

**ДВНЗ “УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ”
МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЩУБЕЛКА ХРИСТИНА МИХАЙЛІВНА

УДК 616.379-008.64:616.153.922

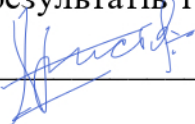
**ДИСЕРТАЦІЯ
ВЗАЄМОЗВ’ЯЗОК ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ, ОСТЕОПОРОЗУ ТА
ВІТАМІНУ D В КЛІНІЧНОМУ, ЕПІДЕМІОЛОГІЧНОМУ ТА
ГЕНЕТИЧНОМУ АСПЕКТІ**

222 МЕДИЦИНА

22 ОХОРОНА ЗДОРОВ’Я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело  Х.М.Щубелка

Науковий керівник
Ганич Тарас Михайлович
доктор медичних наук, професор

Ужгород 2020

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 T-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 (англ. Analysis of variance) 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 МЩКТ 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 скелет: T-показник $r = -0,3430$, Z-показник $r = -0,2408$, периферичний скелет: T-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 скелету (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 скелету 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 групи 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 тригліцеридами 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 сумачії) 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 Т асоційована з нижчими рівнями вітаміну 25(OH)D зустрічається у 0,55 частіше в українській популяції порівняно з популяцією CEU.

- варіант rs10745742, мінорна алель Т 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 ТТ (дві референтні алелі) асоційований з близько 13-кратно вищим ризиком нефролітазу 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 геномних 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 (Analysys of variance), 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 was 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”.

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень.....	20	
ВСТУП.....	22	
РОЗДІЛ 1		
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ		
1.1. Цукровий діабет та остеопороз як коморбідні патології та всебічний аналіз відомостей про зв'язок між ними.....	29	
1.2. Сучасний погляд на роль вітаміну D при цукровому діабеті та остеопорозі з клінічної, біохімічної та генетичної точки зору	42	
1.3. Географічно-кліматична характеристика Закарпатської області в контексті можливого впливу рівня інсоляції на циркулюючий рівень вітаміну D.....	53	
1.4 Сучасні епідеміологічні дані про поширеність дефіциту вітаміну D в світі та Україні, а також рекомендації щодо забезпеченості організму вітаміном .	58	
РОЗДІЛ 2		
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ		
2.1. Загальна методологія.....	66	
2.2. Загальна характеристика груп обстежуваних	67	
2.3. Статистичні методи аналізу результатів дослідження	77	
РОЗДІЛ 3		
АНАЛІЗ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПОШИРЕНOSTІ ОСТЕОПОРОЗУ ТА КОРЕЛЯТИВНИХ ЗВ'ЯЗКІВ ЗМІН У СКЕЛЕТІ З КЛІНІКО- ЛАБОРАТОРНИМИ ПОКАЗНИКАМИ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ.....		79
РОЗДІЛ 4		
ОСОБЛИВОСТІ РІВНЯ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ВІТАМІНОМ D НАСЕЛЕННЯ ЗАКАРПАТСЬКОЇ ОБЛАСТІ ТА АНАЛІЗ ЙОГО КОРЕЛЯТИВНИХ ЗВ'ЯЗКІВ З ГОРМОНАЛЬНИМИ ТА БІОХІМІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМ		
4.1. Аналіз сезонного коливання рівня 25(OH)D та поширеності дефіциту вітаміну D у дорослих та дітей Закарпатської області.....	99	

4.2 Аналіз рівня 25(OH)D в дорослих жителів Закарпатської області у групах залежно від рівня глікованого гемоглобіну	109
--	-----

РОЗДІЛ 5

РЕЗУЛЬТАТИ СТАТИСТИЧНОГО АНАЛІЗУ ЧАСТОТ ГЕНОМНИХ ВАРІАНТІВ (АЛЕЛЕЙ), ЩО АСОЦІЙОВАНІ З ОСТЕОПОРОЗОМ ТА РІВНЕМ ВІТАМІНУ D В УКРАЇНСЬКІЙ ПОПУЛЯЦІЇ	117
АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ	126
ВИСНОВКИ	134
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	136
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	137
ДОДАТКИ	163

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЦД – цукровий діабет

МЩКТ – мінеральна щільність кісткової тканини

ЛПДНЩ – ліпіди дуже низької щільності

ЛПВЩ – ліпіди високої щільності

ЛНЩ – ліпіди низької щільності

HbA1C – глікозильований гемоглобін

DXA-SCAN – двоенергетична рентгенівська абсорбціометрія

ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації

25(OH)D -двадцять-п'ять-гідрокси-вітамін D

ТТГ – тиреотропний гормон

ПТГ- паратиреоїдний гормон

Індекс НОМА – Homeostasis Model Assesment index

ОНП-однонуклеотидний поліморфізм

ОКЛ-обласна клінічна лікарня

ІМТ – індекс маси тіла

МЗ – монозиготні близнюки

ДЗ – дизиготні близнюки

ІОМ – Institute of Medicine (США)

ES – Endocrine Society (США)

СВ – стандартне відхилення

ДІ – довірчий інтервал

ЗОКЛ – Закарпатська обласна клінічна лікарня

ДВНЗ – державний вищий навчальний заклад

РД - рентгенівська денситометрія, синонім DXA–SCAN

СЕУ - особи західно- та північно-європейського походження штату Юта, дані яких публічно доступні з проекту “1000 геномів”

ІФР-1 - інсуліно-подібний фактор росту-1

ГПП 2 - глюкагоноподібний поліпептид-2

ШПІ - шлунковий інгібуючий пептид

7-ДХК - 7-дигідрохолестерол

D2 - ергокальциферол

D3 - холекальциферол

VDR – рецептори до вітаміну D

RXR α - ретиноїдний X-рецептор-альфа

DBP - вітамін D-зв'язуючий білок

GWAS – genome-wide association study, укр. повногеномне асоціативне дослідження

TLR – тол-подібні рецептори

NAM – National Academy of Medicine

ES – Endocrine Society

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Остеопороз та діабет є одними з найпоширеніших хвороб людини. Олбрайт і Рейфенштайн повідомили про їх співіснування ще в 1948 році, але досі зв'язок між ними залишається неясним. Через різний патогенез цукрового діабету 1-го типу та 2-го типу (ЦД 1-го типу та ЦД 2-го типу), не дивно, що не існує єдиної сутності захворювання "діабетичної кістки" як такої. Для розуміння взаємовпливу цукрового діабету та остеопорозу слід розглянути дані захворювання як індивідуально, такі в поєднання між собою.

Отож, щодо ЦД 1-го типу, то у молодих людей, які досягли піку маси кісткової тканини і мають стабільну проміжну тривалість цукрового діабету, результати досліджень є дещо неоднорідними, хоча більшість досліджень вказують на негативний зв'язок ЦД 1-го типу з мінеральною щільністю кісткової тканини (МЩКТ). Було встановлено, що при ранньому початку ЦД 1-го типу в дітей, спостерігається знижене утворення кісткової тканини та неадекватне наростання пікової маси кісток. Саме ці процеси лежать в основі зниженої кісткової маси в пацієнтів з ЦД 1-го типу, зниженої міцності кісток та розвитку остеопорозу в майбутньому[3]. Більшість досліджень показують, що МЩКТ, виміряна методом DXA-scan, є нижчою у пацієнтів з цукровим діабетом 1-го типу, приблизно 50% хворих мають нижчу МЩКТ відносно їхнього віку.

Наразі в наукових базах даних інформація про зв'язок між рівнем вітаміну D, одонуклеотидними поліморфізмами в генах, які відповідають за його метаболізм, МЩКТ у пацієнтів на ЦД 1-го типу є мізерною, особливо з точки зору вивчення цих компонентів у комплексі. Генетичні дослідження такого плану, які коли-небудь проводилися, зазвичай охоплювали когорти здорових дорослих осіб, дітей або жінок у постменопаузі[4, 5].

Надзвичайно цікавими є дослідження на тваринній моделі ЦД (стрептозоцин-індукований діабет у мишей), яке показало, що репарація дефекту кістки відбувалася достовірно уповільнено у мишей з діабетом, тоді як дефіцит вітаміну D у мишей з індукованим цукровим діабетом та здорових мишей не мав

достовірного впливу на період репарації дефекту кістки. Проте, знижена МШКТ в кортикальній та губчастій речовині кістки мишей була сильно потенційована дефіцитом вітаміну D на рівні великогомілкової кістки у місці без дефекту. Як висновок, вчені постановили, що за їх даними дефіцит вітаміну D потенцієє зниження МШКТ у мишей хворих на ЦД, але не впливає на процес репарації кістки при ЦД[6].

Також, за останнє десятиріччя міждисциплінарні дослідження показали, що і пацієнти з ЦД 2-го типу страждають на системне ураження кісткової тканини і також більш схильні до патологічних переломів[7],[8]. Багато наукових праць показують, що ризик патологічних переломів у пацієнтів з ЦД 2-го типу є до 3 разів вищим, залежно від важкості захворювання та місця ураження скелету[9, 10]. До прикладу, в одному з проспективних досліджень була оцінена поширеність нетравматичних переломів серед жінок і чоловіків, де було виявлено, що ЦД 2-го типу був асоційований зі збільшенням частоти переломів на 64% у всіх ділянках скелету в порівнянні зі здоровим контролем, навіть після коригування за МШКТ та іншими протенційними факторами впливу[11].

Тож, актуальність вибраної теми є вочевидь достатньо високою, адже при комплексному обстеженні і лікуванні хворих на цукровий діабет, як 1-го так і 2-го типу варто враховувати наявність різних типів коморбідної патології, зокрема остеопорозу та дефіциту вітаміну D, а також генетичних детермінант, які можуть впливати на розвиток цих патологій, зокрема на етапі розвитку та становлення персоніфікованої медицини.

Зв'язок наукової роботи з науковими планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконана відповідно з планом науково-дослідних робіт ДВНЗ «Ужгородський національний університет» і є фрагментом комплексної наукової теми кафедри факультетської терапії медичного факультету «Поєднана патологія і корекція порушень гомеостазу жителів Карпатського регіону з врахуванням дії несприятливих етіологічних чинників» (номер державної реєстрації 0116U005250). Здобувачка є виконавицею фрагменту наведеної теми. Також, окремий розділ дисертації є фрагментом результатів

міжнародної співпраці ДВНЗ “Ужгородський національний університет” та Пекінського геномного інституту в рамках проєкту “Геномне різноманіття населення України”.

Мета і завдання дослідження

Метою дослідження було виявлення і всебічне вивчення біохімічних, гормональних та генетичних факторів, які впливають на стан кісткової тканини у хворих на цукровий діабет 1-го та 2-го типу; вивчення рівня вітаміну D (за метаболітом 25(OH)D) в жителів Закарпатської області, зокрема у осіб з підвищеним рівнем глікованого гемоглобіну, а також вивчення частоти однонуклеотидних поліморфізмів (ОНП), асоційованих з рівнем вітаміну D та остеопорозом в українців, порівняння їх частоти у осіб з діабетом та у практично здорових осіб.

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні *завдання дослідження*:

1. Вивчити особливості стану скелету у пацієнтів з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу методом двоенергетичної рентгенівської абсорбціометрії (англ. DXA-SCAN). Провести порівняльний аналіз відмінностей показників DXA-SCAN у хворих на цукровий діабет та практично здорових осіб контрольної групи.

2. Вивчити біохімічні показники крові, такі як рівень ліпідів крові (загальний холестерин, тригліцериди), сечової кислоти, глікозильованого гемоглобіну (HbA1C); показник ШКФ у пацієнтів з цукровим діабетом, які пройшли дослідження DXA-SCAN. Провести порівняльний, корелятивний та регресійний аналіз між даними лабораторними показниками та показниками стану скелету у хворих на цукровий діабет та практично здорових осіб.

3. Вивчити рівень паратгормону та показник забезпеченості вітаміном D (25(OH)D), показники мінерального обміну (рівень кальцію загального, кальцію іонізованого, магнію). Провести порівняльний та корелятивний аналіз даних показників у хворих на цукровий діабет та практично здорових осіб.

4. Вивчити рівень вітаміну D в жителів Закарпатської області, які зверталися в приватні лабораторні центри, провести порівняльний, корелятивний та регресійний аналіз даних показників у групах, різних за статтю, місяцем року, рівнем глікованого гемоглобіну та станом інсулінорезистентності за показником індексу НОМА.

4. Вивчити частоту однонуклеотидних поліморфізмів, які були визначені як такі, що впливають на стан кісткової тканини і рівень вітаміну D в українській популяції загалом, а також провести порівняння їх частоти у пацієнтів з цукровим діабетом та практично здорових осіб.

Об'єкт дослідження: стан скелету і рівень остеопорозу у пацієнтів з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу, рівень вітаміну D, геном українців.

Предмет дослідження: клінічні особливості, гормональні, лабораторні особливості пацієнтів з цукровим та супутнім остеопорозом; рівень забезпеченості вітаміном D у пацієнтів з цукровим діабетом; особливості генетичних факторів, асоційованих з рівнем вітаміну D та станом скелету в українській популяції, зокрема у хворих на цукровий діабет та здорових осіб.

Методи дослідження: ретроспективний аналіз медичної документації та виконаних медичних досліджень в когорті пацієнтів із ЦД 1-го та ЦД 2-го типу на стаціонарному лікуванні та практично здорових осіб; ретроспективний аналіз гормональних показників серед осіб, що проходили обстеження на визначення рівня 25(OH)D протягом 2019 року в приватних лабораторних центрах; статистичний аналіз частот геномних варіантів (алелей) в українській популяції, які раніше були визначені як такі, що впливають на рівень 25(OH)D та мінеральну щільність кісткової тканини.

Наукова новизна одержаних результатів. Досліджено стан центрального та периферичного скелету в пацієнтів з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу переважно в стані деконкомпенсації ЦД в умовах стаціонарного лікування. На основі ретроспективного аналізу визначено основні фактори ризику розвитку остеопорозу в даній когорті пацієнтів, що в Україні було зроблено вперше. Для кращого розуміння стану забезпеченості вітаміном D по регіону та з метою

порівняння, вперше досліджено епідеміологічну ситуацію щодо дефіциту вітаміну D, як визначального фактора здоров'я скелету, в Закарпатській області, а також в окремих групах населення. Крім того, вперше визначено частоту геномних варіантів, які можуть впливати на циркулюючий рівень вітаміну D та розвиток остеопорозу в когорті українців.

Практичне значення одержаних результатів.

Для виявлення ранніх ознак остеопорозу та остеопенії в пацієнтів з цукровим діабетом, як 1-го, так і 2-го типу впроваджено рутинне обстеження скелету методом DXA-SCAN на базі ендокринологічного відділення Закарпатської обласної лікарні. Пацієнтам з цукровим діабетом рекомендоване щорічне рентгенівське денситометричне обстеження. Для діагностики дефіциту вітаміну D в даній когорті пацієнтів впроваджене рутинне визначення рівня 25(OH)D. Дітям з підвищеним показником індексу НОМА рекомендоване визначення рівня 25(OH)D в осінній період. Розроблено комплекс рекомендацій для виявлення, менеджменту та профілактики дефіциту вітаміну D та остеопорозу у хворих на цукровий діабет.

Впровадження результатів досліджень в практику

Результати наукової роботи щодо діагностики дефіциту вітаміну D в загальній популяції та когорті пацієнтів з цукровим діабетом впроваджені в практику ендокринологічного відділення ЗОКЛ ім. А. Новака, приватного медичного центру “Закарпатська Ендоклініка”, а також у роботу районних ендокринологів на амбулаторному прийомі пацієнтів.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеною самостійною науковою працею. Авторкою поставлено мету і завдання дослідження, виконано огляд літератури, підбір тематичної медичної документації, статистичну обробку даних, здійснено розробку основних теоретичних і практичних положень роботи. Усі методи дослідження виконані здобувачем особисто. Дисертантка брала участь у лікарській роботі ендокринологічного відділення ЗОКЛ ім. А.Новака від керівництвом завідуючої відділенням. Авторкою написані усі розділи дисертації, сформульовані висновки

та практичні рекомендації. На підставі проведеного дослідження розроблено та впроваджено алгоритм профілактичних заходів щодо корекції дефіциту вітаміну D, виявлення та лікування остеопорозу у пацієнтів з цукровим діабетом.

Апробація результатів дослідження

Основні положення дисертаційного дослідження представлено на наступних конференціях: 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”); 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 “Остеопороз та дефіцит вітаміну D у пацієнтів з цукровим діабетом”; конференція з міжнародною участю “Співпраця як основа ефективної допомоги пацієнтам з ожирінням” 24.05.2019, м. Ужгород, доповідь “Вітамін D в генетичному аспекті та його зв'язок з ожирінням”, 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”; міжнародна конференція Postgraduate Genomics Symposium, Оклендський Університет, США, 14-16 березня 2019 року, доповідь “Vitamin-D associated haplotypes in Ukrainian population”.

Обсяг і структура дисертації. Робота структурована згідно з вимогами наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 “Про затвердження вимог до оформлення дисертації”. Дисертація написана українською мовою, викладена на 167 сторінках машинописного тексту, із яких обсяг основного тексту складає 135 сторінок. Робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій,

списку використаних джерел літератури (227 наукових джерел, 7 кирилицею, 220 латиницею). Ілюстрована 40 таблицями, 31 рисунком, містить 5 сторінок додатків: список публікацій, апробація результатів досліджень, акти впровадження та меморандум про співпрацю з Пекінським геномним інститутом (BGI, Shengen, China).

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Цукровий діабет та остеопороз як коморбідні патології та всебічний аналіз відомостей про зв'язок між ними

Широковідомо, що цукровий діабет та остеопороз є поширеними неінфекційними патологіями, які мають високий ступінь інвалідизації та значно знижують якість життя пацієнтів при невчасному лікуванні. Про їх співіснування відомо ще з середини 20 століття, проте досі тема їх взаємовпливу переживає неабиякий науковий інтерес, оскільки через різний патогенез типів діабету не існує єдиної сутності захворювання “діабетичної кістки”.

Цукровий діабет класифікують на 4 основні типи, а саме цукровий діабет 1-го типу (ЦД 1-го типу), цукровий діабет 2-го типу (ЦД 2-го типу), гестаційний цукровий діабет (ГЦД) та інші специфічні форми цукрового діабету, які включають різноманітні генетичні дефекти у процесах функціонування β -клітин острівців Лангерганса, утворення та дії інсуліну. ЦД 1-го типу, становить 5-10% пацієнтів з цукровим діабетом і обумовлений автоімунним руйнуванням β -клітин острівців Лангерганса[12],[13].

Більш поширеним є ЦД 2-го типу, який складає 90-95% хворих на цукровий діабет. Він виникає у зв'язку з інсулінорезистентністю і відносною інсуліновою недостатністю, яка виникає пізніше внаслідок виснаження β -клітин при постійно підвищеній потребі в інсуліні і його гіперпродукції.

Науковцями були запропоновані певні механізми на пост-рецепторному рівні, які спричиняють інсулінорезистентність, а саме, порушення інсулінрегуляторного фосфорилування/дефосфорилування[14]. При ЦД 2-го типу також зменшена транслокація транспортерів глюкози (напр. GLUT4) внаслідок сигнального дефекту фосфатидилінозитол-3-кінази[15], [16].

Більшість хворих на ЦД 2-го типу страждають від ожиріння, що виникає в процесі прогресування інсулінорезистентності в тканинах-мішенях (жирова

тканина, скелетні м'язи). Ця форма цукрового діабету більше корелює з генетичною схильністю, ніж ЦД 1-го типу[15], [14].

В свою чергу, остеопороз визначається як патологічний стан скелету, для якого характерні знижена міцність кісток, що призводить до підвищеного ризику переломів. Міцність кістки відображає інтеграцію двох основних характеристик: щільність кісткової тканини і якість кісткової тканини. Щільність кісткової тканини виражається у грамах мінералу на одиницю площі або об'єму кістки, і в будь-якої особи детермінується піковою масою кісток і втратою кісткової маси. Якість кісткової тканини включає такі характеристики як архітектура, ремоделювання кістки, накопичення ушкоджень (наприклад, мікропереломів) і мінералізація[17]. Показником, що визначає щільність кісткової тканини є *мінеральна щільність кісткової тканини – МЩКТ* (англ. bone mineral density (BMD)). Зниження МЩКТ не має строго визначеної величини, при якій достовірно виникають патологічні переломи, тому Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) створила робочу групу для створення більш зручних у клінічній практиці відносних показників для визначення остеопорозу, особливо для використання в епідеміологічних дослідженнях. Такими показниками є:

T-показник – кількість стандартних відхилень від середнього показника МЩКТ молодих здорових жінок.

Z-показник - кількість стандартних відхилень від середнього показника МЩКТ відповідного за віком дорослого населення.

Критерії діагнозу остеопорозу за ВООЗ[18] по визначенню МЩКТ та її T-показника наведені в таблиці 1.1.1.

Таблиця 1.1.1

Критерії остеопорозу за ВООЗ

Категорія	T-показник
1	2
<i>Норма</i>	Вище – 1
<i>Остеопенія (низька маса кістки)</i>	Від -1 до - 2,5

1	2
<i>Остеопороз</i>	Нижче -2,5
<i>Виражений остеопороз</i>	Нижче - 2,5 та патологічні переломи

Технічний звіт ВООЗ визначив, що ці показники повинні застосовуватися тільки для постменопаузального остеопорозу у жінок європейського походження[18].

