досягати позиції 71777771 гена GC, але не у всіх осіб даної когорти .

- варіант rs17216707, в якому навпаки референтна алель T асоційована з нижчими рівнями вітаміну 25(OH)D зустрічається у 0,55 частіше в українській популяції порівняно з популяцією CEU.

- варіант rs10745742, мінорна алель T якого зустрічається у 0,74 рідше у популяції українців.

- статистично значимої різниці у частоті вказаних 10 ОНП, у даному дослідженні між особами з ЦД та особами без ЦД не виявлено.

- лише один ОНП rs1801197 асоційований з мінеральним обміном та МЩКТ відрізнявся за частотою в популяції українців порівняно з популяцією CEU. В українській популяції мінорна алель цього поліморфізму зустрічається у 0,68 разів рідше; Існують суперечливі наукові дані про зв'язок цієї алелі з остеопорозом. Проте, було показано, що генотип TT (дві референтні алелі) асоційований з близько 13-кратно вищим ризиком нефролітіазу у чоловіків.

Наукова новизна отриманих результатів полягає в тому, що вперше в Україні досліджено стан центрального та периферичного скелету в пацієнтів з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу переважно в стані декомпенсації захворювання в умовах стаціонарного лікування. На основі ретроспективного аналізу визначено основні фактори ризику розвитку остеопорозу в даній когорті пацієнтів. Також, вперше досліджено епідеміологічну ситуацію щодо дефіциту вітаміну D, як визначального фактора здоров'я скелету як в жителів Закарпатської області, що зверталися в приватні лабораторні центри, так і в окремих групах обстежених з метою кращого розуміння глобальної ситуації по регіону та з метою порівняння з гормональними та біохімічними показниками. Крім того, також вперше визначено частоту генотипних варіантів, які можуть впливати на циркулюючий рівень вітаміну D та МЩКТ в когорті українців.

Практичне значення одержаних результатів.

В практику роботи ендокринологічного відділення Закарпатської обласної лікарні ім. А. Новака впроваджено рутинне обстеження скелету методом DXA-SCAN для виявлення ранніх ознак остеопорозу та остеопенії в пацієнтів з цукровим діабетом як 1-го, так і 2-го типу. Також, з метою діагностики дефіциту вітаміну D в даних пацієнтів впроваджене рутинне визначення рівня 25(OH)D. Розроблено комплекс рекомендацій для виявлення, менеджменту та профілактики дефіциту вітаміну D та остеопорозу у хворих на цукровий діабет.

Ключові слова: цукровий діабет, остеопороз, вітамін D, геном.

Annotation

SCHUBELKA K. M. Relationship between diabetes, osteoporosis and vitamin D in clinical, epidemiologic and genetic aspects. - Qualifying scientific research on the rights of the manuscript. Dissertation for Doctor of Philosophy Degree in specialty 222 Medicine. State University “Uzhhorod National University”, Uzhgorod, 2020.

The defense will take place in the specialized academic council ДФ 61.051.0010 of SU “Uzhhorod National University”, Ministry of Education and Science of Ukraine, Uzhhorod.

The dissertation aims to the study the skeletal system condition, circulating vitamin D levels in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus in comparison with healthy controls of the Transcarpathian region, as well as the study of genetic determinants of osteoporosis and vitamin D deficiency in the Ukrainian population. The study was conducted in three successive stages:

At the first stage, using the retrospective analysis of medical records on the basis of X-ray densitometry we assessed the condition of the skeletal system in 136 patients of the Endocrinology department of Transcarpathional regional hospital named after. A. Novak diagnosed with diabetes mellitus (DM): type 1 (n = 53; 49.05% of women (n = 26), 51% of men (n = 27); mean age 34.88 ± 14 years) and type 2 (n = 83, 66.2% of women (n = 55) and 33.8% of men (n = 28); mean age 55.36 ± 9.1 years), which comprised two experimental groups. The control group included 32 healthy volunteers (75% women (n = 24) and 25% men (n = 8); mean age 46.02 ± 10.5 years). To compare the bone condition of the skeleton between the groups, the relative indicators of X-ray densitometry (DXA-scan) were used, namely the T-score, which is the number of standard deviations from the mean bone mineral density (BMD) of young healthy women and Z-score, an indicator that expresses the number of standard deviations from the mean BMD age -matched adult population. According to the ANOVA test, it was found that the relative indicators of X-ray densitometry of the central skeleton at the level of the lumbar spine do not differ between the three groups (significance

level $p > 0.05$), but there is a statistically significant difference between these indicators between three groups in the peripheral skeleton at the level of the hip joints ($p < 0.01$).