Це створює невизначеність в діагностиці остеопорозу в інших групах осіб, таких як чоловіки, жінки до періоду менопаузи, особи з іншого регіону походження, які разом значно переважають за чисельністю європейських жінок в постменопаузі. Загальне визнання цих критеріїв стало вагомим внеском у визнання остеопорозу, як важливої проблеми медичної науки та практики, проте Міжнародне товариство клінічної денситометрії (анг. International Society for Clinical Densitometry (ISCD)) повинно врегулювати обмеження для застосування критеріїв ВООЗ для різних пацієнтів у клінічній практиці.

Наразі, основні офіційні позиції товариства з даного питання наступні[19]:

1.) У жінок у пременопаузі та чоловіків молодших 50 років Z-показнику надається перевага у порівнянні з T-показником. Так само, це стосується дітей (рівень доказовості C);

2.) Z-показник $< - 2,0$ трактується як “МЩКТ нижче очікуваної для даного віку”, $> - 2, 0$ - “МЩКТ в межах очікуваних величин для даного віку” (рівень доказовості C);

3.) У жінок у постменопаузі і чоловіків старше 50 років T-показнику надається перевага (рівень доказовості B-1).

Обґрунтуванням даних висновків служать результати дослідження, які показують, що у здорових молодих дорослих осіб європейського походження (віком 20-50) є відносно невеликі відмінності між відповідними T-показниками і Z-показниками МЩКТ.

У віці 20 років, різниця між T-показниками і Z-показниками варіює від +0,2 до -0,2. У віці 50 років, різниця між T-показниками і Z-показниками варіює від 0,0 до -1,4, із середнім значенням приблизно – 0,5. Це означає, що у віці 50 років Z-показник -2,0 приблизно еквівалентний T-показнику - 2,5[20].

Відомо, що генетичні компоненти досить сильно впливають на мінеральну щільність кісткової тканини та кісткову архітектуру, а також процеси обміну в кістковій тканині, граючи важливу роль у визначенні ризику остеопорозу та схильності до переломів. Близнюкові та сімейні дослідження підтвердили важливість впливу генетичних факторів на індивідуальну варіативність піку кісткової маси, ІМТ, архітектури кісткової тканини та, як наслідок, на схильність до остеопорозу та пов'язаних з ним переломів. Успадковуваність МЩКТ коливається від 65% до 80 % за даними різних досліджень[21], в той час як успадковуваність ризику переломів складає лише приблизно 30%[22], оскільки ризик переломів є, вірогідно, більш комплексним фенотипом.

У молодих людей, які досягли піку маси кісткової тканини і мають стабільну тривалість цукрового діабету, результати досліджень є дещо неоднорідними, хоча більшість досліджень вказують на негативний зв'язок ЦД 1-го типу з МЩКТ.

Було встановлено, що при ранньому початку ЦД 1-го типу в дітей, спостерігається знижене утворення кісткової тканини та неадекватне наростання пікової маси кісток. Саме ці процеси лежать в основі зниженої кісткової маси в пацієнтів з ЦД 1-го типу, зниженої міцності кісток та остеопорозу в майбутньому[3]. Більшість досліджень показують, що МЩКТ, виміряна методом DXA-scan, є нижчою у пацієнтів з цукровим діабетом 1-го типу, приблизно 50% хворих мають нижчу МЩКТ відносно нормальних показників, характерних для їхнього віку.

Так, іспанське дослідження виявило, що показники МЩКТ є зниженими (Z-показник - 0,61 в поперековому відділі хребта та - 0,38 у шийці стегна) в 32 осіб віком 20-39 років на момент встановлення діагнозу ЦД, 44% пацієнтів мали остеопенію[23].

Проспективне дослідження когорти жінок в постменопаузі (n=32089), штат Айова, США, показало, що у жінок з ЦД 1-го типу в 12 разів частіше зустрічається перелом стегна, ніж у жінок без ЦД. Жінки з ЦД 2-го типу також мали в 1,7 разів вищий ризик переломів стегна в порівнянні з жінками без ЦД.

Знижена щільність кісткової тканини вірогідно не залежить від рівня глікемічного контролю, початку та тривалості діабету[24]. Чоловіки, хворі на ЦД 1-го типу можуть бути більш схильними до розвитку остеопорозу ніж жінки того самого віку[25]. Адекватні рівні естрогенів і/або використання естрогеновмісних оральних контрацептивів також можуть бути причинами більш високої кісткової маси у жінок в порівнянні з чоловіками[26],[27]. Паління негативно впливає на розвиток остеопорозу, як у чоловіків, так і у жінок з ЦД 1-го типу[28]. У голландському дослідженні, яке також показало вищий ризик остеопенії та остеопорозу чоловіків з ЦД 1-го типу (14% чоловіків мали остеопороз при тривалості діабету 9 років), було встановлено асоціацію остеопенії з низьким рівнем в сироватці крові ІФР-1 та маркерів формування кістки[29]. Схожий показник поширеності остеопорозу (13% пацієток) був виявлений в жіночій когорті (n= 31, середній вік 42 роки) із середньою тривалістю ЦД 1-го типу 20,2 років, також він був пов'язаний з більш низькими рівнями 25(ОН)D в сироватці крові[30]. Фінське дослідження, що включало 27 жінок і 29 чоловіків у віці 60 років із середньою тривалістю ЦД 1-го типу 18 років показало, що МЩКТ шийки стегнової кістки була на 6,8% нижчою у жінок та на 7,6% нижчою у чоловіків з ЦД 1-го типу в порівнянні з особами контрольної групи (n = 498) з корекцією щодо статі, віку та ІМТ[31].

Дослідження в США, що оцінювало стан кісток методом рентгенівської денситометрії (в ділянках шийки стегнової кістки та поперекового відділу хребта) і кількісного ультразвукового дослідження п'яркової кістки в 67 жінок в постменопаузі (віковий діапазон - 50-55 років; середня тривалість ЦД 1-го типу - 32 роки) показало, що в порівнянні з відповідними за віком здоровими жінками, МЩКТ була на 3-8% нижчою, а широкосмугове згасання ультразвукового сигналу було на 15% нижчим у жінок з ЦД 1-го типу[32].

Певні дослідження вказують, що наявність мікро- та макросудинних ускладнень як результат тривалого незадовільного глікемічного контролю є кращим предиктором зниженої МЩКТ ніж тривалість цукрового діабету. Це включає ретинопатію, периферичну нейропатію, нефропатію та ураження периферичних судин. Як ретинопатія, так і периферична нейропатія можуть негативно впливати на МЩКТ через знижену фізичну активність, порушену нервово-м'язову взаємодію, вони також можуть підвищувати ризик падінь у пацієнтів. На підтримку цієї гіпотези виступає дослідження, що включало 57 пацієнтів з ЦД 1-го типу (середній вік - 35 років, середня тривалість ЦД - 17 років), яке показало, що остеопороз та остеопенія були виявлені у 72% пацієнтів з ретинопатією і лише у 53% без ретинопатії[33]. Враховуючи, що ретинопатія зустрічається рідше у пацієнтів з ЦД 1-го типу, які знаходяться на інтенсивній інсулінотерапії, було зроблено висновок, що інсулін може позитивно впливати на кістковий метаболізм. Також, прихована нефропатія (з мікроальбумінурією >300 мг/дл)[28, 34], периферична нейропатія, виявлена методом біотезіометрії (за визначенням порогу вібраційної чутливості)[35], і периферичне ураження судин (за статусом пульсу)[27] були асоційовані зі зниженою МЩКТ у пацієнтів з ЦД 1-го типу.

За останнє десятиріччя міждисциплінарні дослідження показали, що пацієнти з ЦД 2-го типу страждають на системне ураження кісткової тканини і також є більш схильними до патологічних переломів[7],[8].

Проведені дослідження показали, що ризик патологічних переломів у пацієнтів з ЦД 2-го типу є до 3 разів вищим, залежно від важкості захворювання та місця ураження скелету[9, 10]. Наприклад, в одному з проспективних досліджень була оцінена поширеність нетравматичних переломів серед жінок і чоловіків, де було виявлено, що ЦД 2-го типу був асоційований зі збільшенням частоти переломів на 64% по всіх ділянках скелету в порівнянні зі здоровим контролем, навіть після коригування за мінеральною щільністю кісткової тканини (МЩКТ) та іншими факторами[11]. Аналогічно, дослідження, яке включало більше ніж 93000 жінок в постменопаузі продемонструвало, що у

жінок з ЦД 2-го типу ризик переломів був на 20% вищим у порівнянні з пацієнтками без цукрового діабету, незважаючи на вищу МЩКТ[36]. Важкість захворювання може негативно впливати на ризик переломів, про що свідчать результати дослідження серед чоловіків з ЦД 2-го типу, які лікуються препаратами інсуліну. Ризик переломів нехребетних ділянок був вищим в 2 рази в порівнянні з чоловіками з нормоглікемією[37].

Серед переломів периферичного скелету, переломи стегна були найбільш широко вивченими у хворих на цукровий діабет. Систематичний огляд 16 незалежних досліджень, які оцінювали 836 941 пацієнтів і 139 531 випадки переломів показав, що ЦД 2-го типу був пов'язаний з 2-3 рази вищим ризиком перелому стегна як у чоловіків, так і у жінок, у порівнянні з особами без діабету[10]. Крім того, когортне проспективне дослідження в Китаї на 10 257 пацієнтах показало в 2 рази вищий ризик перелому стегна у пацієнтів з ЦД 2-го типу в порівнянні зі здоровими особами без діабету[38].

Нагадуючи класичні остеопоротичні переломи, у пацієнтів з ЦД 2-го типу зустрічаються переломи ультрадистального відділу променевої кістки, переломи грудного та поперекового відділу хребта, проксимального відділу стегнової кістки та субкапітального відділу плечової кістки. Ці переломи зазвичай виникають після незначної травми. Також, ці пацієнти більш схильні до таких переломів нижніх кінцівок, як переломи щиколоток та метатарсальні переломи[39].

Розглядається кілька патофізіологічних та клінічних особливостей, що відрізняють остеопороз у пацієнтів з діабетичним ураженням кісток і постменопаузальним / віковим остеопорозом. Однією з таких відмінностей є високий ризик переломів при відносно нормальній або навіть збільшеній МЩКТ у пацієнтів з ЦД 2-го типу, при цьому у пацієнтів з постменопаузальним остеопорозом високий ризик переломів асоціюється з низькою МЩКТ. Так, Роттердамське дослідження (наймасштабніше дослідження з вимірюванням МЩКТ та описання даних про переломи), що включало 792 літніх пацієнтів з ЦД 2-го типу (483 жінок і 309 чоловіків, середній вік: 74 років) та 5863 осіб

контрольної групи підтвердило, що присутність лише одного ЦД вже підвищує ризик переломів (відносний ризик: 1.33) незважаючи на більш високу МЩКТ в шийці стегнової кістки та поперековому відділі хребта. Подальший аналіз даних також показав підвищений ризик переломів спостерігається тільки в тих пацієнтів, які знаходяться на медикаментозній терапії ЦД 2-го типу, та більший низький ризик у пацієнтів з порушеною толерантністю до глюкози[40]. Аналогічне дослідження, що оцінювало 566 пацієнтів (243 жінок і 323 чоловіків) з ЦД 2-го типу в середині їх сімдесятиріччя повідомило про 4-5% вищу МЩКТ в на рівні стегнових кісток цих пацієнтів, незалежно від статі і етнічної приналежності. У жінок в цьому дослідженні із середнім віком 75 років МЩКТ в шийці стегна на 11% вища, та в поперековому відділі хребта на 8% вища в порівнянні зі здоровим контролем[41].

Японські дослідники показали, що ділянки скелету, які в основному складаються з кортикальної кістки, такі як дистальний відділ променевої кістки насправді можуть мати менші показники міцності кістки в пацієнтів з ЦД 2-го типу, із середнім значенням Т-показника нижче на 0,8 у 64 чоловіків і на 1,1 в 81 жінок у порівнянні з 95 особами контрольної групи без ЦД 2-го типу[42].

Наразі, методи оцінки ризику переломів в основному базуються на використанні Т-показника МЩКТ. ВООЗ розробила спеціальний калькулятор FRAX (англ. Fracture risk assessment tool), який враховує комбінацію таких факторів, як МЩКТ, вік, стать, попереднє лікування глюкокортикостероїдами, патологічні переломи в анамнезі для розрахунку ризику переломів[43]. Проте, деякі дослідження показали, що методи розрахунку ризику переломів за цими методиками недооцінюють можливість виникнення патологічних переломів у хворих на цукровий діабет 2-го типу[44],[45]. Такі дані свідчать, що слід розглянути включення ЦД у фактори ризику цього калькулятора.

Цікавими є дані, які показують, що рівень сечової кислоти в сироватці крові позитивно корелює з мінеральною щільністю кісткової тканини, вимірною методом DXA-scan. Так, дослідження, яке аналізувало дані 621 чоловіків з ЦД 2-го типу, виявило, що вищі рівні сечової кислоти асоційовані з нижчим рівнем

остеопорозу в цій когорті. В даному дослідженні рівень сечової кислоти корелював з індексом маси тіла. Вчені припускають, що сечова кислота має антиоксидантні властивості, тим самим знижуючи остеопоротичні процеси в кістці[46]. Схоже дослідження, яке зосереджувалося на жінках з ЦД 2-го типу у постменопаузі показало, що рівень сечової кислоти в сироватці крові був суттєво та зворотно пов'язаний з наявністю діабетичних остеопоротичних переломів незалежно від усіх інших факторів ризику[47]. Частково цей феномен пов'язують з ефектом взаємовпливу факторів, оскільки рівень сечової кислоти позитивно корелює з усіма факторами ожиріння, а ті в свою чергу з МЩКТ[48]. Цікаво, що дослідження у пацієнтів з подагрою, показують вищий рівень остеопорозу в цій когорті, що можливо пов'язують із запаленням через вісь ІЛ-6 та внаслідок використання аллопуринолу[49]. З наведених даних помітно, що причинно-наслідкові зв'язки між сечовою кислотою і щільністю кісткової тканини можуть бути дозозалежними і можливо, що сечова кислота накопичується в кістковій тканині, і тим підвищує її рентгенологічно видиму щільність, проте це не забезпечує якість кістки, оскільки дослідження різняться в свої висновках[50].

Також, дослідження показали, що МЩКТ осьового скелету негативно корелює з тривалістю ЦД 2-го типу[51], крім того кортикальна МЩКТ зворотно корелює із середнім рівнем HbA1C у сироватці крові[42].

Розглядаючи патогенез змін в кістковій тканині при цукровому діабеті, можна виділити наступні механізми:

1. Інсулін має метаболічний і мітотичний ефект на остеобласти. Такі дані на підтримку гіпотези щодо прямої анаболічної дії інсуліну були отримані з досліджень на тваринних моделях цукрового діабету.

У мишей зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом були виявлені дефекти мінералізації кісток, підтверджені зниженим співвідношенням кальцій/фосфор у кістковому матриксі і зниженням досконалості кристалів гідроксиапатиту[52]. Імуно-гістохімічні дослідження на мишах зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом також показали виражене

зниження рівня інсуліноподібного фактору росту-1 (ІФР-1), зниження кількості рецепторів до ІФР-1 та інсуліну в скелетних центрах росту, а також виражені гістологічні зміни в кістковій тканині та затримку росту. При терапії інсуліном кількість рецепторів до інсуліну відновлювалась до нормального рівня, при тому що кількість рецепторів до ІФР-1 відновилась лише частково[53]. Таким чином, дані моделі на тваринах показують, що деякі зі скелетних ефектів інсуліну можуть бути опосередковані через систему сигнальної дії ІФР-1. Проте, на тваринних моделях, ІФР-1 має різні ефекти на компактну та губчасту кістки, і біологічний вплив на скелет залежить від того, чи ІФР-1 лише локально надмірно експресується в кістковій тканині чи є системно підвищеним. При надлишковій експресії в остеобластах під впливом гену - промотору колагену I типу, стегнові кістки трансгенних тварин були довші та мали більшу ширину кортикального шару кістки та більшу площу поперечного перерізу, в той час як губчаста речовина кістки істотно не відрізнялася[54].

Конгенний штаб мишей з близько 21-відсотково нижчим системним рівнем ІФР-1 в сироватці крові мав на 50% нижчий об'єм губчастої речовини кістки, меншу кількість трабекул в стегновій кістці в зв'язку з інгібуванням диференціювання остеобластів в порівнянні з контрольною групою мишей з нормальним сироватковим рівнем ІФР-1. В цьому дослідженні ступінь порушення в губчастій кістці була вищою ніж у компактній кістці[55].

Дані досліджень на людях підтверджують концепцію, в якій знижений рівень інсуліну при ЦД 1-го типу може призвести до порушення функції остеобластів. Дослідження проведене серед 100 дітей і молодих людей з ЦД 1-го типу показало, що рівень ІФР-1 в сироватці крові (Z-показник -0,8 у хлопчиків і -0,6 у дівчаток) і біохімічні маркери утворення кісткової тканини, такі як остеокальцин (Z-показник -0,6 у хлопчиків і у дівчаток -0,7) були нижчі у пацієнтів з ЦД 1-го типу в порівнянні зі здоровими особами. Крім того, рівень ІФР-1 в сироватці крові позитивно корелював з показниками утворення кісткової тканини (проколагеном типу I пропептидом, лужною фосфатазою,

остеокальцином) в пацієнтів з ЦД 1-го типу, але така кореляція була відсутня у здорових людей[56].

З гіпотезою, щодо впливу на скелет інсулінової недостатності, можна співставити результати дослідження, в якому інтенсивна інсулінотерапія курсом 7 років мала позитивний ефект на кістковий метаболізм. В даному дослідженні брали участь 57 пацієнтів з ЦД 1-го типу (середній вік 29 ± 9 років), яким була призначена інтенсивна інсулінотерапія і динамічне спостереження протягом послідуєчих 7 років. Протягом цього періоду МЩКТ в поперековому відділі хребта та шийці стегна цих пацієнтів залишалася стабільною, а кісткова резорбція (за ферментом тантрат-резистентною кислотою фосфатазою) знизилася на 38%[33].

В поточних даних експериментальних моделей, в яких фіксувалося порушення сигнальної дії інсуліну спостерігалися як метаболічні порушення (ожиріння та інсулінорезистентність), так і порушення в кістковій тканині (низька маса кісткової тканини)[57]. Варто зазначити, що ЦД 1-го типу та ЦД 2-го типу мають якісно різні ефекти на кісткову тканину внаслідок різних рівнів інсуліносекреції (гіпоінсулінемія проти гіперінсулінемії)[58].

Високі рівні глюкози призводять до накопичення кінцевих продуктів глікозилювання в органічному матриксі кісткової тканини в результаті процесу, відомого як неферментативне глікозилювання (реакція Майярда)[59],[60]. Наприклад, *in vitro* культивування губчастої речовини кістки людини в розчині рибози, яке імітувало діабет-асоційовану гіперглікемію, показало збільшення вмісту продуктів глікозилювання і мало негативний вплив на якість кісткового матриксу, збільшувало крихкість колагену, знижуючи здатність кісткового матриксу до розсіювання енергії і збільшення мікропошкоджень[61], [62], [63].

Класичним продуктом глікозилювання, що виявляється на ранніх стадіях діабету є гемоглобін А1С. На відміну від нормального ферментативного перехресного зшивання колагену (за участі піридиноліну), яке дає кісткам їх міцність, зшивання за участю продуктів глікозилювання призводить до біомеханічно більш крихкої кістки, яка втратила свою міцність і здатність

деформуватися під навантаженням[63]. Пентозидин, найбільш вивчений серед кінцевих продуктів глікозилювання, при вимірюванні в сечі, був асоційований зі збільшенням клінічної частоти переломів на 42% у хворих на ЦД 2-го типу[64].

3. Глюкозурія спричиняє кальційурію, а також високий рівень глікемії позначається на обміні вітаміну D та паратиреоїдного гормону (ПТГ). Дослідження на восьми здорових жінках показало, що навантажувальний тест з оральним прийомом глюкози спричиняє гіпокальціємію та гіперкальційурію у зв'язку з пригніченням секреції ПТГ[65]. Також дослідження на 78 госпіталізованих пацієнтах з декомпенсованим ЦД 2-го типу показало, що покращення глікемічного контролю призводить до зниження екскреції кальцію та фосфору з сечею, знижує рівень $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ в сироватці крові, підвищує рівень фосфору в крові, але не має ефекту на рівень кальцію та ПТГ[66].

4. Недостатність вітаміну D при цукровому діабеті є одним з найважливіших факторів впливу на скелет. Перехресне дослідження, яке включало 5677 жителів Нової Зеландії (полінезійці і європеїди) показало нижчі рівні вітаміну $25(\text{OH})\text{D}$ в сироватці крові в осіб з вперше виявленим ЦД 2-го типу та порушеною толерантністю до глюкози ($n = 238$) в порівнянні з контрольною групою з врахуванням факторів віку, статі, та етнічної приналежності[67].

4. Зниження рівня амліну в хворих на ЦД - іншого гормону, що секретується β -клітинами. Було виявлено, що амлін стимулює проліферацію остеобластів та хондроцитів, та пригнічує проліферацію остеокластів. Відомо, що рівень амліну є зниженим у пацієнтів з ЦД 1-го типу[68]. У щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД 1-го типу, при якому підшлункову залозу частково руйнується, введення амліну підтримувало кісткову масу, інгібувало рівень біохімічних маркерів резорбції кістки, а також підвищувало біохімічні маркери формування кістки[69]. Також, фенотип мишей з дефіцитом амліну характеризується підвищеною остеопенією, було досліджено, що амлін пригнічує остеокластогенез *in vitro*[70].

5. Зниження МЩКТ також спостерігається в осіб з низьким індексом маси тіла (ІМТ), що є типовим для пацієнтів з ЦД 1-го типу. Ці особи не зазнають

достатнього механічного навантаження на кістки та впливу адипоцитокінів, що відвищують МЩКТ. Деякі дослідження показують, що ожиріння певною мірою захищає скелет від остеопорозу. Такі висновки базуються на тому, що МЩКТ та ІМТ позитивно корелюють у пацієнтів з ЦД 2-го типу[51, 71], а також, що ІМТ в пацієнтів з ЦД 2-го типу негативно пов'язаний з наявністю остеопорозу[72]. Ці спостереження вказують на те, що, на додачу до механічного навантаження, жирова тканина і її цитокіни («адипоцитокіни»), такі як лептин, резистин, і адипонектин можуть збільшувати МЩКТ. Адипонектин являє собою гормон, що синтезується в жировій тканині. Він регулює енергетичний гомеостаз і володіє протизапальними і антиатерогенними ефектами. На відміну від інших адипокінів, таких як лептин, рівень адипонектину знижується при ожирінні та ЦД 2-го типу. Одне з досліджень виявило зворотний зв'язок між рівнем адипонектину в сироватці крові та МЩКТ у різних ділянках скелету у хворих на ЦД 2-го типу[73]. Адипокін лептин має центральний і периферичний взаємопротилежні механізми впливу на скелет. На дослідних тваринах центральний ефект лептину проявляється у пригніченні формування кісткової тканини через негативний вплив на проліферацію остеобластів. Є дослідження, які переконливо показують, що цей ефект залежить від діяльності симпатичної нервової системи і включає механізми молекулярного біологічного годинника, який регулює циркадні ритми [74, 75]. Проте, периферичне призначення лептину сприяло пригніченню остеопорозу, асоційованого з оварієктомією у щурів[76]. Дослідження *in vitro* показують, що периферична дія лептину пов'язана з впливом на рецептори, які знаходяться на остеобластах[77]. Лептин стимулює остеобластогенез[77], і пригнічує остеокластогенез [78].

6. Роль інших панкреатичних і кишкових гормонів в регулюванні метаболізму кістки теж активно досліджується. Зокрема, глюкагоноподібний поліпептид-2 (ГПП 2) і шлунковий інгібуючий пептид (ШІП) імовірно мають потужні остеотропні ефекти. Рецептори до ГПП 2 знаходяться на остеокластах, введення фізіологічної дози ГПП 2 знижує резорбцію кістки[79]. Рецептори до ШІП, розташовані на остеобластах, а їх активація пов'язана з підвищеною

експресією лужної фосфатази і секрецією колагену I типу[80]. У той час як ШПП не має гострих ефектів в організмі людини, проте він перешкоджає втраті кісткової тканини у дослідних мишей, що індукована оваріоектомією[81].

Отже, враховуючи сумарну теоретично-експериментальну базу описаних вище досліджень, можна сказати, що цукровий діабет та остеопороз часто є коморбідностями зі складними патофізіологічними взаємозв'язками, які необхідно враховувати при діагностиці і комплексному лікуванні пацієнтів різного ступеня важкості цукрового діабету і стадії ураження скелету.

1.2. Сучасний погляд на роль вітаміну D при цукровому діабеті та остеопорозі з клінічної, біохімічної та генетичної точки зору

Вітамін D є важливим жиророзчинним вітаміном і стероїдним прогормоном, який відіграє ключову роль у мінералізації кісток. Він регулює концентрацію кальцію та фосфору в крові та позаклітинній рідині, а також забезпечує їх адекватну концентрацію для утворення гідроксиапатиту кальцію у кістковому матриксі. Дефіцит вітаміну D давно вивчений з точки зору причинності при рахіті у дітей та остеомалаяції у дорослих[82].

На сьогоднішній день ефекти вітаміну D пов'язують не тільки з розладами опорно-рухового апарату, але і з такими поширеними захворюваннями як рак, автоімунні, запальні, інфекційні та серцево-судинні хвороби та цукровий діабет[83-85].

Важливо зауважити, що за даними багатьох досліджень при більш високому рівні сироваткового метаболіту 25(OH)D спостерігається зниження захворюваності на переломи неverteбральних ділянок та переломи стегна. Вплив харчових добавок вітаміну D на ризик переломів вивчали переважно в когортах чоловіків та жінок віком вище 65 років. Нещодавній мета-аналіз показав, що вітамін D у дозах від 10 до 20 мкг на добу не мав явного ефекту на ризик переломів[86], інший мета-аналіз також виявив, що вітамін D сам по собі виявляється малоефективним у запобіганні переломів стегна (дев'ять досліджень, 24 749 учасників, 1,15 відносний ризик, 95% ДІ 0,99–1,33), переломи

хребців (п'ять досліджень, 9138 учасників, 0,90 відносний ризик, 95% ДІ 0,42–1,92) або будь-якого нового перелому (10 досліджень, 25 016 учасників, 1,01 відносний ризик, 95% ДІ 0,93–1,09)[87]. Однак у дослідженні випадок-контроль гніздового типу тривалістю 7,1 року було проведено порівняння базових рівнів сироваткового 25(ОН)D у 400 пацієнтів із переломом стегна та 400 осіб контрольної групи, і було виявлено, що нижчі концентрації 25(ОН)D у сироватці крові були пов'язані зі збільшенням частоти випадків переломів стегна. Важливо, що дане збільшення ризику переломів було незалежним від кількості падінь, загальної слабкості, функції нирок та рівня стероїдних гормонів, але частково опосередковувалось посиленням резорбції кісток. Таким чином, концентрація 25(ОН)D у сироватці крові ≤ 20 нг/мл була пов'язана зі збільшеним ризиком переломів стегна [88].

Відомо, що вітамін D схожий за структурою зі стероїдними гормонами, і його дія також реалізується вплив на ядерні рецептори, схожі на рецептори до гормонів щитовидної залози, статевих та надниркових залоз. Як згадувалося вище, його фізіологічні ефекти поширюються на широкий спектр тканин, оскільки рецептори вітаміну D (VDR) експресуються на багатьох типах клітин, включаючи імунні, а саме дендритні клітини, макрофаги та Т-лімфоцити. Цей факт привертає особливу увагу, оскільки є багатообіцяючим з точки зору розробки нових терапевтичних підходів[89],[90].

Вітамін D існує у двох основних формах: вітамін D2 та вітамін D3. Так D2 (ергокальциферол) поступає в організм з продуктами харчування, тоді як D3 (холекальциферол) переважно утворюється ендогенно: шляхом фотохімічної реакції у шкірі людини з відповідних попередників. Внаслідок цієї реакції, під впливом ультрафіолетових променів 7-дигідрохолестерол (7-ДХК, присутній у шкірі) перетворюється у превітамін D3, і лише потім шляхом термічної ізомеризації у вітамін D3 (рисунок 1.2.1)[91]. Подальше гідроксилування вітаміну D3 відбувається в печінці завдяки ферменту 25-гідроксилазі (кодуючий ген *CYP2R1*), внаслідок чого утворюється 25-гідроксивітамін D (25(ОН)D3, кальцидіол, частіше зустрічається скорочення 25(ОН)D). Саме він є головним

циркулюючим метаболітом вітаміну D в організмі людини, за показником якого в сироватці крові визначається рівень забезпеченості вітаміном D в організмі людини. Послідує гідроксилування 25(OH)D 1- α -гідролазою (кодує ген *CYP27B1*) в нирках або в екстраренальних клітинах, таких як макрофаги, призводить до утворення біологічно активного 1,25-дигідроксивітаміну D₃ (1,25(OH)₂D₃, кальцитріол)[92]. Метаболіт 1,25(OH)₂D₃ має здатність зв'язуватися з високою спорідненістю із VDR, який гетеродимеризується з ретиноїдним X-рецептором альфа (RXR α). Комплекс VDR-RXR α надалі переміщується в ядро і зв'язується з елементами відповіді вітаміну D (VDRE) в ділянках регуляторних елементів генів-мішеней. Вітамін D реалізує свій геномний ефект через залучення низки факторів транскрипції саме у цих локусах, що регулює широкий спектр біологічних процесів, включаючи всмоктування кальцію та фосфатів, проліферацію та диференціацію клітин[93]. Широкий спектр фізіологічної дії вітаміну D пояснюється тим, що в геномі людини існують приблизно 2700 сайтів, що зв'язуються з VDR[9]. В організмі існує також зворотна регуляція рівня метаболітів вітаміну D: ензим 24-гідроксилаза (ген *CYP24A1*) обмежує надлишок концентрацій обох метаболітів (25(OH)D і 1,25(OH)₂D₃) шляхом метаболічної деградації. У кровообігу більшість метаболітів вітаміну D транспортуються до різних цільових органів (тканин/клітин) у стані зв'язаному з білком-транспортером - вітамін D-зв'язуючим білком (англ. DBP). Мегалін і кубілін, що являються двома мультигліандними ендоцитарними рецепторами, відповідають за інтерналізацію 25(OH)D зв'язаного з DBP всередину клітин [94].

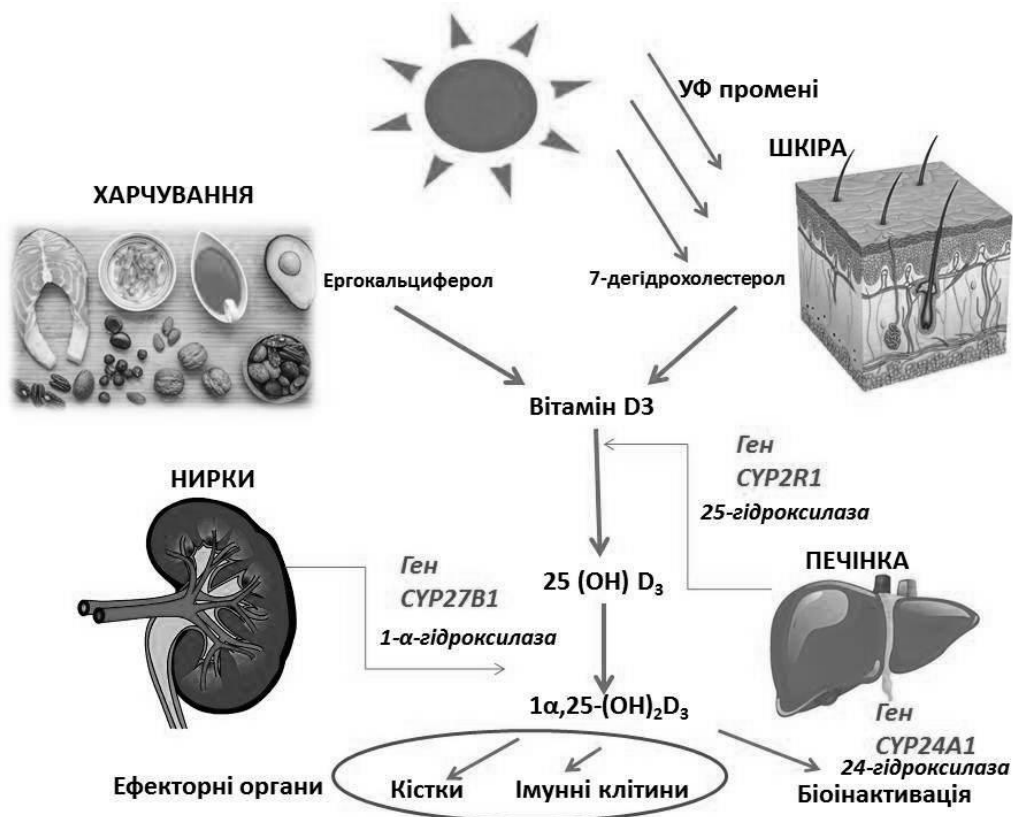


Рисунок 1.2.1. Метаболізм вітаміну D та основні гени, які його контролюють

Циркулюючий рівень вітаміну D, як і інші фенотипові ознаки, залежить як від генетичних факторів, так і від факторів навколишнього середовища. Так, успадкованість циркулюючих рівнів вітаміну D була кількісно визначена в кількох близнюкових дослідженнях і коливається від менш ніж 20% до вище, ніж 85%[95],[96]. Перше таке дослідження було проведено Хантер та співавторами, в якому взяли участь 1068 пар близнюків (384 монозиготних (МЗ) та 684 дизиготних (ДЗ), з них - 98,3% жінок європейського походження з когорти Twins UK). Воно визначило успадкованість 43% для 25(OH)D і 65% для 1,25(OH)D₃. Це дослідження було також контрольоване щодо таких факторів впливу як індекс маси тіла та вік [95]. Для порівняння, Карол та співавтори визначили успадкованість на рівні 70% для 25(OH)D в когорті 255 близнюків чоловічої статі (155 МЗ та 100 ДЗ) із забором крові в зимовий період[96]. В когорті підлітків, середній вік яких склав 16 років Міллс та співавтори встановили

успадковуваність 86% для 25(OH)D (188 дорослих пар близнюків (70 МЗ та 118 ДЗ))[97].

Така варіативність у результатах досліджень може бути пояснена такими коваріантами як стать, вік та сезон забору крові[98], оскільки рівні вітаміну D різняться в різні пори року, а також різним підходом до статистичної моделі та аналізу даних.

Результати попередніх досліджень шляхом вивчення можливих генів–кандидатів (базуються на виборі однонуклеотидних поліморфізмів (ОНП) або генів, які вже були описані в літературі як потенційно залучені у патогенез хвороби) були невідповідні один одному, оскільки мали недостатню статистичну силу, включали різні етнічні групи та методи вимірювань. Вони фокусувалися в основному на генах, продукти експресії яких залучені у вищеописаний процес синтезу вітаміну D: *CYP2R1* та *CYP27B1*, два гени, які відповідають за гідроксилування вітаміну D та його активацію; груповий компонент (*GC*), ген, що кодує вітамін D-зв'язуючий білок; *VDR*, ген, який кодує рецептор до вітаміну D; *CYP24A1*, ген, що відповідає за синтез гідроксилази, яка біоінактивує 1,25-дигідроксिवітамін D3[99].

Перше генетичне дослідження методом повногеномного скринінгу (англ. genome-wide association study(GWAS)) щодо асоціацій генетичних варіантів та дефіциту вітаміну D було проведено в 2007 році. Оскільки воно було лімітоване за кількістю осіб та покриттям, було очікувано, що жоден ОНП не пройшов поріг значимості $p = 5 \times 10^{-8}$ для таких досліджень[100].

Пізніше, були проведені набагато масштабніші GWAS-мета-аналізи, які включали велику кількість осіб європейського походження[101, 102]. Перший з них нараховував 4 501 осіб відібраних із 6 когорт в першій фазі та 2 221 осіб з 3 когорт в другій фазі. Другий мета-аналіз, проведений консорціумом SUNLIGHT (англ. Study of Underlying Genetic Determinants of Vitamin D and Highly Related Traits), згрупував дані з 15 когорт, які разом налічували 33 996 індивідумів. Обидва дослідження підтвердили сильну асоціацію трьох ОНП в таких генах: *GC* (ОНП: rs2282679), *DHCR7/NADSYN1* (ОНП: rs12785878) та *CYP2R1* (ОНП:

rs10741657); додатково, SUNLIGHT мета-GWAS показав значиму асоціацію локуса *CYP24A1* (ОНП:rs17216707).

В 2018 році консорціум SUNLIGHT опублікував нові GWAS дані[103], де крім описаних вище відомих варіантів було знайдено два нові варіанти у гені *SEC23A* (Sec23 гомолог А, компонент поверхневого протеїнового комплексу II, ОНП: rs8018720) та гені *AMDHDI* (аміногідролазо-вмісний домен I, ОНП: rs10745742). За науковими даними, мутації в цих двох генах спричиняють краніо-лентикуло-сутуральну дисплазію, хворобу з мальформаціями лицевого черепу та скелету в зв'язку з порушеною секрецією колагену[104]. Важливо також зауважити, що вперше було виявлено варіанти в генах, прямо не пов'язаних з метаболізмом вітаміну D.

Дані повногеномного секвенування, яке вивчало низькочастотні та рідкісні варіанти показало новий ОНП в гені *CYP2R1* (частота альтернативного алеля 2.5%, rs117913124). Ефект даного алеля є в чотири рази вищим за попередньо визначені варіанти, а також незалежним від них. Особи, гетерозиготні за даним алелем мають вищий ризик дефіциту вітаміну D в 2,2 рази, а також в 1,4 рази вищий ризик розвитку розсіяного склерозу. Ці дані є клінічно значимими[105].

Вищеописані генетичні варіанти дають підставу розцінювати фенотип рівня вітаміну D в організмі людини як ознаку з олігогенним впливом.

Спираючись на численні наукові дослідження, імовірно, вітамін D є чинником захисту проти розвитку цукрового діабету 1 типу, оскільки, як описано вище, він регулює роботу імунної системи та розвиток автоімунних реакцій[106]. Встановлено, що поширеність цукрового діабету збільшується зі збільшенням географічної широти[107], що є наслідком нерівномірного рівня інсоляції[108]. Результати досліджень різняться, проте було встановлено, що прийом препаратів вітаміну D у дитинстві зменшує ризик розвитку ЦД 1-го типу[109],[110].

Попередні дослідження мають суттєві обмеження, оскільки рівень циркулюючого 25-гідроксивітаміну D не залежить лише від поступлення його з їжею. Незважаючи на те, що рівень 25(ОН)D є нижчим у осіб з цукровим діабетом 1-го типу порівняно з контрольними суб'єктами[111], досі немає чітких даних,

чи цей дефіцит починається до, чи після встановлення діагнозу ЦД. У проспективних дослідженнях серед дітей з підвищеним ризиком ЦД 1-го типу рівень 25(OH)D не був пов'язаний з розвитком автоімунних реакцій до острівців Лангерганса або послідуєчим розвитком цукрового діабету 1-го типу[112], проте дані досліджень серед осіб в яких ЦД 1-го типу розвинувся в дорослому віці показали, що до встановлення діагнозу у них були зафіксовані нижчі рівні 25(OH)D[113],[114].

Існує ряд генетичних досліджень, які вивчали вплив різних ОНП генів, відповідальних за метаболізм вітаміну D на факт розвитку цукрового діабету 1-го типу. В 2004 році було проведено масштабне дослідження, яке включало 3763 родини європейського походження, в яких є хворі на ЦД 1-го типу. Метою вчених був аналіз асоціацій 98 ОНП у гені *VDR* (рецептор до вітаміну D) з цим цукровим діабетом. Результати дослідження показали відсутність асоціації ОНП у даному гені із ЦД 1-го типу[115].

У фінському дослідженні типу випадок-контроль (сім'ї у яких є нащадки з ЦД 1-го та сім'ї зі здоровими дітьми) було вивчено зв'язок 13 ОНП в генах *NADSYN1/DHCR7*, *VDR*, *GStaCYP27A1*) з розвитком діабету в їх дітей. Було показано, що ОНП у гені *VDR* мали різний розподіл у двох групах (*rs1544410*, $p = 0.007$; *rs731236*, $p = 0.003$; *rs4516035*, $p = 0.015$). Середня концентрація вітаміну D під час вагітності не відрізнялася в обох групах. Було зроблено висновки, що певні варіанти у гені *VDR* матері асоційовані з ризиком розвитку ЦД 1-го типу у дитини, незалежно від генотипу за цими генами власне у нащадка. Можливо, вони впливають на внутрішньоутробне середовище і сприяють ранньому програмуванню щодо цукрового діабету[116].

Нові дані американсько-європейського дослідження, яке включало 8676 дітей з підвищеним генетичним ризиком розвитку ЦД 1-го типу (за певними *HLA-DR-DQ* генотипами) показало, що вищі рівні 25(OH)D в дитинстві були асоційовані з нижчим ризиком розвитку автоімунних реакцій до острівців Лангерганса. Крім того, ця асоціація була модифікована однонуклеотидним поліморфізмом у гені *VDR* (*rs7975232*). А саме, вищі рівні 25(OH)D в дитячому

віці були асоційовані з нижчим рівнем автоімунного ризику на основі кількості мінорних алелей: 0 алелей (1.00; ДІ 0.93- 1.07), 1 алель (0.92; ДІ 0.89-0.96), та 2 алелі (0.86; ДІ 0.80-0.92). Такі дані можуть свідчити про те, що рівень вітаміну D та генетичні варіанти його рецептора *VDR* можуть мати комбіновану роль в патогенезі розвитку автоімунних реакцій при ЦД 1-го типу[117].

Також, однонуклеотидні поліморфізми в гені *DBP* були пов'язані не тільки з діабетом, але і з переддіабетичними ознаками. Два часті варіанти в кодонах 416 GAT → GAG (Asp → Glu) і 420 ACG → AAG (Thr → Lys) в екзоні 11 гену *DBP* є генетичною основою для трьох поширених гаплотипів в гені *DBP* (Gc1F, Gc1S та Gc2) та відповідних фенотипів (Gc1F / Gc1F, Gc1F / Gc1S, Gc1S / Gc1S, Gc1F / Gc2, Gc1S / Gc2 та Gc2 / Gc2)[118]. Ці варіанти в гені *DBP* були пов'язані із сироватковими рівнями 25(OH)D, а також асоційовані з більш високим ризиком розвитку ЦД 2-го типу або з предіабетичним станом в кількох дослідженнях[119].

Вітамін D також відіграє дуже важливу роль у підтримці стабільності епігеному. Епігенетичні зміни є маркерами діабету, за допомогою цих епігенетичних механізмів багато генів, пов'язаних з діабетом, інактивуються шляхом гіперметиляції. Вітамін D має властивість запобігати такій гіперметиляції, збільшуючи експресію ДНК-деметилаз, які запобігають надмірному метилюванню багатьох ділянок геному, що містять промотори генів, пов'язаних з цукровим діабетом[120].