Subsequent POST HOC test, that aimed to detect pairwise differences between the groups for the T-score of the peripheral skeleton showed a significant difference in its mean values between the group of type 1 DM and the control group (-0.69 ± 1.39 and 0.36 ± 1.16 , respectively), $p = 0.003962$) and between the group of type 1 DM and type 2 DM (-0.69 ± 1.39 and 0.17 ± 1.52 , respectively, $p = 0.002375$). There was no statistically significant difference of the T-scores of the peripheral skeleton between the control and group of type 2 DM ($p = 0.8937$). For the Z-score of the peripheral skeleton, it was found that there is a significant difference between the group of type 2 DM and the control group (0.47 ± 1.31 and -0.31 ± 0.46 , respectively, $p = 0.0100$) and between the group of type 1 DM and type 2 DM (-0.45 ± 1.20 and 0.47 ± 1.31 , respectively, $p = 0.0001040$). There was no statistically significant difference in the Z-score of the peripheral skeleton between the control and group of type 1 diabetes ($p = 0.86169$). Also, our data showed that in general women have a lower BMD of both the central and peripheral skeleton compared to men in the group of type 2 diabetes where average T-score of the central skeleton (women -0.862 , men -0.138 , $p = 0.041$), T-score of the peripheral skeleton T-index (women -0.180 , men 0.851 , $p = 0.003$) and Z-score of the peripheral skeleton (women -0.251 , men 0.885 , $p = 0.040$). In the group of type 1 DM, significantly lower rates in women compared to men are observed only in the T-score of the peripheral skeleton (women -1.10417 , men -0.245455 , $p = 0.035$).

By the correlation analysis in this cohort, it was found that in the group of type 1 DM T-scores of both central and peripheral skeleton weakly correlate with the glomerular filtration rate (GFR) ($r = 0.3402$ and $r = 0.35843$, respectively, $p < 0.05$). Also, in these patients there is a weak inverse correlation between uric acid levels and densitometry scores (central skeleton: T-score $r = -0.3430$, Z-score $r = -0.2408$, peripheral skeleton: T-score $r = -0.3908$, Z-score $r = -0.3420$, $p < 0.05$). Instead, in the group of type 2 DM there is a direct correlation between the level of uric acid and the relative densitometric parameters of the

peripheral skeleton (T-scores $r = -0.4055$, Z-score $r = -0.4206$, $p < 0.05$). No other clinical or biochemical parameters are significantly correlated with DXA-scan scores in this group.

We also analyzed the results of a survey of data from patients with type 1 and type 2 diabetes for their vitamin D status and the presence of mineral metabolism disorder by evaluating the results of measurements of 25(OH)D, PTH, ionized calcium and serum magnesium and compared these to control group. In both experimental groups of patients with diabetes mellitus we found a significantly lower level of 25(OH)D compared to almost healthy control (average level of 25(OH)D in the group of type 1 DM 15.5 ± 3.42 ng/ml, type 2 DM 20.62 ± 4.64 ng/ml, in the control group 35.14 ± 4.24 ng/ml, $p = 0.0034$). The level of parathyroid hormone differs significantly between the group of type 1 DM and the control group, in the group of type 1 DM it inversely correlated with 25(OH)D (48.87 ± 13.9 pg/ml and $75.20 \pm 14, 2$ pg/ml, respectively, the correlation coefficient $r = -0.59$, $p < 0,05$).