Якщо розглядати стан кісткової тканини і її мінералізацію у пацієнтів на ЦД 1-го типу, було показано, що МЩКТ суттєво менша у пацієнтів з ЦД 1-го типу як на рівні центрального, так і периферичного скелету[121]. Починаючи з дитинства і протягом всього життя, хворі на ЦД 1-го типу були більш схильні до розвитку патологічних переломів[122]. Наші попередні дані також показали знижені рівні вітаміну D у дорослих пацієнтів з ЦД 1-го типу у порівнянні зі здоровим контролем в українській когорті[123].

Наразі в наукових базах даних інформація про зв'язок між рівнем вітаміну D, однонуклеотидними поліморфізмами в генах, які відповідають за його метаболізм, МЩКТ у пацієнтів на ЦД 1-го типу є досить незначною, особливо з

точки зору вивчення цих компонентів у комплексі. Генетичні дослідження такого плану, які проводилися, зазвичай охоплювали когорти здорових дорослих осіб, дітей або жінок у постменопаузі[4, 5].

Цікавими є дослідження на тваринній моделі ЦД (стрептозоцин-індукований діабет у мишей), яке показало, що репарація дефекту кістки відбувалася достовірно уповільнено у мишей з цукровим діабетом, тоді як дефіцит вітаміну D у цих та здорових мишей не мав достовірного впливу на час репарації дефекту кістки. Знижена МЩКТ в кортикальній та губчастій речовині кістки мишей була сильно потенційована дефіцитом вітаміну D на рівні великогомілкової кістки у місці без дефекту. Як висновок, вчені постановили, що за їх даними дефіцит вітаміну D потенціює зниження МЩКТ у мишей хворих на ЦД, але не впливає на процес репарації кістки в при ЦД[6].

Щодо досліджень в когортах людей з ЦД, то бразильське дослідження в когорті пацієнтів із інсулін-залежним ЦД (ІЗЦД) показало, що якщо провести контроль за такими факторами як вік, стать та ІМТ, то ОНП *VsmI* (rs1544410), *BB* генотип у гені *VDR* був асоційований з нижчою середньою МЩКТ на рівні поперекового відділу хребта та стегнової кістки ніж генотип *Vb* та *bb* у пацієнтів з ІЗЦД. Такі дані можуть означати наявність невеликого впливу цього ОНП в гені *VDR* на МЩКТ в пацієнтів з ІЗЦД в генетично-гетерогенній популяції[124].

Отож, наразі є досить велика кількість даних про взаємну присутність низького рівня вітаміну D та зниженої МЩКТ у пацієнтів з ЦД 1-го типу. В наукових джерелах також є інформація про певні генетичні варіанти асоційовані з такими результатами у цій когорті пацієнтів, проте недостатньо досліджень, які б порівнювали асоціації між поліморфізмами у різних генах, які відповідають саме за метаболізм вітаміну D з мінеральною щільність кісткової тканини у пацієнтів з цукровим діабетом 1-го типу. Більшість досліджень, які порівнюють таку асоціацію проведені у когортах здорових людей і зазвичай фокусуються лише на одному гені, частіше за все на *VDR* (ген-рецептор до вітаміну D). Низькі рівні вітаміну D та знижена МЩКТ у пацієнтів з ЦД 1-го

типу, а також факт, що ці показники взаємопов'язані, можуть мати генетичне підґрунтя, що потребує подальших генетичних досліджень.

Вітамін D також грає важливу роль у регуляції сигнальної дії інсуліну, оскільки він стимулює експресію рецепторів до інсуліну. Таким чином, дефіцит вітаміну D веде до зниженої експресії інсулінових рецепторів і сприяє розвитку інсулінорезистентності. Крім того, збільшення Ca^{2+} (кальцію іонізованого), яке виникає при дефіциті вітаміну D, також може мати вплив на розвиток інсулінорезистентності шляхом зниження активності транспортера глюкози 4 (англ. GLUT4)[125],[126],[127]. Вітамін D підтримує низьку концентрацію іонізованого кальцію в клітині шляхом підвищення активності ферментів Ca^{2+} -, яка викачуються Ca^{2+} за межі клітини, а також Ca^{2+} буферу - кальбідину[128].

Відомо, що ожиріння, як чинник розвитку інсулінорезистентності, асоційоване з різними запальними процесами, які власне і є тригерами розвитку інсулінорезистентності[129]. Значна частка запальних процесів відбувається завдяки активності макрофагів білої жирової тканини[130]. Активація транскрипції гену фактора некрозу пухлин- α (*TNF- α*) в макрофагах суттєво залежить від нуклеарного фактора- κ B (англ. NF- κ B-dependent transcriptional activation), що є основним регулятором імунних, запальних та стресових реакцій[131]. В ЛПС-стимульованих мишачих макрофагах, 1,25(OH)2D3 активує інгібітора NF- κ B (I κ B- α) шляхом підвищення стабільності мРНК і зниження ступеня фосфорилування I κ B- α . Зростання рівня I κ B- α веде до зниження ядерної транслокації NF- κ B, таким чином спричиняючи зниженню його активності. Враховуючи ключову роль NF- κ B як фактора транскрипції медіаторів запалення, можна припустити, що 1,25(OH)2D3 чинить протизапальну дію на макрофаги[132].

Також, 1,25(OH)2D3 пригнічує експресію тол – подібних рецепторів (англ. TLR2 та TLR4) в моноцитах людини, ця діє є залежною від дози та тривалості експозиції[133]. Інкубація ізольованих моноцитів з 1,25(OH)2D3 чинить супресивну дію на експресію прозапальних цитоцінів, залучених в патогенез інсулінорезистентності, таких як інтерлейкін-1 (IL-1), інтерлейкін-6 (IL-6) та

фактор некрозу пухлин альфа (TNF-alpha) в пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу[134]. Це явище може бути пов'язане з пригнічення активності NF-кВ як показують дослідження з P388D1 клітинами (мишача макрофагоподібна клітинна лінія)[132]. Корейське дослідження показало, що саркопенічне ожиріння (ожиріння з втратою м'язової маси за наступними індикаторами: індекс скелетних м'язів нижчий 1-го стандартного відхилення від специфічної за статтю середньої референтної величини; ожиріння – >100 см² площі вісцерального жиру) асоційоване із запаленням (за рівнем високочутливого С-реактивного білка) та інсулінорезистентністю (за індексом НОМА)[135]. Серед досліджень такого роду наявні досить контроверсійні дані, деякі результати говорять про те, що дефіцит вітаміну D пов'язаний з підвищеним рівнем біомаркерів запалення (IL-6, TNF-α, та CRP) в сироватці крові здорових людей [136, 137] та людей з ожирінням[138], в той час як інші дослідження не змогли підтвердити такий зв'язок[139, 140].

Оксидативний стрес також є надважливим чинником розвитку інсулінорезистентності. При ожирінні кількість вільних радикалів збільшується внаслідок дії вільних жирних кислот на мітохондрії[141]. Це відбувається шляхом оксидації вільних жирних кислот та ацетилкоензиму-А (CoA) в циклі Кребса, цей процес генерує НАДФ-Н і ФАД-Н₂, що є донорами електронів[142]. Крім того, НАДФ-Н-оксидаза в плазматичній мембрані здатна перетворювати молекулу кисню на супероксид-радикал, лікування інгібіторами НАДФ-Н-оксидази може знижувати рівень утворення вільних радикалів[143]. Вітамін D здатен проявляти антиоксидантну активність і запобігати утворенню вільних радикалів при цукровому діабеті. Так, експериментальні дослідження на тваринах показали, що вітамін D активує Nrf2-Keap1 антиоксидантний механізм, що знижує розвиток нефропатії у мишей з ЦД[144]. Також вживання вітаміну D₃ знижує пероксидацію ліпідів та покращує активність супероксид дисмутази в тваринних моделях цукрового діабету[145].

В одному з досліджень, незважаючи на значні зворотні зв'язки між сироватковим 25(OH)D та індикаторами інсулінорезистентності, харчова

добавка вітаміну D не впливала на рівень глюкози натще, інсулін або індекс НОМА протягом 12 тижнів у практично здорових дітей. Сироватковий рівень 25(OH) D був обернено пов'язаний з рівнем інсуліну ($r = -0,140$, $p = 0,017$) та індексом НОМА ($r = -0,146$, $p = 0,012$) після врахування фактору раси, статі, віку, статевого дозрівання, жирової маси та індексу маси тіла. За 12 тижнів глюкоза, інсулін та резистентність до інсуліну зростали ($F > 5,79$, $p < .003$), незважаючи на збільшення рівня вітаміну D у сироватці крові [146].

Підсумовуючи, можна сказати, що фізіологічна дія вітаміну D залежить від його біохімічних характеристик і наявності рецепторів на численних органах мішенях, які наука тільки продовжує відкривати. Його синтез, механізм та сила дії, а також біодеградація залежать від численних генетичних детермінант. Встановлено, що вітамін D відіграє надзвичайно важливу роль в підтриманні стану здоров'я скелету, зокрема у пацієнтів з цукровим діабетом як 1-го так і 2-го типу, а також впливає на численні процеси пов'язані з розвитком інших поширених патологій людини.

1.3. Географічно-кліматична характеристика Закарпатської області в контексті можливого впливу рівня інсоляції на циркулюючий рівень вітаміну D

Для подальшого аналізу результатів дослідження рівня вітаміну 25(OH)D в жителів Закарпатської області, варто навести географічно-кліматично характеристику даного регіону в порівнянні з територією України в цілому та деяких країн Європи, оскільки рівень вітаміну D сильно залежить від географічної локації та кількості сонячного світла, яке отримує населення.

Так, Україна знаходиться на центральному сході Європи, у південно-східній зоні Східноєвропейської рівнини, між 44° і 52° північної широти та 22° і 41° східної довготи, тобто в середніх широтах помірного поясу освітленості, де полуднева висота Сонця завжди менша від 90° і щодоби відбувається зміна дня і ночі. Крім того, і висота стояння Сонця, і тривалість дня суттєво змінюються протягом року, саме тому в Україні чітко виражені пори року [147]. Середня річна

кількість годин сонячного сяйва в Україні зростає з північного заходу на південний схід і південь від 1 700 до 2 400 годин[148].

Щодо Європи, то багато найсонячніших міст знаходяться навколо Середземного моря або розташовані неподалік від нього. Валлетта, столиця Мальти, перевершує всіх інших із 2957 сонячних годин в середньому за рік. Це означає більше восьми годин сонця на день. Валлетта отримує на 99 годин більше сонячного світла щорічно, ніж, до прикладу, наступне у списку місто, Марсель.

На даному ресурсі наявні також результати українського міста Одеса, яке отримує 2183 годин сонця в рік і є одним з найсонячніших міст східної Європи [<https://www.currentresults.com/Weather/Europe/Cities/sunshine-annual-average.php>].

За різними даними кількість сонячних годин в низинних районах Закарпаття складає близько 2000 годин сонячного світла в середньому на рік [<https://carpathia.gov.ua/storinka/napryamky-rozvytku>]. Також, згідно поділу території України на зони щодо активності сонячного світла за різними показниками, Закарпатська область у своєму складі має дві суттєво різні території – це Закарпатську низовину і Карпати, де сонячна активність значно відрізняється. Згідно цієї класифікації, Закарпатська низовина має відносно середні показники по Україні, а Карпати - найнижчі[149] (таблиця 1.3.2).

Ми провели порівняльну характеристику деяких міст України (Ужгорода, Івано-Франківська, Києва та Одеси) за показником кількості ясних днів за загальною і нижньою хмарністю згідно даних українського гідрометцентру (рисунок 1.3.1-1.3.4), і суттєвої статистичної різниці не виявили (таблиця 1.3.1)[https://meteo.gov.ua/ua/33345/climate/climate_stations/].

Таблиця 1.3.1

Число ясних і похмурих днів за загальною та нижньою хмарністю у різних містах України

Місто	Середнє число ясних і похмурих днів за загальною та нижньою хмарністю протягом року
1	2
Київ	2,725000
Ужгород	3,066667
Івано-Франківськ	2,083333
Одеса	3,250000

Аналіз ANOVA: Рівень значимості $p=0,2$.

Таблиця 1.3.2

Районування території України за потенціалом сонячної енергії

Регіон	Сумарна сонячна радіація, МДж/м ²	Кількість ясних та напів'ясних днів, рік
1	2	3
Південний берег Криму	5000- 5200	264
Причорноморська та Приазовська низовини	4600- 4800	244
Донецька та Придніпровська височини	4250- 4350	239
Закарпатська низовина	4100- 4200	236
Подільська та Придніпровська височини	4100- 4200	238
Поліська низовина	3500- 4200	228
Українські Карпати	3250- 3350	203

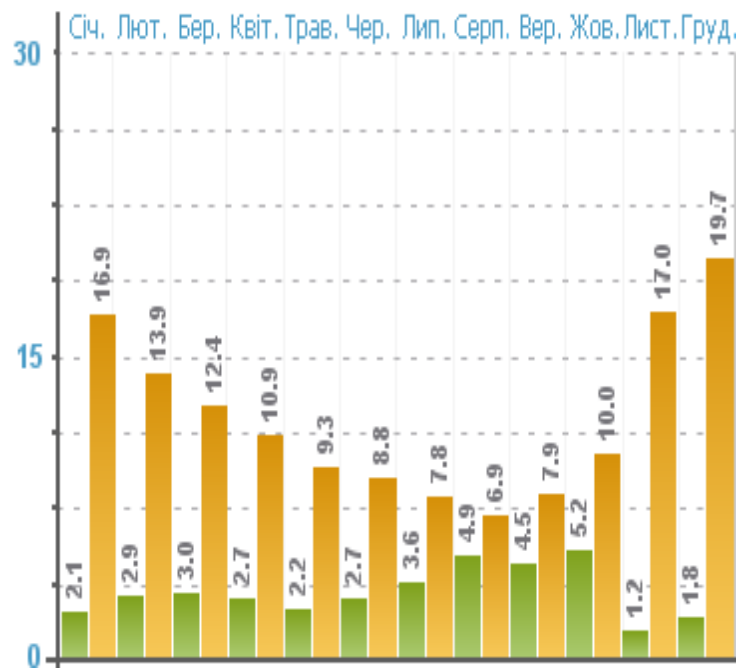


Рисунок 1.3.1. Середнє число ясних і похмурих днів за загальною та нижньою хмарністю в м.Ужгород

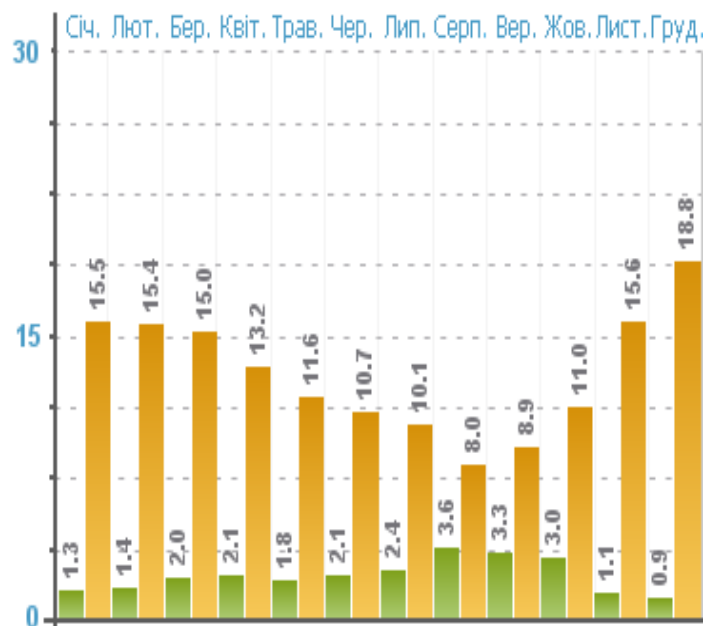


Рисунок 1.3.2. Середнє число ясних і похмурих днів за загальною та нижньою хмарністю в м.Івано-Франківськ

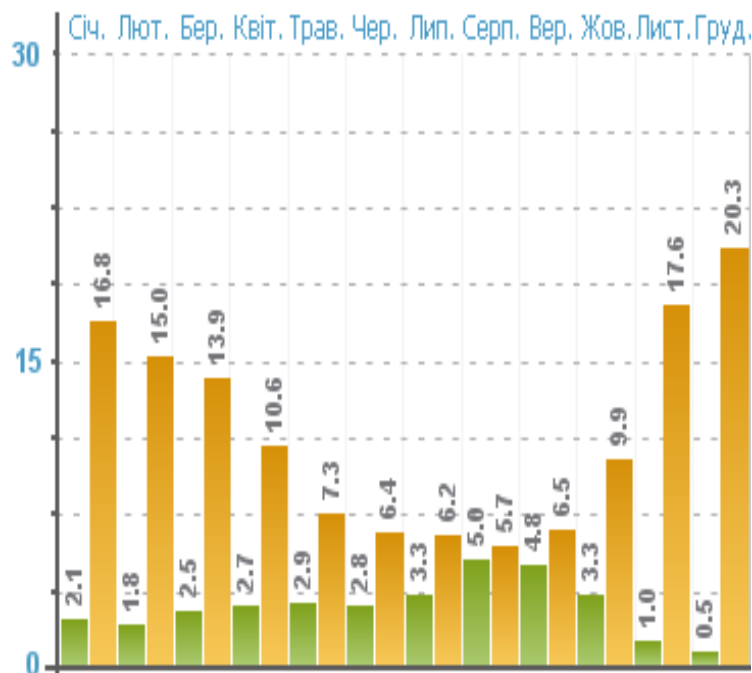


Рисунок 1.3.3. Середнє число ясних і похмурих днів за загальною та нижньою хмарністю в м.Київ

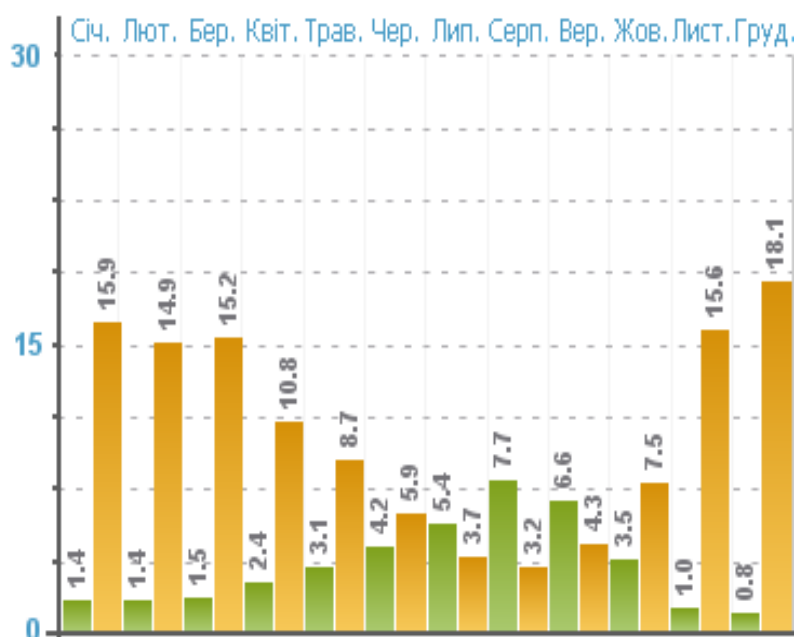


Рисунок 1.3.4. Середнє число ясних і похмурих днів за загальною та нижньою хмарністю в м.Одеса

*Жовтим позначено похмури дні, а зеленим ясні

Отже, вищеписані кліматичні характеристики свідчать про унікальне положення Закарпаття з наявністю територій з кардинально різним рівнем сонячної активності

1.4. Сучасні епідеміологічні дані про поширеність дефіциту вітаміну D в світі та Україні, а також рекомендації щодо забезпеченості організму вітаміном D

Рівень забезпеченості вітаміном D в різних країнах варіює значною мірою в залежності від географічної широти, тривалості світлового дня, культури одягу, споживання вітаміну D з їжею та вживання фортифікованих продуктів та харчових добавок[150, 151]. Золотим стандартом вимірювання 25(OH)D є тандемна мас-спектрометрія[152].

Величини конвертації вітаміну D[153]:

1 мкг = 40 МО; 1 нг/мл = 2,5 нмоль/л

Наразі в світовому науковому товаристві не існує консенсусу щодо нормального рівня 25(OH)D в сироватці крові. Так, нормальні величини згідно американської Національної академії медичних наук (англ. National Academy of Medicine, колишній Інститут Медицини, англ. Institute of Medicine)[154] та Endocrine Society (ES)[155] різняться практично вдвічі та наведені в таблиці 1.4.1. Національне товариство остеопорозу Великої Британії прийняло норму за ІОМ [156].

Таблиця 1.4.1

Показники рівня вітаміну D за концентрацією 25(OH)D в сироватці крові згідно NAM та ES

Рівень	Концентрація 25(OH)D (нг/мл)	
	2 NAM	3 Endocrine Society
Дефіцит	< 10	< 20
Недостатність	12-20	20-30
Достатність	20-30	> 30
Токсичність	> 50	> 150

ВООЗ та проект, здійснений для формування нових рекомендацій щодо нордичного харчування ((Nordic Nutrition Recommendations (NNR 2012) (Північна рада міністрів 2014 р.)) також визначили сироватковий рівень 25(OH)D нижче 20 нг/мл (50 нмоль/л) як недостатність вітаміну D, а концентрацію нижче 10 нг/мл (25 нмоль/л) - як дефіцит[157, 158]. У критичному огляді, що лежить в основі рекомендацій для країн ДАСН (Німеччина, Австрія та Швейцарія) автори встановили концентрацію 25(OH)D вище 20 нг/мл (50 нмоль/л) як показник оптимального стану[159]. У 2000 році дієтичні рекомендації для споживання вітаміну D у Нідерландах були встановлені на основі цільового значення 25(OH)D 12 нг/мл (30 нмоль/л) круглорічно (рівень вітаміну D при якому ризик розвитку рахіту у дітей є мінімальним)[160]. На основі доказів впливу вітаміну D на якість кісток у літніх людей, у недавньому звіті експертний комітет Ради охорони здоров'я Нідерландів встановив більш високий цільовий показник 25(OH) D - 20 нг/мл (50 нмоль/л) для жінок віком від 50 років і чоловіків віком від 70 років[161].

Консенсус країн Центральної Європи (Польща, Угорщина, Білорусь, Естонія, Чехія та Україна) щодо нормальної концентрації 25(OH)D у сироватці крові визначив рівень 30-50 нг/мл (75–125 нмоль/л) як оптимальний[162]. Однак Національна медична академія США підкреслила недостатню міцність доказової бази щодо необхідності досягнення таких високих сироваткових концентрацій 25(OH)D, інші вчені також припускають, що ці пропозиції є дещо передчасними враховуючи відсутність віддалених результатів таких рівнів вітаміну D[163].

Поширеність дефіциту вітаміну D значно варіює серед різних країн Європи, так згідно дослідження опублікованого в 2007 році 2-30% дорослого населення Європи страждає на дефіцит вітаміну D (25(OH)D <10нг/мл), а серед осіб проживаючих в будинках для літніх осіб та ув'язнених – до 80%[164]. Рівень забезпеченості вітаміном D в різних країнах Європи наведений в таблиці 1.4.2.

Таблиця 1.4.2

Рівень забезпеченості вітаміном D в зимовий період в різних країнах Європи

Країна	Середній рівень 25(OH)D (нг/мл) в зимові місяці	Автори і рік публікації	Категорія населення та середній вік (віковий діапазон)
1	2	3	4
Австрія	20,88	Kudlaceket <i>al</i> 2003[165]	Дорослі (21-76)
Ісландія	17,56	Kristinsson <i>et al.</i> 1998 [166]	Дівчата-підлітки (16-20)
Ірландія	15,6	McCarthyet <i>al</i> 2006[167]	Дівчата та жінки(11-30)
Бельгія	19,28	MacFarlaneet <i>al</i> 2004[168]	Дорослі(21-69)
Франція	31,8	Malvyet <i>al.</i> 2000[169]	Дорослі (35-65)
Данія	19,2	Andersen <i>et al.</i> 2005[79]	Жінки (71,6)
Італія	15,6	Adami <i>et al.</i> 2008 [170]	Жінки (69-80)
Польща	13,4	Napiorkowska <i>et al</i> 2009 [171]	Жінки (60-90)
Іспанія	17,6	Almirallet <i>al.</i> 2010[172]	Дорослі (65-93)
Швеція	28,8	Burgazet <i>al</i> 2009[173]	Жінки (61-83)
Нідерланди	21,28	Kuchuk <i>et al.</i> 2009 [174]	Дорослі (65-88)

Українське дослідження[175], яке охоплювало жителів різних регіонів України (n=1575, 83,6% жінок віком 58,6±0,37 років, 16,4% чоловіків віком 54,93±1,09 років) показало, що лише 4,6% жителів України мали рівень 25(OH)D в межах норми (за норму вважали показник вище 20 нг/мл згідно рекомендацій Endocrine society), у 13,6% була виявлена недостатність, а у 81,8% дефіцит вітаміну D. Серед людей з дефіцитом вітаміну D 37,3% мали рівень вітаміну D нижче 10 нг/мл (що співпадає з показником дефіциту вітаміну D

згідно норми NAM), а у 12,2% осіб рівень 25(OH)D був нижче найнижчого рівня роздільної здатності апарату. Тобто, з наведених даних помітно, що навіть згідно більш строгого критерію за NAM - 49% населення України має дефіцит вітаміну D. Вітамін 25(OH)D в даному дослідженні вимірювався електрохемолюмінісцентним методом на аналізаторі Elecsys 2010 (Roche®, Німеччина). Цікавим є факт, що компанія Roche Diagnostics вилучила з використання цей електрохімілюмінесцентний метод (Elecsys Vitamin D3 25(OH)D, англ. ECLIA), посиляючись на погіршення відповідності результатів до значень референтного методу (рідинна хроматографія - тандемна мас-спектрометрія; англ. LCMSMS). Згідно дослідження Connell та співавторів, кореляція між моноклональною імуносистемою Roche ECLIA та LCMSMS була дуже низькою ($ECLIA = 0,31 \times LCMSMS + 23, r^2 = 0,27$). Виявлено, що ця система занадто занижувала дійсні рівні вітаміну 25(OH)D в сироватці крові[176]. Враховуючи ці дані, ми не можемо бути впевнені у якості результатів даного українського епідеміологічного дослідження, що жодним чином не залежало від вчених, а від методу обстеження.

Для порівняння, наведемо дані поширеності дефіциту вітаміну D в різних країнах Європи (таблиця 1.4.3).

Таблиця 1.4.3

Поширеність дефіциту вітаміну D в різних країнах Європи

Країна	Кількість учасників дослідження	Віковий діапазон (середній вік) і стать	Поширеність дефіциту вітаміну D (<10 нг/мл) у %	Джерело інформації
1	2	3	4	5

Продовження таблиці 1.4.3

1	2	3	4	5
Австрія	1002	7-14 жіноча	22,3	Austrian Nutrition Report [177]
		7-14 чоловіча	17,7	
		18-64 жіноча	11,6	
		18-64 чоловіча	14,2	
		65-80 жіноча	19,9	
		65-80 чоловіча	20,4	
Франція	2007	18-28 (обидві статі)	7,5	ENNS 2006-2007 [178]
		30-54 (обидві статі)	5,2	
		55-74 (обидві статі)	1,9	
Німеччина	4030	18-79 жіноча	15,7	Hintzpeter <i>et al.</i> [179]
		18-79 чоловіча	17,0	
Північна Європа (Данія, Фінляндія, Ірландія та Польща)	420	12,6 (обидві статі)	37	Andersen <i>et al.</i> [180]
		71,8 (обидві статі)	17	
Велика Британія	2174	1,5-3 (обидві статі)	7,5	Adams <i>et al.</i> [181]
		4-10 чоловіча	12,3	
		4-10 жіноча	15,6	
		11-18 чоловіча	19,7	
		11-18 жіноча	24,4	
		19-64 чоловіча	24,0	
		19-64 жіноча	21,7	

Як бачимо, згідно даних Поворознюк та співавторів, поширеність дефіциту вітаміну D в Україні значно перевищує дані інших країн Європи, тобто факт заниження дійсних даних вітаміну D аналітичною системою Roche®, використаною в даному дослідженні дійсно можливий.

Рівень забезпеченості вітаміном D залежить від багатьох чинників, таких як рівень інсоляції місцевості, часу проведеного на сонці, культури одягу, інтенсивності пігментації шкіри, ІМТ та харчового раціону (споживання жирної морської риби, печінки, м'яса, харчових добавок вітаміну D, а також фортифікованих продуктів) [182].

Дослідження показують, що загалом вищі значення 25(OH)D реєструються більше в Північній Америці, ніж у Європі. Цей факт автори запропонували пояснити звичайною фортифікацією кількох продуктів у США (наприклад, молока, масла, апельсинового соку)[183].

Часто епідеміологічні та оглядові дослідження повідомляють про існування в Європі градієнту рівня вітаміну D з півночі на південь, при цьому скандинавські країни, як правило, мають більш високі значення циркулюючого рівня 25(OH)D, ніж країни південної Європи. Ці, дещо несподівані, дані можна пояснити різним раціоном харчування: зазвичай північні європейці споживають більше жирної риби, олії печінки тріски та інших добавок вітаміну D, а також більш ефективно синтезують вітамін D в світлішій шкірі[184],[185]. До прикладу, значущість вживання продуктів багатих вітаміном D, включаючи олію печінки тріски, відбилася на рівні забезпеченості ним в Ісландії, де концентрація 25(OH)D у сироватці крові в середньому 11,2 нг/мл у лютому-березні серед дорослих чоловіків та жінок, які не приймають добавки, порівняно з 19,2 нг/мл у тих, хто приймає олію печінки тріски або інші добавки, що містять вітамін D. Цікаво, що північно-південно-європейський градієнт не був підтверджений в останньому з таких літературних оглядів, хоча більш високі значення спостерігалися серед літніх людей Швеції порівняно з людьми похилого віку з інших європейських країнах[183].

Хоча узагальнені популяційні середні значення дають швидку оцінку рівня забезпеченості вітаміном D серед населення, проте вони не є інформативними щодо частки і конкретних груп населення, де дефіцит вітаміну D є найбільш поширеним, а також вони можуть не відображати важливі сезонні коливання. Згідно британського дослідження, найвищі концентрації 25(OH)D спостерігалися в періоді з липня по вересень, а найнижчі – з січня по березень[181].

Дефіцит вітаміну D має також різну поширеність та різний вплив на коморбідності серед різних категорій населення. Вважається, що дефіцит вітаміну D під час вагітності асоційований з небажаними наслідками для здоров'я як матерів, так і немовлят[186]. Так, немовлята, народжені матерями, які страждають від дефіциту вітаміну D, самі мають високий ризик дефіциту вітаміну D, крім того вони мають ще вищий ризик цього стану, якщо будуть вигодуватися виключно грудним молоком протягом тривалого періоду та не отримувати добавки з вітаміном D[187]. Цікаво, що немовлята матерів з гіповітамінозом D на виключно грудному вигодовуванні також більш схильні до дефіциту порівняно з немовлятами, які вигодовуються молочною сумішшю, тому, що суміші зазвичай додатково містять вітамін D[188].

Після введення в практику рекомендацій щодо добавок вітаміну D дітям до 3 років рівень рахіту знизився практично до одиночних випадків в більшості країн Європи[182].

Проте, з 1960-х років у Великобританії та інших європейських країнах рахіт почав знову виникати, будучи в основному проблемою здоров'я серед малюків та підлітків іммігрантів з Південної Азії та Африки. У відповідь Робоча група МОЗ Великобританії рекомендувала продовжувати обов'язкову фортифікацію маргарину, було запроваджено відповідну програму харчової добавки вітаміну D, яка сформувала основи кампанії Міністерства охорони здоров'я “Зупинити рахіт” розпочатої в 1981 році і спрямованої на британців азіатського походження[189].

Загалом, дослідження показують, що забезпеченість вітаміном D серед імігрантів та осіб, які шукають притулок в Європі є незадовільною порівняно з корінними європейцями[190]. При аналізі дітей в Німеччині віком від 1 до 17 років, середня концентрація 25(OH)D становила 17,2 нг/мл серед дітей німців та 14 нг/мл серед дітей-імігрантів[191]. Сироватковий рівень 25(OH)D був нижче 10 нг/мл у 80% імігрантів зі сходу у Нідерландах, особливо високий рівень поширеності був зафіксований серед жінок[192].

Поширеність дефіциту вітаміну D викликає особливе занепокоєння серед людей похилого віку, які перебувають постійно приміщенні чи проживають у будинках для літніх осіб. До прикладу, дослідження швейцарських будинків для осіб старшого віку показало, що 90% проживаючих там жінок мали рівень 25(OH)D нижче 20 нг/мл порівняно з 57% серед жінок, які там не проживають[193]. Нещодавно проведене шведське дослідження в 11 будинках престарілих повідомило, що 80% тамтешніх жителів мали рівень 25(OH)D нижче 20 нг/мл, крім того дефіцит вітаміну D був пов'язаний із збільшенням смертності[194].

Враховуючи все вищеперераховане, слід підсумувати, що дефіцит вітаміну D є глобальною проблемою, яку вдалося практично ліквідувати в дитячому віці, проте він залишається поширеним серед дорослого населення різних країн, особливо серед уразливих груп населення і потребує комплексного підходу до діагностики та лікування.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Загальна методологія

Дане дослідження присвячене вивченню комплексних патофізіологічних зв'язків цукрового діабету 1-го та 2-го типу з остеопорозом, а також виявленню факторів, які визначають дані зв'язки. Крім того, дана праця спрямована на вивчення поширеності дефіциту вітаміну D, як одного з визначальних чинників впливу на стан скелетно-м'язової системи серед жителів Закарпатської області та його асоціацію з рівнями інших гормональних показників. Основне планування етапів дослідження, формування дизайну, частковий набір клінічного матеріалу, статистична обробка та аналіз отриманих даних проводились на базі ендокринологічного відділення Закарпатської обласної лікарні імені Андрія Новака. Також набір матеріалу для дослідження відбувався на базі приватної клінічної лабораторії “Астра-Діа” та в базі опублікованих даних геномного секвенування проєкту “Геномне різноманіття населення України”.

При ретроспективному аналізі всі дані пацієнтів використовувалися з дотриманням умов анонімності та оброблялися згідно Закону України “Про захист персональних даних”. Дослідження розглянуте і схвалене етичним комітетом ДВНЗ “Ужгородський національний університет”.

2.2. Загальна характеристика груп обстежуваних

На першому етапі дослідження, з метою вивчення поширеності остеопенії, остеопорозу та дефіциту вітаміну D серед пацієнтів з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу була сформована когорта з пацієнтів, які проходили стаціонарне лікування в ендокринологічному відділенні ЗОКЛ ім. А.Новака з 2016 по 2019 рік (n=137).

Дана вибірка була розподілена на дві дослідні групи: група ЦД 1-го типу (n=53) та група ЦД 2-го типу (n=83).

Контрольна група складала 32 особи практично здорових добровольців, які зверталися на консультативний огляд до ендокринологів ЗОКЛ ім. А. Новака в основному з приводу прийому на роботу чи освідчення для військової служби.

Критеріями включення в контрольну групу були:

- вік вище 16 років;
- нормальний рівень глікованого гемоглобіну;
- нормальний рівень глюкози натще;
- відсутність скарг щодо будь-яких хронічних чи гострих захворювань на момент огляду за записами в медичній документації.

Інформація про клінічні та біохімічні показники була викопіювана і зведена в анонімні таблиці з даними для статистичного аналізу.

Критеріями включення в дослідну групу були наступні показники:

- встановлений діагноз цукрового діабету 1-го або 2-го типу;
- вік вище 16 років;
- наявність показників DXA-scan в переліку обстежень.

Для подальшого виявлення корелятивних зв'язків та асоціацій між показниками DXA-scan та клінічно-лабораторними даними цих пацієнтів, були зафіксовані наступні показники:

- рівень HbA1C (рівень глікованого гемоглобіну);
- ліпідограма (рівень загального холестерину, тригліцеридів в сироватці крові);
- рівень сечової кислоти в сироватці крові;
- рівень вітаміну 25(OH)D, паратгормону в сироватці крові;
- рівень електролітів (кальцій іонізований (Ca²⁺), фосфор (Ph), магній (Mg));
- ШКФ (за формулою MDRD);
- маса білку в добовій сечі;
- ІМТ.

Демографічна характеристика когорти першого етапу

Розподіл осіб за статтю та віком представлений у таблиці 2.2.1.

Таблиця 2.2.1

Група	Стать	Середній вік роки \pm СВ	
ЦД 1-го типу	Жінки 49,05% (n=26)	34,88 \pm 14	34,35 \pm 13,05
	Чоловіки 51% (n=27)		35,37 \pm 15,1
ЦД 2-го типу	Жінки 66,2% (n=55)	55,36 \pm 9,1	56,8 \pm 9,55
	Чоловіки 33,8% (n=28)		52,54 \pm 7,53
Контрольна група	Жінки 75% (n=24)	46,02 \pm 10,5	43,01 \pm 5,5
	Чоловіки 25% (n=8)		49,04 \pm 4,2

Характеристика пацієнтів дослідних груп за станом компенсації цукрового діабету

У групі хворих на ЦД 1-го типу кількість пацієнтів, що мали цільовий рівень HbA1C згідно уніфікованого клінічного протоколу[195] на рівні 7,0% на момент госпіталізації склала лише 3,77% (n=2). Інші 96,33% пацієнтів не досягли цільового глікемічного контролю, тобто переважна більшість перебувала в стані декомпенсації цукрового діабету. Середній рівень HbA1C в даній групі пацієнтів склав 10,51 \pm 1,62%. У групі хворих на ЦД 2-го типу кількість пацієнтів, що досягли цільового рівня HbA1C згідно уніфікованого клінічного протоколу[196] на рівні 7,0% на момент госпіталізації склала 0% (n=0). Жоден з цих пацієнтів не досяг цільового глікемічного контролю. Середній рівень HbA1C в даній групі пацієнтів склав 10,4 \pm 1,8%.

Лабораторні та інструментальні методи обстеження на першому етапі

Денситометричне обстеження було виконано на апараті Lunar Prodigy (GE Healthcare, Madison, WI, USA).

При аналізі результатів DXA-scan реєструвалися наступні показники апарату: загальна МЩКТ центрального скелету (на рівні L₁₋₄); T і Z-показники

центрального скелету; загальна МЩКТ периферичного скелету (на рівні кульшових суглобів); Т і Z-показники периферичного скелету.

При цьому аналіз на 25(OH)D проводився на обладнанні медичної лабораторії “Діла” методом твердофазного імуноферментного аналізу на приладі Sunrise Tecan (аналітична чутливість: 4,0-300; одиниця виміру - нмоль/л), рівень паратиреоїдного гормону – методом хемолюмінісцентного аналізу на приладі Centaur XP (аналітична чутливість: 2,5-19000,0; одиниця виміру - пг/мл), магнію – колориметричним методом, апарат Advia 1800 (аналітична чутливість: 0,29-4,11, одиниця виміру - ммоль/л), кальцій іонізований – іонселективним методом на апараті Easylyte Calcium (аналітична чутливість: 0,1-6,0, одиниця виміру-ммоль/л). Біохімічні показники крові визначалися стандартним методом на автоматичному біохімічному аналізаторі GBG GS-360 в клінічній лабораторії ЗОКЛ ім.. А. Новака.

Для визначення адекватних тестів для перевірки гіпотези про відмінності між групами спочатку було проведено тест на нормальність розподілу даних. Розподіл вважався нормальним за критерієм Колмогорова-Смірнова та критерієм Шапіро-Уїлка при рівні значимості $p > 0,05$ для обох тестів. Результати тесту на нормальність показали, що розподіл осіб за віком у групах ЦД 1-го та 2-го типу нормальний (рисунок 2.2.1 та рисунок 2.2.2). Дані показника глікованого гемоглобіну у групах ЦД 1-го типу та ЦД 2-го типу також нормально розподілені і представлені графічно на рисунках 2.2.3 та 2.2.4.