Regression analysis showed that only T-scores of the central and peripheral skeleton can be partially predicted by taking into account the combined effects of age, sex, diabetes and body mass index (BMI), but the models are quite weak, indicating that only low fraction of the T-score variability can be explained by these factors.

In the second stage of the study, in order to study the status of vitamin D sufficiency of the population of Transcarpathian region during the calendar year and to analyze the correlations of metabolite 25(OH)D with some hormonal and biochemical parameters, a retrospective study of a cohort of patients undergoing laboratory testing in private laboratories of the Transcarpathian region during 2019 (1824 people) was conducted. Women in this cohort accounted for 85.03% of participants ($n = 1551$), and men - 14.97% ($n = 273$). Among the studied individuals 10.08% ($n = 184$) were children (persons aged <18 years, minors).

During this stage of the study, the following results were obtained: analysis of the level of 25(OH)D in this sample showed significant seasonal variability of 25(OH)D: the lowest level was observed in February (average monthly value of 19.44 ng/ml), and the

highest in September and July (26.97 ng / ml and 26.83 ng / ml, respectively). Women had a lower level of 25(OH)D compared to men (22.45 ng/ml and 26.18 ng/ml, respectively) and this trend was observed in almost every month of the year. In winter, 51.74% of subjects had a level of vitamin 25(OH)D below 20 ng/ml, and 8.12% - below 10 ng/ml. Among those surveyed at this stage, in the 2019 calendar year, a total of 41.9% of the participants had a level of metabolite 25(OH)D below 20 ng/ml, and 4.82% - below 10 ng/ml. Among the pediatric population in the winter months, 46.5% had 25(OH)D below 20 ng/ml, and 4.6% of children had a level below 10 ng/ml. In general, children had a higher average annual level of vitamin D compared to adults (26 ng/ml vs. 22.67 ng/ml, $p < 0.01$).

In the analysis of age groups of adults, the highest level of vitamin D deficiency was observed in the group of people older than 60 years (58.7% of people with levels below 20 ng/ml and 9.9% of people with levels below 10 ng/ml). Among children, the most prevalent vitamin D deficiency in the group of children 8-12 years (41.86% below 20 ng/ml and 4.65% below 10 ng/ml). Vitamin D deficiency was completely absent in the group of children 0-3 years old, which coincides with the period of active administration of vitamin D supplements to prevent rickets according to international recommendations in Ukraine[1, 2].

In order to assess the possible detection of the association of glycosylated hemoglobin (HbA1C) and 25(OH)D in this cohort of 1824 subjects, we identified a subgroup of adults who had measurements of glycosylated hemoglobin ($n = 271$). Individuals with HbA1C levels above 6.5% ($n = 84$) had a lower level of 25(OH)D during the calendar year compared with individuals with HbA1C levels below 6.5% ($n = 187$): 18.79 ng/ml versus 22.57 ng / ml, $p = 0.000800$. It was found that individuals with HbA1C > 6.5% are 2.88 times more likely to develop vitamin D deficiency (CI 1.69 - 4.91, $p = 0.0001$). Women with HbA1C > 6.5% have significantly lower levels of 25(OH)D during the year compared to men in this group (17.29 ng / ml vs. 22.72 ng / ml, $p = 0.0084$).

In the group of people with HbA1C > 6.5%, age does not correlate with the level of vitamin D in women ($r = -0.056$), but is negatively correlated in men ($r = -0.470$), ie older men with higher glycosylated hemoglobin tend to have lower levels of circulating vitamin D. In this group there is also a negative correlation between the level of 25(OH)D and PTH ($r = -0.7882$), as well as total cholesterol ($r = -0.6378$) and blood triglycerides ($r = -0.3227$).

In the group of people who had HbA1C < 6.5%, there was also a significantly lower level of 25(OH)D among women compared to men (21.54 ng/ml and 27.1 ng/ml, respectively, $p = 0.00048$).

Also, we found that the level of metabolite 25(OH)D is negatively correlated with the insulin resistance index (HOMA index) in children ($r = -0.61$, $p < 0.05$), but such a relatively strong correlation is absent in adults.