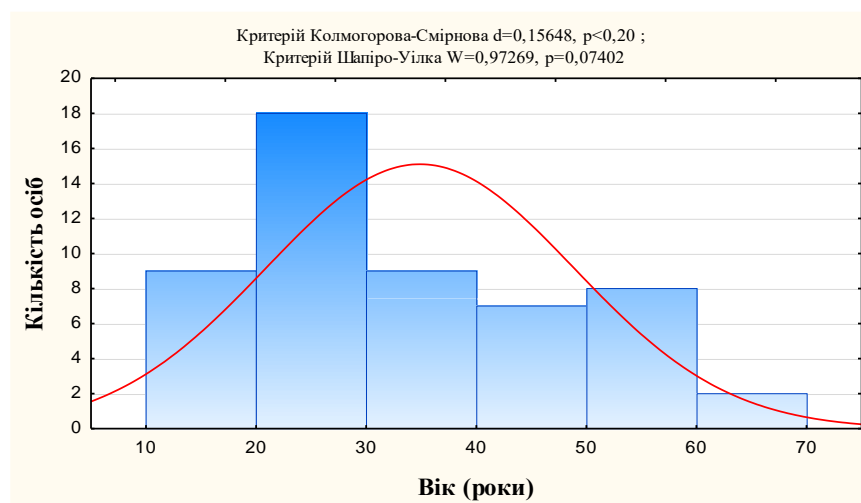


Рисунок 2.2.1. Розподіл осіб за віком у групі ЦД 1-го типу

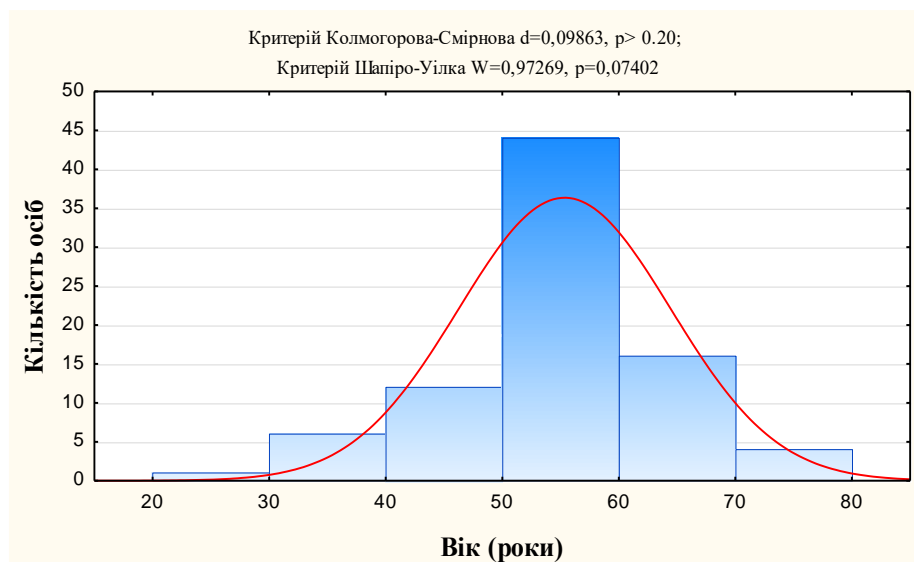


Рисунок 2.2.2. Розподіл осіб за віком у групі ЦД 2-го типу

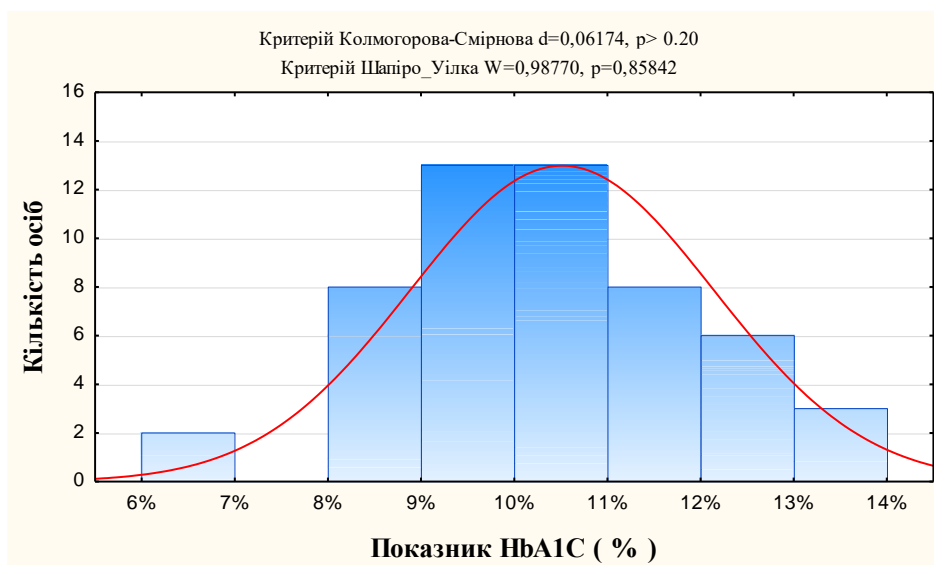


Рисунок 2.2.3. Розподіл пацієнтів з ЦД 1-го типу за показником глікованого гемоглобіну (НbA1C)

На другому етапі дослідження, з метою вивчення рівня забезпеченості вітаміном D жителів Закарпатської області, а також з метою проведення порівняльного, корелятивного та регресійного аналізу даних показників з іншими гормональними та біохімічними показниками ретроспективним методом було сформовано рандомізовану анонімну вибірку осіб з бази даних приватної

лабораторії “Астра-Діа”. Не було зареєстровано жодних ідентифікаторів особи, тільки такі загальні дані як стать та вік пацієнта, а також місяць здачі аналізу.

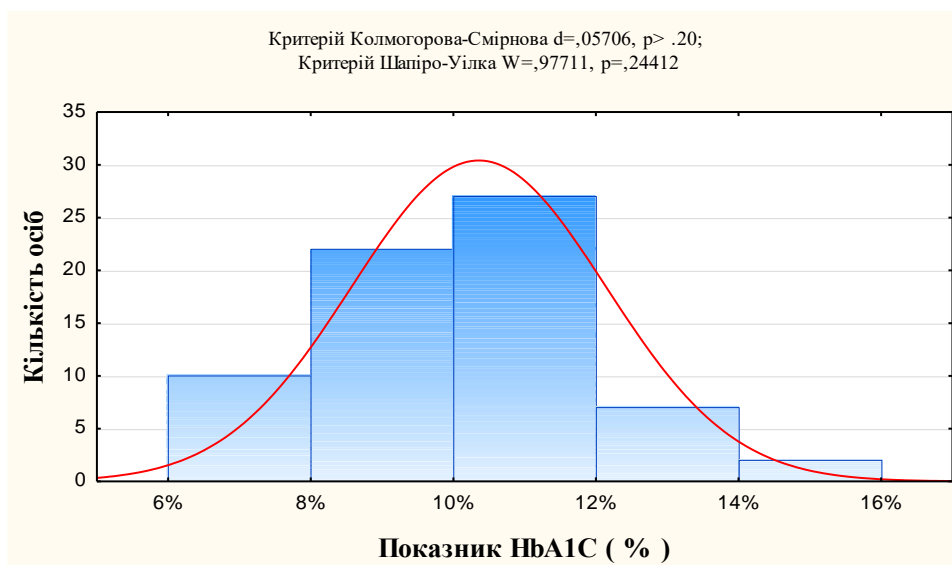


Рисунок 2.2.4. Розподіл пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу за рівнем глікованого гемоглобіну (HbA1C)

Дана когорта включала 1824 особи, які здавали аналіз на визначення метаболіту 25(OH)D в сироватці крові у відділеннях лабораторії з січня по грудень 2019 року в Закарпатській області.

Критеріями включення в когорту на даному етапі була наступні показники в наявності (за умови здачі пацієнтом в той самий день, що і аналіз на 25(OH)D):

- інсулін натще;
- глікований гемоглобін (HbA1C);
- ТТГ;
- ПТГ;
- загальний холестерин;
- тригліцериди;
- глюкоза у венозній крові натще;

25(OH)D вимірювався електрохемолюмінісцентним на апараті на автоматичному аналізаторі Cobas, Roche diagnostics.

Жінки у даній когорті склали 85,03% обстежених ($n=1551$), а чоловіки – 14,97% ($n=273$). Серед досліджуваних 10,08% ($n=184$) склали діти (віком < 18 років).

Демографічна структура вибірки

Детальна структура вибірки наведена в таблиці 2.2.2

Таблиця 2.2.2

Структура вибірки ретроспективного дослідження бази даних приватної лабораторії “Астра-Діа”

Показник		Абсолютний показник	Відсоток (%)
1		2	3
Стать	<i>чоловіки</i>	273	14,97
	<i>жінки</i>	1551	85,03
Вікова група	<i>діти</i>	184	10,08
	<i>дорослі</i>	1640	89,92
Показник		Середнє значення показника	Стандартне відхилення
Середній вік дітей	загалом	10,67	±4,83
	хлопці	9,30	±4,75
	дівчата	12,05	±4,52
Середній вік дорослих	загалом	40,13	±13,41
	чоловіки	42,21	±14,66
	жінки	39,87	±13,22

З метою вивчення сезонного коливання рівня метаболіту 25(OH)D ми проаналізували його рівень у вибірці помісячно. Кількість осіб включених в дослідження, які здавали аналіз в певний місяць року наведена в таблиці 2.2.3

**Кількість осіб, які проходили обстеження на 25(ОН)D в кожному
місяці 2019 року**

Місяць року	Кількість осіб	Кількість дітей	Кількість дорослих
1	2	3	4
<i>Січень</i>	136	11	125
<i>Лютий</i>	186	12	174
<i>Березень</i>	146	16	130
<i>Квітень</i>	141	14	127
<i>Травень</i>	159	7	152
<i>Червень</i>	154	17	137
<i>Липень</i>	155	16	139
<i>Серпень</i>	149	24	125
<i>Вересень</i>	143	14	129
<i>Жовтень</i>	152	18	134
<i>Листопад</i>	151	15	136
<i>Грудень</i>	152	20	132

Як і на першому етапі, було проведено тест на нормальність розподілу даних для визначення адекватних тестів для перевірки гіпотези про відмінності між групами. Розподіл вважався нормальним за критеріями Колмогорова-Смірнова та критерієм Шапіро-Уїлка при рівні значимості $p > 0,05$ для обох тестів.

За результатимі тесту, розподіл даних у когорті за віком та метаболітом 25(ОН)D є нормальним і наведений на рисунках 2.2.5 та 2.2.6.

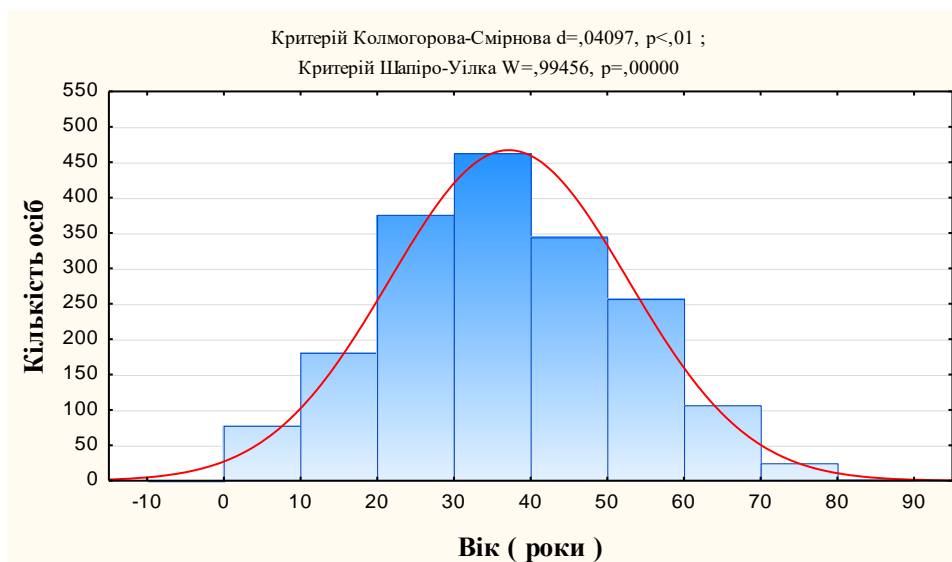


Рисунок 2.2.5. Розподіл осіб за віком

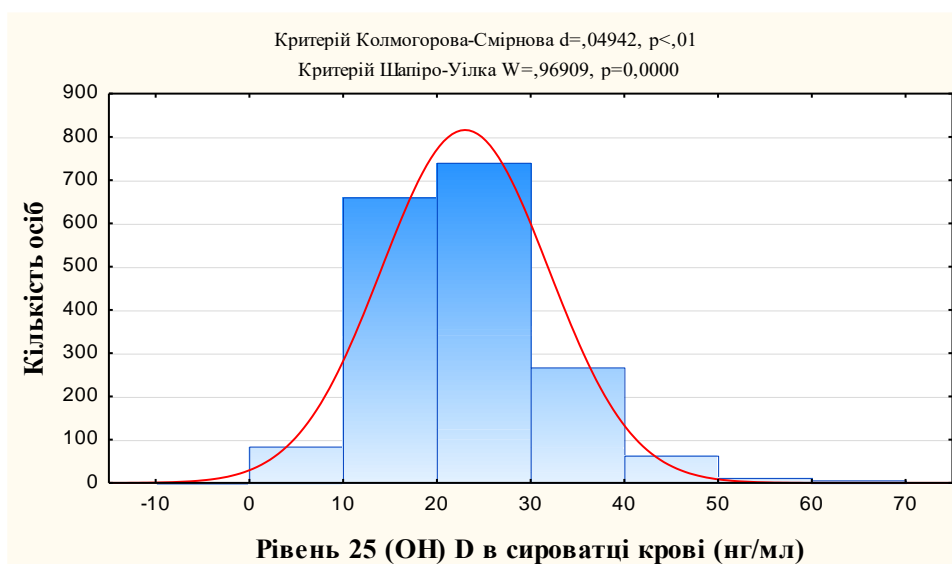


Рисунок 2.2.6. Розподіл даних за показником 25(OH)D

На третьому етапі дослідження, з метою визначення частоти однонуклеотидних поліморфізмів, які були визначені як такі, що впливають на рівень вітаміну D та стан кісткової тканини в українській популяції були досліджені геномні дані когорти 97 українців були отримані в ході міжнародного проекту “Геномне різноманіття населення України”.

Демографічна структура вибірки

Особи, які були включені в дану когорту для геномного дослідження, повинні були відповідати критерію походження прабабків з території сучасної України в

3 покоління. Вибірка була рандомізованою. Вік та стать не мали значення для виконання поставленої мети.

Протокол збору зразків

Збір матеріалу відбувався через мережу лікарів у різних регіонах України для організації та нагляду за збором зразків добровольців, які були включені в дослідження випадковим чином і не були госпіталізовані. Забір крові проводився у амбулаторних умовах сертифікованими медсестрами у волонтерів по всій Україні. Кожен учасник заповнив анкету із зазначенням місця народження обох бабусь і дідусів, статі, віку та кількох особливостей фенотипу. Кожен зразок крові був зібраний в одну 5 мл пробірку з ЕДТА, яку згодом зашифрували з використанням анонімного коду, заморозили та відвантажили на сухому льоду до приватної лабораторії в м.Ужгород для виділення нативної ДНК. Після екстракції ДНК зразки були повторно закодовані та відправлені до Національного Інституту Здоров'я (англ. NIH), США для проведення генотипування, звідки аліквоти були відправлені для повногеномного секвенування в Пекінський геномний інститут (англ. BGI) Зібрані зразки залишаються в ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, і будуть доступними спільноті дослідників для подальших наукових проектів та співпраці.

Протокол збору зразків був затверджений етичною комісією ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, зразки крові були зібрані у 97 учасників. Ці учасники дали повну згоду на те, щоб їхні геномні та фенотипові дані були у вільному загальному доступі. Кожен учасник мав можливість переглянути свої дані про геном і прийняти рішення про те, чи продовжувати зберігати їх публічно.

Техніка виділення ДНК людини

200 мкл зразка крові було використано для виділення ДНК комерційним набором innuPREP DNA BLOOD Minikit (Analytik Jena, Німеччина). Решта ~ 2 мл було заморожено для подальшого використання.

Високомолекулярна геномна ДНК була дещо фрагментована вихровим змішувачем. Початкову концентрацію ДНК вимірювали нанофотометром Implen C40. Кінцеву концентрацію ДНК вимірювали за допомогою флюорометричного методу апаратом Qubit 3.

Зразки нормалізували до концентрації 20-30 нг/мкл для подальшого дослідження.

Повногеномне секвенування

Секвенування геному 97 зразків людської ДНК було зроблено на апараті BGISEq500 в лабораторії BGI Шенджен, Китай. З цих осіб, 97 повногеномних секвенувань були успішними.

Генотипування

Ми генотипували 87 зібраних зразків за допомогою 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 стандартної процедури аналізу даних мікроматриці Illumina. Під час контролю якості зразки фільтрували на предмет забрудненості, завершеності та спорідненості. В рамках контролю якості ми також провели оцінку походження за допомогою програмного забезпечення SNPWEIGHTS з довідковою панеллю, що складається з 3 груп населення (європейської, західноафриканської та східноазіатської). Усі зразки були віднесені до групи європейських родин. Після вилучення деяких зразків, 87 зразків з 689918 локусами та коефіцієнтом заповнення 99,9 були відібрані для подальшого аналізу.

Виклик геномних варіантів

Для зразків, які були секвеновані, було використано кілька протоколів виклику варіантів.

Вроджені варіанти у 97 зразках були викликані за допомогою інструментів Sention від Golden Helix (на основі інструментів аналізу геномів (GATK) v3.8-1-0-gf15c1c3ef by Broad).

Для порівняння частоти досліджуваних ОНП в осіб з цукровим діабетом 2-го типу у порівнянні з особами без нього, з 97 осіб, досліджуваних на 3 етапі було вибрано 91 особу з даними анкети про наявність ЦД 2-го типу, які були розподілені на дві групи – контрольну (особи без діабету, n=15) та дослідну (особи з ЦД 2-го типу, n=76).

2.3. Статистичні методи аналізу результатів дослідження

Статистичний аналіз даних на всіх трьох етапах дослідження проводився за допомогою програмного забезпечення Statistika 10, Excel 10, мови програмування Python.

Зокрема, нормальність розподілу цифрових значень була оцінена графічно, а також за допомогою критеріїв Колмогорова-Смірнова та Шапіро-Уїлка. Для виявлення міжгрупових відмінностей у когортах з 3 груп на першому етапі був застосований аналіз ANOVA з наступним POST HOC тестом для виявлення попарних відмінностей. Для розрахунку р-величини в тесті ANOVA використовувався F-тест. Аналіз ANOVA вибраний враховуючи наступні критерії: три порівняльні групи, за якими групуються кількісні показники (T-показник та Z-показник); дані в кожній групі нормально розподілені за конкретним показником; кожна група містить більше 30 значень кожного показника. Для виявлення міжгрупових відмінностей між двома групами на першому та другому етапі був застосований T-критерій Стюдента при нормальному розподілі та критерій Мана-Уїтні при ненормальному розподілі даних.

На другому етапі було використано T-критерій Стюдента для порівняння попарних відмінностей та пакет описової статистики (середні значення та стандартні відхилення). Також було розраховано відносний ризик з довірчим інтервалом.

На третьому етапі дослідження були використані інструменти Sention від Golden Helix (на основі інструментів аналізу геномів (GATK) v3.8-1-0-gf15c1c3ef

by Broad) для виклику геномних варіантів, а також програмне забезпечення SNPWEIGHTS з довідковою панеллю, що складається з 3 груп населення (європейської, західноафриканської та східноазійської). Для порівняння частот ОНП у групі осіб з ЦД 2-го типу та без ЦД був використаний точний тест Фішера.

Узагальнена схема дизайну дослідження представлена на рисунку 2.3.1.

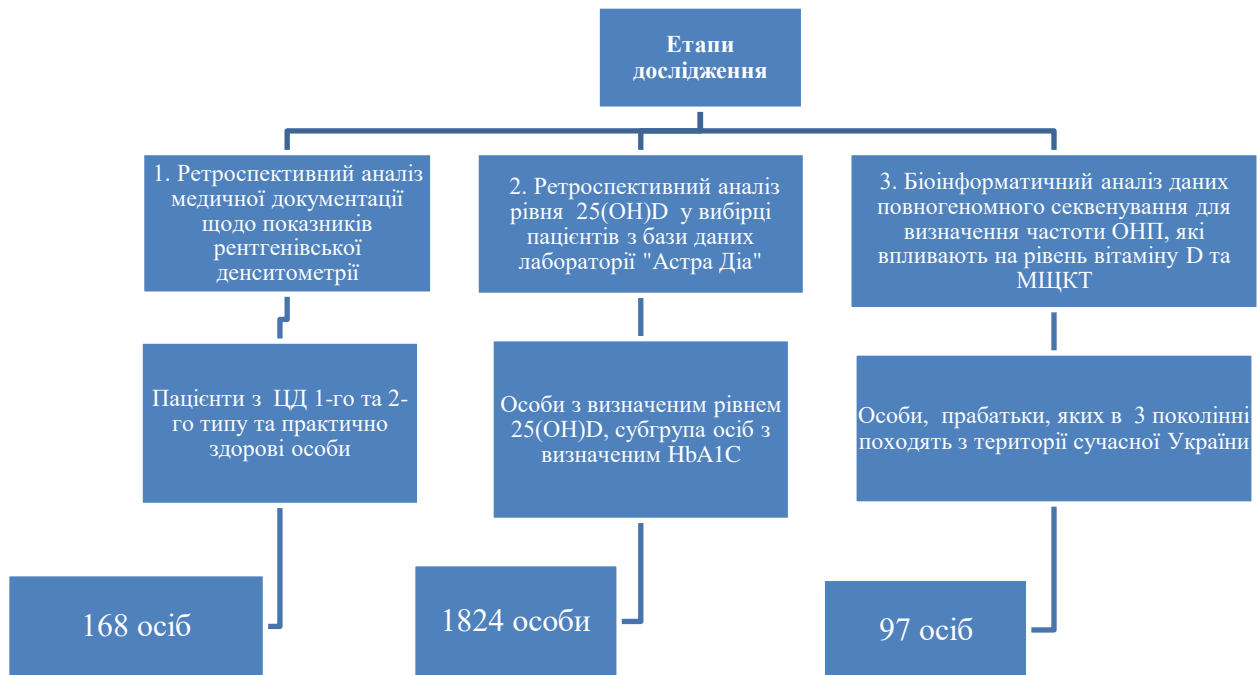


Рисунок 2.3.1. Основні етапи дослідження, характеристика та кількість досліджуваних осіб на кожному етапі

РОЗДІЛ 3
АНАЛІЗ ОСОБЛИВОСТЕЙ ОСТЕОПОРОЗУ
ТА КОРЕЛЯТИВНИХ ЗВ'ЯЗКІВ ЗМІН У СКЕЛЕТІ
З КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИМИ ПОКАЗНИКАМИ У ПАЦІЄНТІВ З
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

В даному розділі представлено результати аналізу особливостей остеопорозу та корелятивних зв'язків змін у скелеті з клініко-лабораторними показниками у пацієнтів з цукровим діабетом.

Дані описової статистики показників рентгенівської денситометрії по групах наведені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.1

Описова статистика показників DEXA-scan у групах

	ЦД 1-го типу	ЦД 2-го типу	Контрольна група
1	2	3	4
МЩКТ центрального скелету	1,064654 ± 0,167500	1,106797 ± 0,183720	1,132871 ± 0,178134
T-показник центрального скелету	-0,817391 ± 1,385208	-0,624051 ± 1,484813	-0,512903 ± 1,433816
Z- показник центрального скелету	-0,653846 ± 1,229134	-0,356962 ± 1,353787	-0,425806 ± 1,271211
МЩКТ периферичного скелету	0,892472 ± 0,287040	1,026962 ± 0,191078	0,917355 ± 0,036693

1	2	3	4
T-показник периферичного скелету	-0,693478 ± 1,393063	0,172532 ± 1,523025	0,358065 ± 1,156366
Z- показник периферичного скелету	-0,445652 ± 1,201426	0,468354 ± 1,306644	-0,306452 ± 0,458211

Дані тесту ANOVA показали, що суттєвої різниці між трьома групами осіб за T- та Z- показниками на рівні центрального скелету немає (рівень значимості $p > 0,05$). Статистичні показники наведені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

**Статистичні результати аналізу ANOVA для показників DXA-scan
центрального скелету**

Показник	F-тест	p (рівень значимості)
1	2	3
T-показник центрального скелету	0,46	0,634
Z- показник центрального скелету	0,84	0,435

Натомість, для T- та Z- показників периферичного скелету аналіз ANOVA показав суттєву різницю між цими показниками у трьох групах осіб (рівень значимості $p < 0,05$). Статистичні показники наведені у таблиці 3.3.

Для перевірки статистичної достовірності різниці між групами було використано F-тест (тест Фішера).

**Статистичні дані аналізу ANOVA для показників DXA-scan
периферичного скелету**

Показник	F-тест	p (рівень значимості)
1	2	3
T-показник периферичного скелету	6,976	0,00126*
Z-показник периферичного скелету	10,876	0,00004*

*-рівень значимості $p < 0,05$

На наступних рисунках 3.1-3.4 типу ящик з вусами (англ. box-and-whiskers plot) можна побачити медіану, верхні та нижні кватилі, максимальні та мінімальні значення вибірки, а також наявність викидів серед показників DXA-SCAN.

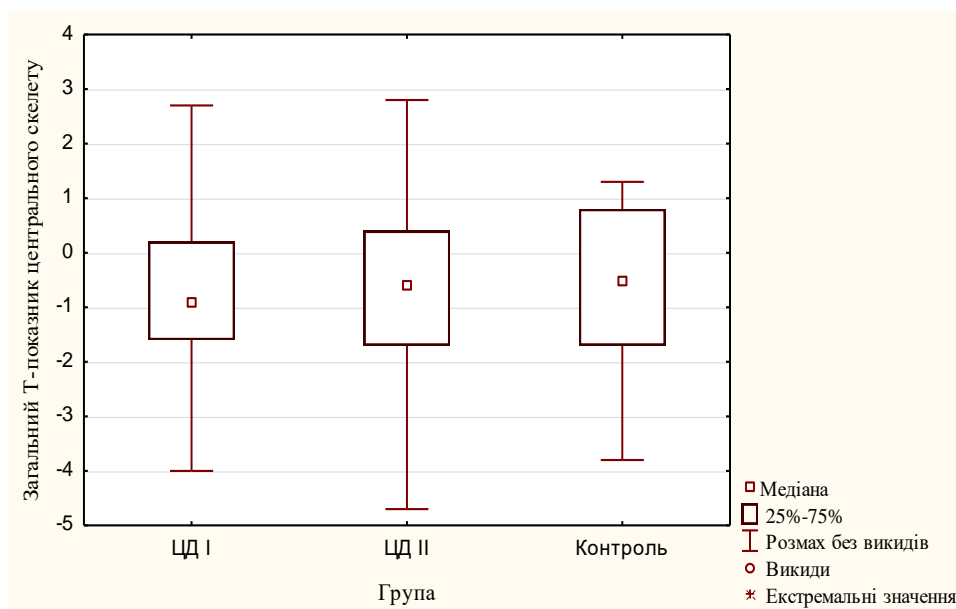


Рисунок 3.1. Діаграма box-and-whiskers для T-показника центрального скелету у трьох групах

На рисунках 3.1 та 3.2 графічно помітно відсутність статистично достовірної різниці в середніх значеннях T- та Z-показників центрального скелету між 3-ма групами порівняння.

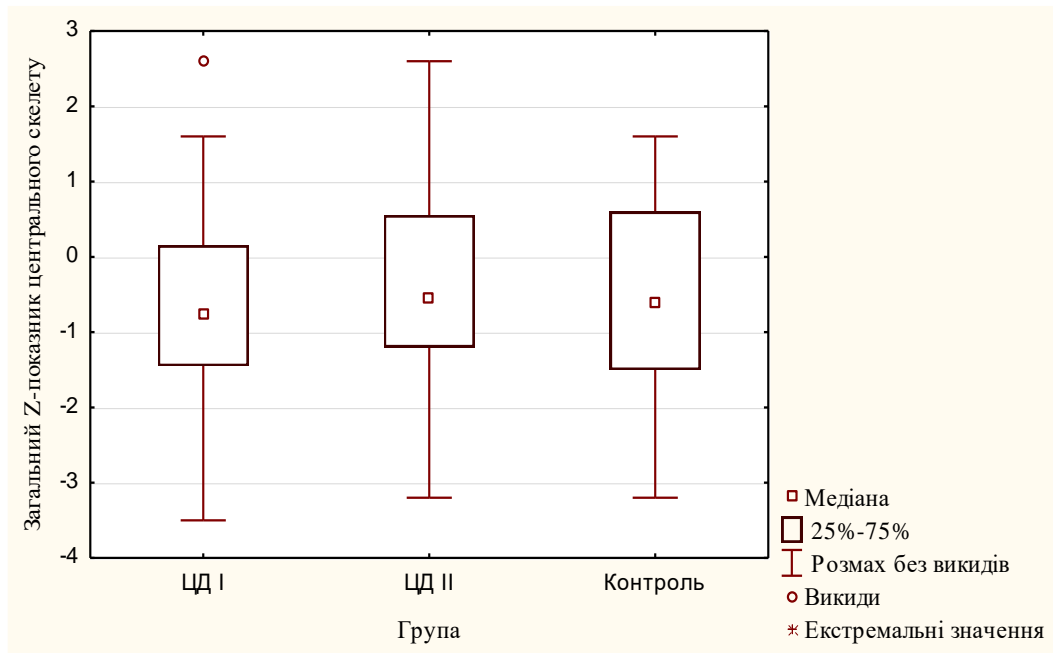


Рисунок 3.2. Діаграма box-and-whiskers для Z-показника центрального скелету у трьох групах

Натомість, на рисунках 3.3 та 3.4 графічно помітна статистично достовірна різниця середніх значень T- та Z-показників периферичного скелету між 3-ма групами порівняння.

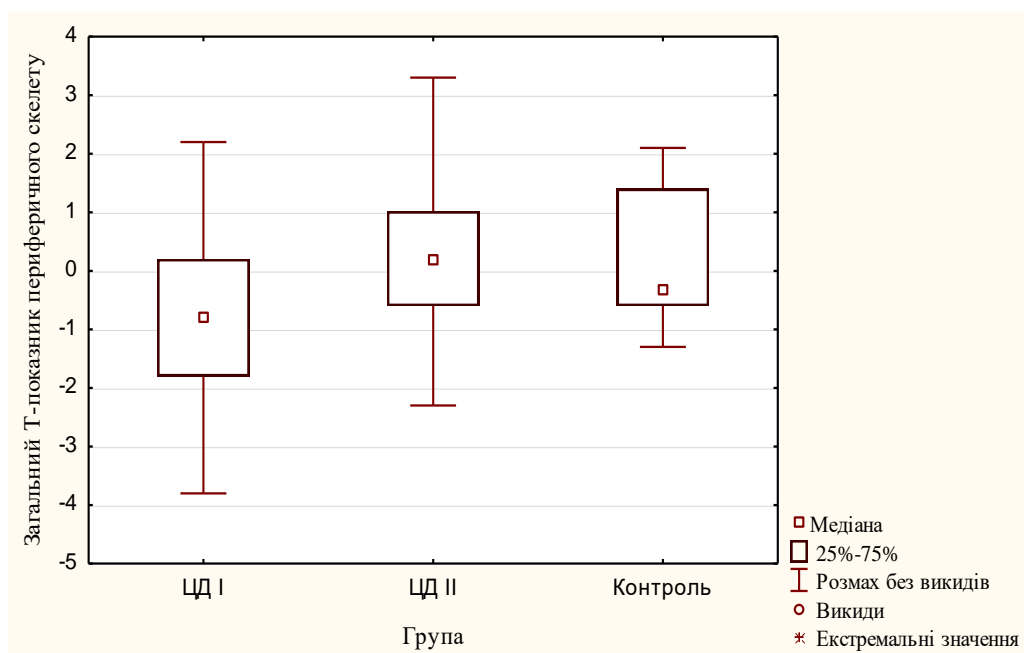


Рисунок 3.3. Діаграма box-and-whiskers для T-показника периферичного скелету у трьох групах

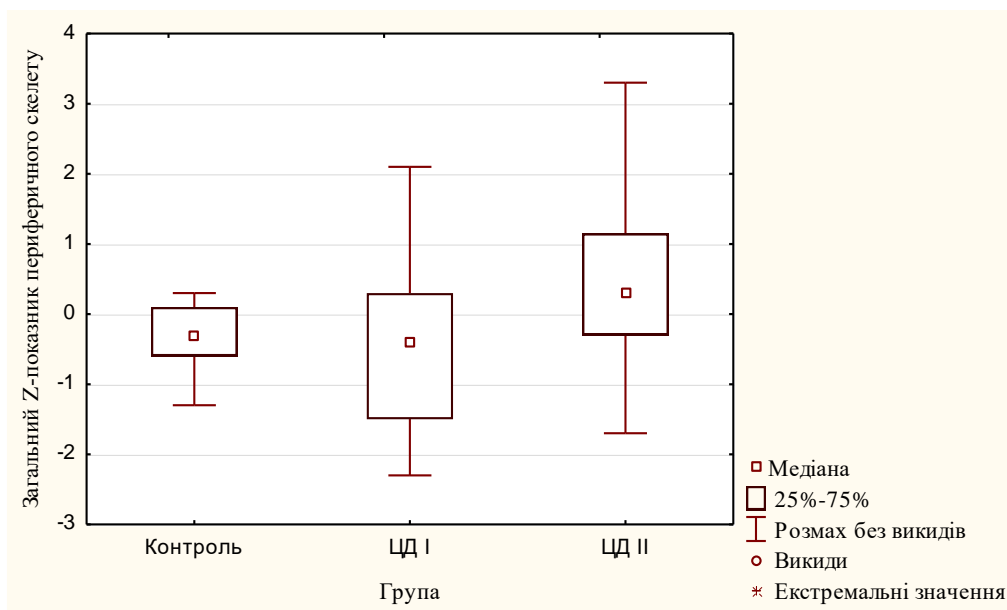


Рисунок 3.4. Діаграма box-and-whiskers для Z-показника периферичного скелету у трьох групах

Враховуючи наявність статистично достовірної різниці T- та Z-показників периферичного скелету між групами ($p=0,00126$ та $p=0,00004$ відповідно), з метою визначення попарних відмінностей проведено POST-HOC тест з розрахунком показника Tuckey HSD (honest significant difference) для нерівнозначних вибірок. Для T-показника периферичного скелету було виявлено, що існує його суттєва різниця між групою ЦД 1-го типу та контрольною групою ($p=0,003962$) та між групою ЦД 1-го типу та ЦД 2-го типу ($p=0,002375$). 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 ($p=0,0100$) та між групою ЦД 1-го типу та ЦД 2-го типу ($p=0,0001040$). Статистично достовірної різниці по Z-показнику периферичного скелету між контрольною та групою ЦД 1-го типу не виявлено ($p=0,86169$).

Також було проаналізовано наявність статистично достовірної різниці за T- та Z-показниками між чоловіками та жінками у кожній з трьох груп за допомогою попарного T-тесту та тесту Манна-Уїтні для контрольної групи, оскільки розподіл даних в цій групі не був нормальним при групуванні за статтю.

Дані наведені у таблицях № 3.4-3.6.

Таблиця 3.4

Парний Т-тест для порівняння відмінностей між чоловіками та жінками у групі ЦД 2-го типу

Показник	Середнє значення жінки	Середнє значення чоловіки	р рівень значимості	Стандартне відхилення жінки	Стандартне відхилення чоловіки
1	2	3	4	5	6
Т-показник центрального скелету	-0,862	-0,138	0,041*	1,577	1,157
Z- показник центрального скелету	-0,423	-0,223	0,541	1,366	1,344
Т-показник периферичного скелету	-0,180	0,851	0,003*	1,494	1,361
Z- показник периферичного скелету	0,251	0,885	0,040*	1,223	1,383

*-рівень значимості $p < 0,05$

Отже, ми бачимо, що Т-показник центрального скелету, Z-показник центрального скелету та Z-показник периферичного скелету суттєво не відрізняються у жінок у порівнянні з чоловіками у групі ЦД 2-го типу. Лише Z-показник центрального скелету є достовірно нижчим у жінок з ЦД 2-го типу у порівнянні з чоловіками.

У групі пацієнтів з ЦД 1-го типу суттєво нижчим є лише Т-показник периферичного скелету у жінок порівняно з чоловіками, всі інші відносні показники рентгенівської денситометрії суттєво не відрізняються між статями.

Таблиця 3.5

Парний Т-тест для когорт чоловіків та жінок у групі ЦД 1-го типу

Показник	Середнє значення жінки	Середнє значення чоловіки	р рівень значимості	Стандартне відхилення жінки	Стандартне відхилення чоловіки
1	2	3	4	5	6
Т-показник центрального скелету	-1,1125	-0,495455	0,133	1,223790	1,504431
Z- показник центрального скелету	-0,756	-0,559259	0,569	1,004191	1,418900
Т-показник периферичного скелету	-1,10417	-0,245455	0,035*	1,334974	1,342963
Z- показник периферичного скелету	-0,76250	-0,100000	0,061	1,077764	1,257359

*-рівень значимості $p < 0,05$

У контрольній групі практично здорових осіб відмінностей у відносних показниках рентгенівської денситометрії (DXA-SCAN) між статями не виявлено.

Таблиця 3.6

Тест Манна-Уїтні для когорти чоловіків та жінок у контрольній групі

Показник	Показник U	Показник Z	P (рівень значимості)
1	2	3	4
Т-показник центрального скелету	81,50000	0,281387	0,778413
Z- показник центрального скелету	83,50000	0,187592	0,851197
Т-показник периферичного скелету	87,50000	0,000000	1,000000

1	2	3	4
Z- показник периферичного скелету	75,00000	0,586224	0,557726

Ми провели аналіз поширеності остеопенії та остеопорозу у групах дослідних групах осіб з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу та отримані наступні дані:

1. У групі пацієнтів з ЦД 1-го типу за Т-показником центрального скелету 14,8% осіб мають остеопенію та 7,4% осіб на рівні поперекового відділу хребта з ураженням різних хребців. Середній вік осіб, які мають Т-показник центрального скелету поза межами норми (нижче -1,5) склав $48,83 \pm 13,33$ роки. Середній вік осіб з нормальними Т показником центрального скелету є суттєво нижчим і складає $31,47 \pm 12,05$ років ($p=0,000076$). 14,8% осіб з цукровим діабетом 1-го типу мають Z-показник центрального скелету нижче -2, що трактується як МЦКТ нижче очікуваної для даного віку. Середній вік цих пацієнтів $30,5 \pm 14,4$ роки. Також у цій групі за Т-показником периферичного скелету 20,37% осіб мають остеопенію, а 5,5% остеопороз на рівні кульшових суглобів. Середній вік осіб, які мають Т-показник периферичного скелету поза межами норми (нижче -1,5) склав $45,07 \pm 14,08$ роки. 9,2% осіб мають нижче очікуваної для даного віку МЦКТ за Z-показником периферичного скелету. Середній вік даних пацієнтів $36,8 \pm 18,94$ роки.

2. У групі пацієнтів з ЦД 2-го типу за Т-показником центрального скелету 18,7% осіб мають остеопенію та 8,4% осіб на рівні поперекового відділу хребта. Середній вік осіб, які мають Т-показник центрального скелету поза межами норми (нижче -1,5) склав 57 ± 10 років. Середній вік осіб з нормальними Т показником центрального скелету не був суттєво нижчим і склав $55 \pm 8,7$ років ($p=0,28$). 13,25% осіб з цукровим діабетом 2-го типу мають Z-показник центрального скелету нижче -2, що трактується як МЦКТ нижче очікуваної для даного віку. Середній вік цих пацієнтів $55 \pm 9,9$ років. Також у даній групі за Т-показником периферичного скелету лише 8,4% осіб мають остеопенію 2,4%

остеопороз на рівні кульшових суглобів. Середній вік осіб, які мають Т-показник периферичного скелету поза межами норми (нижче -1, 5) склав 60 ± 10 років. 1,2% осіб мають нижче очікуваної для даного віку МЩКТ за Z-показником периферичного скелету. Це лише одна пацієнтка віком 69 років

Для проведення подальшого регресійного аналізу з метою визначення, які біохімічні чи клінічні показники можуть визначати варіацію відносних показників щільності кісткової тканини за даними рентгенівської денситометрії, ми провели попередній корелятивний аналіз між різними лабораторними та клінічними показниками нашої вибірки та показниками DXA-SCAN. В таблиці 3.7 наведено коефіцієнти кореляції між показниками DEXA-scan та показниками глікованого гемоглобіну (HbA1C), сечової кислоти, тригліцеридів та холестерину плазми крові, швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), білку в добовій сечі, індексу маси тіла (ІМТ) у групі пацієнтів з ЦД 1-го типу.

Таблиця 3.7

Коефіцієнти кореляції між показниками DEXA-scan та лабораторно-клінічними показниками у групі ЦД 1-го типу

Показник Показник	HbA1C	Триглі цериди	Холест ерин загальн ий	ШКФ	Білок добова сеча	ІМТ	Сечова кислота
1	2	3	4	5	6	7	8
Т-показник центральног о скелету	-0,2459	-0,0557	-0,0902	0,3402	-0,0004	-0,1277	-0,3430
Z- показник центральног о скелету	-0,1150	-0,1040	-0,2069	0,1621	-0,0121	-0,2987	-0,2408
Т-показник периферичн ого скелету	-0,3094	-0,0325	0,0188	0,35843	0,0163	0,0515	-0,3908
Z- показник периферичн ого скелету	-0,2005	-0,0601	-0,1154	0,2658	0,0134	-0,0753	-0,3420

*Червоним виділено значимий коефіцієнт кореляції (вище 0,3 або нижче -0,3)

Ці дані свідчать про те, що в групі пацієнтів з ЦД 1-го типу існує слабка позитивна кореляція між ШКФ та Т-показниками як центрального, так і периферичного скелету. Слабка негативна кореляція спостерігається між Т-показниками центрального та периферичного скелету, Z-показником периферичного скелету та рівнем сечової кислоти плазми крові. Слабка мінімальна негативна кореляція спостерігається також між рівнем глікованого гемоглобіну та Т-показником периферичного скелету. Також було проаналізовано кореляцію між віком пацієнтів та показниками рентгенівської денситометрії у групі ЦД 1-го типу. Дані аналізу наведені на рисунках 3.5-3.8.