In the third stage of the study, we analyzed the genomic data of 97 Ukrainians, which were obtained during the international project "Genomic diversity of the population of Ukraine." Complete genome sequencing of the genomes of 97 human DNA samples was performed on a BGISEq500 apparatus at the BGI Laboratory in Shenzhen, China. Additionally, to validate the data obtained, we genotyped 87 of these samples using the Illumina Global Screening Array (GSAMD-24v1-0) panel (https://grcf.jhmi.edu/wp-content/uploads/2017/12/infinium-commerce_gsa-data_sheet-370-2016-016.pdf) for 700078 loci. Data were analyzed using standard Illumina microarray data analysis. For this specific dissertation study, the frequency of a pool of single nucleotide polymorphisms (SNPs) that have been described in the literature as being associated with vitamin D levels or bone mineral density in a given cohort of individuals was studied.

Statistical analysis of the frequencies of genomic variants (alleles) associated with the level of vitamin D or osteoporosis in the Ukrainian population showed the following:

- among the 22 single nucleotide polymorphisms included in the analysis, 10 statically significantly differ in frequency in the Ukrainian population compared to the

CEU population (persons of Western and Northern European descent in Utah, whose data are publicly available from the project "1000 genomes"), $p < 0,05$.

- 7 of these single nucleotide polymorphisms are located in the *GC* gene, the frequency of their minor allele (in this case a harmful allele associated with a lower level of 25(OH)D with the summation effect) in the Ukrainian population is higher than in the CEU population. Thus, the minor allele of SNP rs2282679, rs4855, rs3755967 and rs17467825 is found in Ukrainians 1.64 more often than in Europeans. These 4 SNPs are completely correlated with each other, which means location in the same linkage group and inheritance completely linked to each other in individuals of this Ukrainian cohort. This linkage group occupies at least 12 802 nucleotides of the *GC* gene. It is important to note that rs4588 is a non-synonymous substitution (the amino acid Thr changes to Lys at position 436 in exon 12), the other three alleles are synonymous and may be its markers. Minor alleles of SNP data have been described as associated with reduced serum 25(OH)D levels. SNP rs1155563 correlates with the above-described SNP in the linkage group, but the correlation coefficient is slightly lower ($r = 0.86$). This means that the linkage group can reach position 71777771 of the *GC* gene, but not in all individuals of this cohort.

- variant rs17216707, in which, on the contrary, the reference T allele associated with lower levels of vitamin 25(OH)D occurs 0.55 more often in the Ukrainian population compared to the CEU population.

- variant rs10745742, the minor allele T of which is 0.74 less common in the Ukrainian population.

- a statistically significant difference in the frequency of these 10 ONP, in this study between people with diabetes mellitus and people without diabetes was not found.

- only one SNP rs1801197 associated with mineral metabolism and BMD differed in frequency in the population of Ukrainians compared to the population of CEU. In the Ukrainian population, the minor allele of this polymorphism is 0.68 times less common;

There is conflicting scientific evidence about the association of this allele with osteoporosis. However, it has been shown that the TT genotype (two reference alleles) is associated with a 13-fold higher risk of nephrolithiasis in men.

The scientific novelty of the obtained results is that for the first time in Ukraine the condition of the central and peripheral skeleton in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus was studied, mainly in the state of decompensation of the disease in inpatient treatment. Based on retrospective analysis, the main risk factors for osteoporosis in this cohort of patients were identified. Also, for the first time the epidemiological situation regarding vitamin D deficiency as a determining factor of skeletal health was studied both in the Transcarpathian region, who applied to private laboratory centers, and in certain groups of respondents to better understand the global situation in the region and to compare with hormonal and biochemical parameters. In addition, for the first time, the frequency of genomic variants that may affect the circulating level of vitamin D and BMD in the cohort of Ukrainians was determined.

The practical significance of the obtained results.

In the practice of the endocrinology department of the Transcarpathian Regional Hospital. A. Novak introduced a routine examination of the skeleton by DXA-SCAN to detect early signs of osteoporosis and osteopenia in patients with both type 1 and type 2 diabetes. Also, in order to diagnose vitamin D deficiency in these patients, a routine determination of level 25 (OH) D was introduced. A set of recommendations for the detection, management and prevention of vitamin D deficiency and osteoporosis in patients with diabetes has been developed.

Key words: diabetes mellitus, osteoporosis, vitamin D, genome.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації, які відображають основні положення дисертації

1. Щубелка Х.М., Олексик О.Т., Ганич Т.М. Стан опорно-рухового апарату у хворих на цукровий діабет//Міжнародний ендокринологічний журнал – 13(6) – 2017 – с.450-454. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.13.6.2017.112891>

(Особистий внесок здобувача – провела аналіз джерел літератури, написання та оформлення статті)

2. Щубелка Х.М., Олексик О.Т., Ганич Т.М. Стан забезпечення вітаміном D, рівень кальцію, магнію і паратгормону у хворих на цукровий діабет// Міжнародний ендокринологічний журнал – 13(8) – 2017 – с.570-5734 <https://doi.org/10.22141/2224-0721.13.8.2017.119272>.

(Особистий внесок здобувача – провела аналіз джерел літератури, написання та оформлення статті)

3. Щубелка Х.М., Олексик О.Т., Ганич Т.М. Стан кісткової тканини при цукровому діабеті 1 та 2 типу// Проблеми ендокринної патології. – 2 – 2018 – с.31-38.

(Особистий внесок здобувача – провела збір матеріалу, аналіз джерел літератури, написання та оформлення статті)

4. Щубелка Х.М., Олексик, О.Т., Олексик Т.Х., Гасинець Я.С. Вітамін D у генетичному аспекті та його роль за цукрового діабету 1-го типу// Ендокринологія. – 24(4) – 2019 – с.367-372.

(Особистий внесок здобувача – провела аналіз джерел літератури, написання та оформлення статті)

Публікації апробаційного характеру

5. Х.Щубелка, О.Олексик Рівень вітаміну D та паратгормону у хворих на цукровий діабет. Матеріали XV науково-практичної конференції з міжнародною

участю ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» м. Харків 23-24 листопада 2017 року. - С.115-116.

(Особистий внесок здобувача – провела збір матеріалу, аналіз джерел літератури, написання та оформлення тез)

6. K.Shchubelka. Vitamin D-associated haplotypes in Ukrainian population. Materials of Postgraduate Genomics Symposium, Oakland University. – March 14-16 2019 - p. 18

(Особистий внесок здобувача – провела збір матеріалу, аналіз джерел літератури, написання та оформлення тез)

Апробація результатів дослідження

1. 3-х щоквартальні конференції Закарпатського обласного Товариства ендокринологів, м. Ужгород (травень 2016 рік, доповідь “Патогенетичний зв'язок остеопорозу та цукрового діабету”; вересень 2017 рік, доповідь “Остеопороз у пацієнтів з цукровим діабетом”; грудень 2017 рік, доповідь “Дефіцит вітаміну D у пацієнтів з цукровим діабетом”).

2. XV науково-практична конференція з міжнародною участю ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського НАМН України» м. Харків 23-24 листопада 2017 року, доповідь “Рівень вітаміну D та паратгормону у хворих на цукровий діабет”.

3. Конференція з міжнародною участю “Співпраця як основа ефективної допомоги пацієнтам з ожирінням”, 24.05.2019 Ужгород, доповідь “Вітамін D в генетичному аспекті та його зв'язок з ожирінням”.

4. Міжнародна конференція Європейського Товариства Ендокринологів 21 ESE Postgraduate Training Course on Endocrinology, Diabetes and Metabolism, м. Львів, 4-7 жовтня 2017 року, доповідь “ Case report of bone tuberculosis disguised as osteoporosis in patient with acromegaly and diabetes mellitus ”.

5. Міжнародна конференція Postgraduate Genomics Symposium, Оклендський Університет, США, 6-8 березня 2019 року, доповідь “Vitamin D- associated haplotypes in Ukrainian population”.