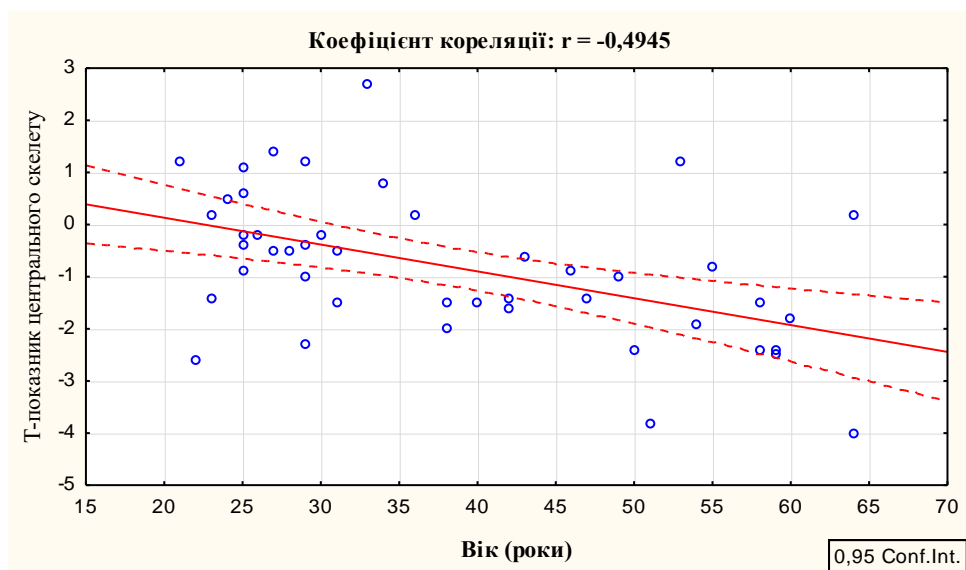


Рисунок 3.5. Графік кореляції Т-показника центрального скелету з віком
Група ЦД 1-го типу

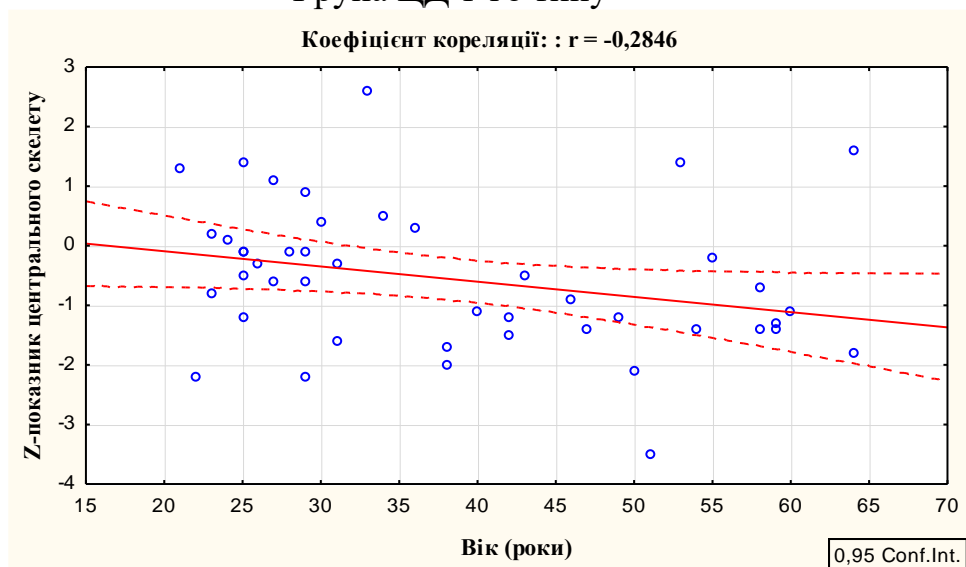


Рисунок 3.6. Графік кореляції Z-показника центрального скелету з віком

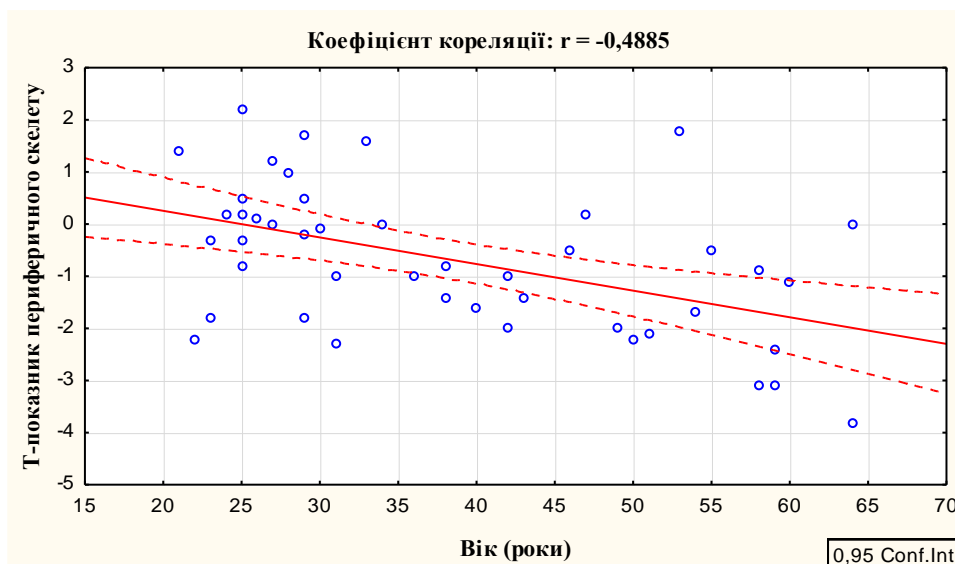


Рисунок 3.7. Графік кореляції T-показника периферичного скелету з віком
Група ЦД 1-го типу

На рисунках 3.5 – 3.8 можна прослідкувати, що такі показники DXA-SCAN як T-показник центрального скелету та периферичного скелету та Z-показник периферичного скелету скелету зворотно корелюють з віком у групі ЦД 1-го типу. Зворотня кореляція Z-показника центрального скелету з віком у цій групі є статистично достовірною (ДІ 0,5), проте слабкою ($r=-0,2846$).

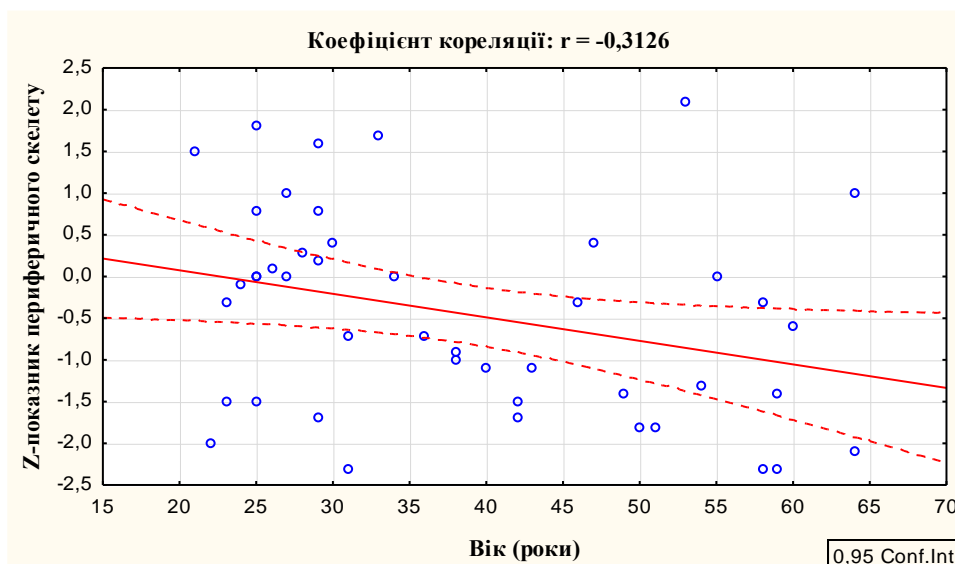


Рисунок 3.8. Графік кореляції Z-показника периферичного скелету з віком
Група ЦД 1-го типу

В таблиці 3.8 наведено коефіцієнти кореляції між показниками DXA-SCAN та показниками глікованого гемоглобіну, сечової кислоти, тригліцеридів та

холестерину плазми крові, ШКФ, білку в добовій сечі, ІМТ у групі пацієнтів з ЦД 2-го типу.

Таблиця 3.8

Коефіцієнти кореляції між показниками Dexa-SCAN та лабораторно-клінічними показниками у групі ЦД 2-го типу

Показник	НьА1С	Тригліцериди	Холестерин загальний	ШКФ	Білок добова сеча	ІМТ	Сечова кислота
1	2	3	4	5	6	7	8
Т-показник центрального скелету	-0,0153	-0,0905	-0,0958	0,1732	-0,0036	-0,0051	0,2634
Z-показник центрального скелету	-0,0223	-0,1866	-0,0437	-0,0235	0,0443	-0,1791	0,2525
Т-показник периферичного скелету	-0,0528	0,1334	0,1158	-0,0586	0,0529	0,2335	0,4055
Z-показник периферичного скелету	-0,0542	0,0738	0,1371	-0,1509	0,0682	0,1428	0,4206

*Червоним виділено значимий коефіцієнт кореляції (вище 0,3 або нижче -0,3, $p < 0,05$)

В групі пацієнтів з ЦД 2-го типу слабка позитивна кореляція спостерігається лише між Т- та Z-показником периферичного скелету та рівнем сечової кислоти сироватки крові.

Для цієї групи також було проаналізовано кореляцію між віком пацієнтів та показниками DXA-SCAN. Дані аналізу наведені на рисунках 3.9-3.12.

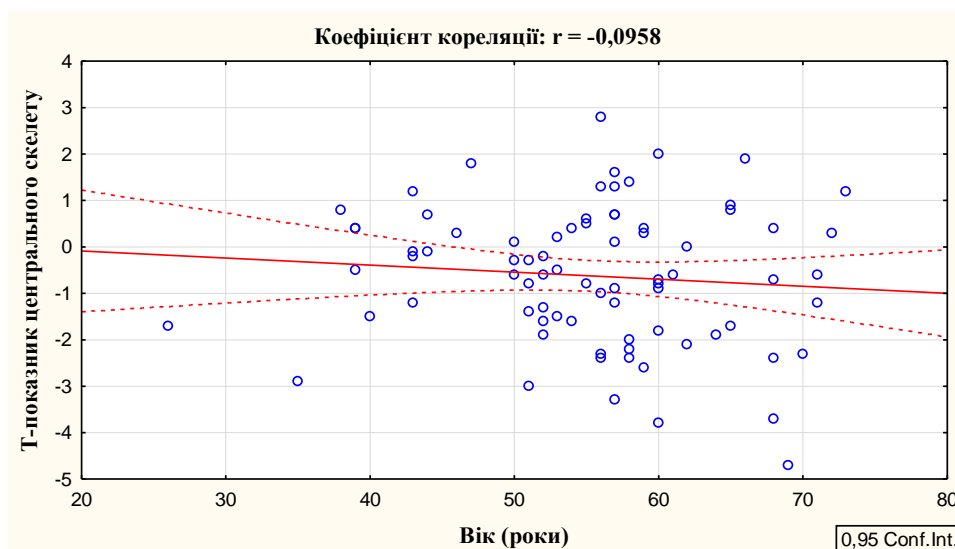


Рисунок 3.9. Графік кореляції Т-показника центрального скелету з віком
Група ЦД 2-го типу

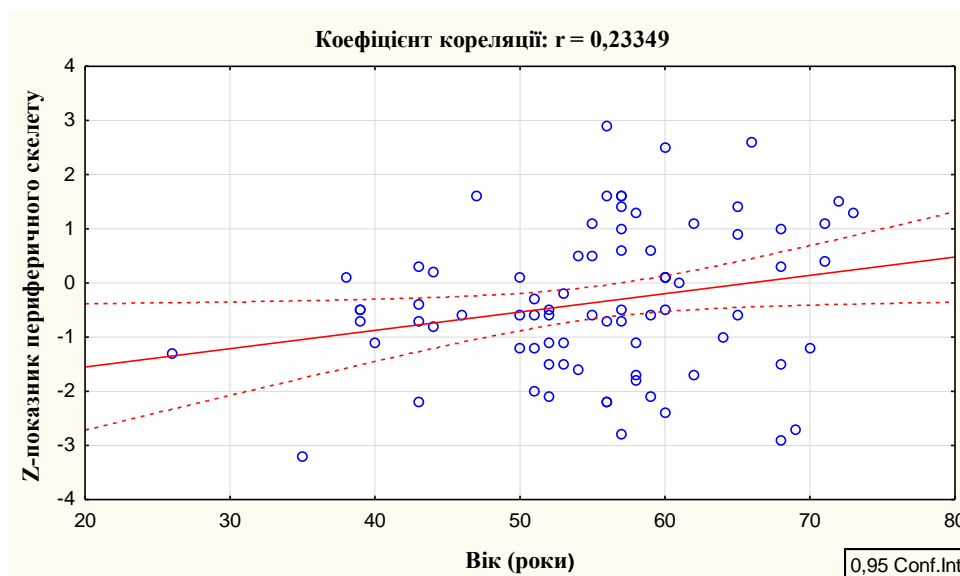


Рисунок 3.10.Графік кореляції Z-показника центрального скелету з віком

На рисунках 3.9-3.12 помітно, що суттєва кореляція між показниками DXA-SCAN та віком у групі пацієнтів з ЦД 2-го типу відсутня.

Нами також були проаналізовані результати обстеження пацієнтів з ЦД 1-го та 2-го типу на рівень вітаміну 25(OH) D, ПТГ, кальцію іонізованого та магнію у

сироватці крові (n=15 у кожній групі (ЦД 1-го типу, ЦД 2-го типу, контрольна група).

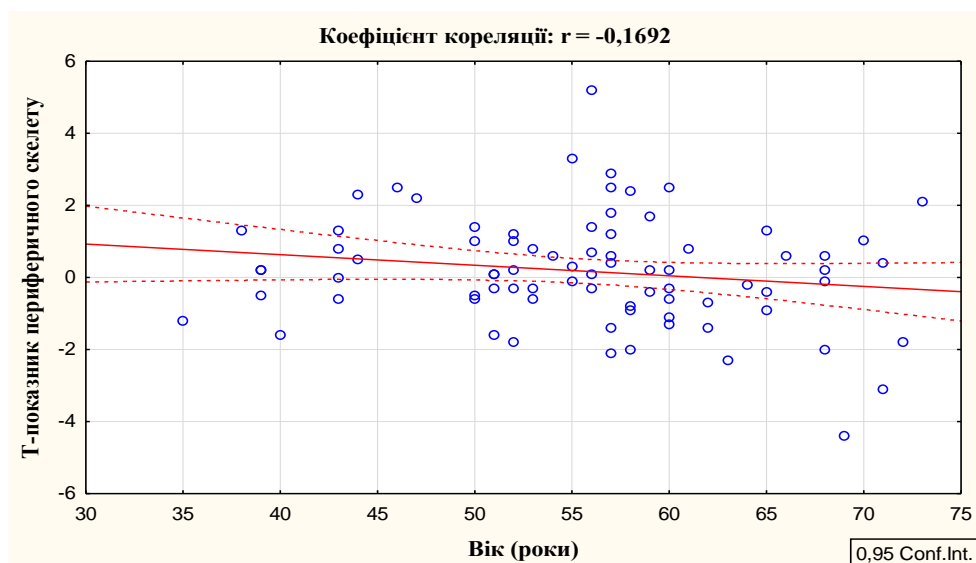


Рисунок 3.11.Графік кореляції Т-показника периферичного склету з віком
Група ЦД 2-го типу

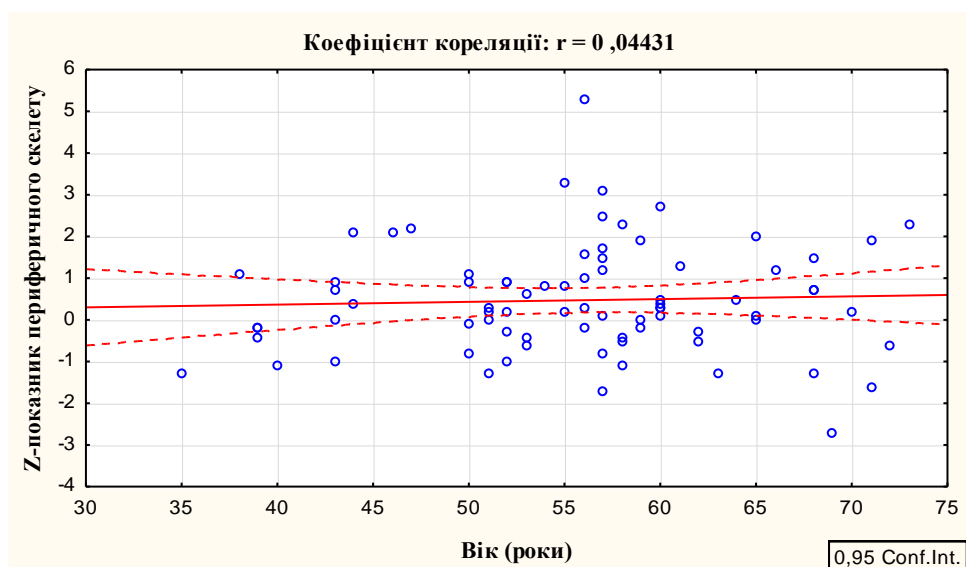


Рисунок 3.12. Графік кореляції Z-показника периферичного скелету з віком

Ці дані були порівняні за допомогою аналізу ANOVA, який показав наявність суттєвої різниці між групами ($p=0,0034$). Проте, лише деякі з цих

пацієнтів мали також дані денситометрії виконані в той самий період часу, що унеможливило порівняння рівня вітаміну D та показників DEXA-SCAN.

Результати попарного порівняння за допомогою POST НОС тесту групи ЦД 2-го типу з контрольною групою за показниками рівня вітаміну 25(OH)D, ПТГ, кальцію іонізованого та магнію наведені в таблиці 3.9.

Таблиця 3.9

Порівняння показників 25(OH)D , Mg, Ca²⁺ та ПТГ між групою ЦД 2-го типу та контрольною групою

Середнє±СВ	Особи з цукровим діабетом II типу n=15	Особи без діабету n=10	Рівень значимості p	Референтні значення
Показник				
1	2	3	4	5
25(OH)D нг/мл	20,62±4,64	35,14±4,24	p< 0,001*	> 75 нмоль/л
Магній моль/л	0,72±0,091	0,87±0,056	p< 0,05*	0,53-1,11 ммоль/л
Кальцій іонізований моль/л	1,27±0.029	1,236±0.009	p< 0,05*	1,09-1,35 ммоль/л
ПТГ пг/мл	41,45±9,1	48,87±13,9	p> 0,05	15 - 65 пг/мл

*p<0,05

В таблиці 3.10 наведені усереднені результати дослідження вітаміну 25(OH)D, ПТГ, кальцію іонізованого та магнію у хворих на ЦД 1-го типу та їх порівняння з особами без діабету за допомогою POST-НОС тесту.

Дефіцит вітаміну D (< 50 нмоль/л) виявлено у 100 % (n=15) хворих на цукровий діабет 1-го типу та 70 % (n=11) хворих на цукровий діабет 2-го типу. Існує достовірна різниця з контролем як у групі хворих з ЦД 1-го типу, так і ЦД

2-го типу ($p < 0,001$). Показник ПТГ є суттєво вищим у групі хворих на ЦД 1-го типу (75,20 нг/мл) у порівнянні зі здоровим контролем (48,87 нг/мл) – $p < 0,05$. Різниця між рівнем ПТГ у групі хворих на ЦД 2-го типу і у контрольній групі є статистично незначимою.

Таблиця 3.10

Порівняння показників 25 (ОН) D , Mg, Ca²⁺ та ПТГ між групою ЦД 1-го типу та контрольною групою

Середнє±СВ Показник	Особи з цукровим діабетом 1-го типу n=10	Контрольна група n=20	Рівень значимості p	Референтні значення
1	2	3	4	5
25(ОН)D нг/мл	15,5±3,42	35,14±4,24	p< 0,001*	> 75 нмоль/л
Магній моль/л	0,84±0,147	0,87±0,056	p> 0,05	0,53-1,11 ммоль/л
Кальцій іонізований моль/л	1,26±0.052	1,236±0.009	p> 0,05	1.09-1.35 ммоль/л
ПТГ нг/мл	75,20±14,2	48,87±13,9	p<0,05*	15 - 65 нг/мл

* $p < 0,05$

Виявлено зворотню кореляцію середньої сили між рівнем 25(ОН)D та ПТГ (коефіцієнт кореляції $r -0,59$, $p < 0,05$) у осіб з ЦД 1-го типу. Кореляції між рівнем ПТГ та рівнем вітаміну D у групі осіб з ЦД 2-го типу не виявлено. Слабку

зворотню кореляцію між рівнем вітаміну D та ПТГ виявлено у контрольній групі (коефіцієнт кореляції $r = -0,36$, $p < 0,05$).

Рівень кальцію іонізованого у групі осіб з цукровим діабетом 2-го типу є достовірно вищим, а рівень магнію у групі осіб з цукровим діабетом 2-го типу є достовірно нижчим ($p < 0,05$).

Для розробки прогнозу щодо того, які фактори впливають на показники денситометрії центрального та периферичного скелету у даній вибірці, було проведено множинний регресійний аналіз для кожного денситометричного показника застосовуючи обернений вибір незалежних факторів (backward selection).

Для Т-показника центрального скелета впливовими виявилися лише три фактори: це фактор наявності діабету, вік та стать. Дані множинного регресійного аналізу наведені в таблиці 3.11.

Таблиця 3.11

Множинний регресійний аналіз для Т-показника центрального скелету

Фактор	b*	Стандартна похибка b	b	t	P (рівень значимості)
1	2	3	4	5	
Наявність діабету	0,275	0,109	0,78	2,52	0,012*
Вік	- 0,293	0,109	- 0,02	-2,68	0,008*
Стать	- 0,182	0,088	- 0,51	-2,06	0,041*

* $p < 0,05$

$R^2 = 0,099$

$R^2 \text{ adjusted} = 0,078$

P моделі в цілому = 0,0061

Даний рівень значимості свідчить про достовірність моделі в цілому, проте коефіцієнти детермінації R^2 свідчать, що дані фактори пояснюють лише 7-9,99% варіації Т-показника центрального скелету, що знижує прогностичну значимість моделі.

Для Т-показника периферичного скелету впливовими виявилися фактор наявності діабету, вік та стать та ІМТ. Дані множинного регресійного аналізу наведені в таблиці 3.12.

Таблиця 3.12

Множинний регресійний аналіз для Т-показника периферичного скелету

Фактор	b*	Стандартна похибка b	b	t	P (рівень значимості)
1	2	3	4	5	6
Вік	-0,448	0,136	-0,04	-3,27	0,001*
Наявність діабету	0,406	0,155	1,06	2,61	0,011*
Стать	0,241	0,110	0,61	2,17	0,033*
ІМТ	0,402	0,141	0,08	2,84	0,006*

* $p < 0,05$

$R^2 = 0,035$

$R^2 \text{ adjusted} = 0,031$

P моделі в цілому = 0,000039

Отриманий рівень значимості свідчить про достовірність моделі в цілому, коефіцієнти детермінації R^2 свідчать, що дані фактори пояснюють 31-35% варіації Т-показника периферичного скелету, що підвищує прогностичну значимість моделі.

Для Z-показника як центрального, так і перинного скелету жоден із потенційних факторів впливу не пройшов рівень значимості моделі.

Висновки до розділу 3

1. Ретроспективне дослідження медичної документації стаціонарних хворих з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу та їх порівняння з особами контрольної групи, показало, що:

- відносні показники денситометрії периферичного скелету на рівні кульшових суглобів суттєво відрізняються між 3-ма групами ($p < 0,01$ для T- та Z-показника периферичного скелету).

- POST-НОС показав, що T-показник периферичного скелету є нижчим у групі осіб з ЦД 1-го типу у порівнянні з контрольною групою та групою ЦД 2-го типу, проте статистично значимої різниці між групою ЦД 2-го типу і контрольною групою за цим показником не виявлено. Щодо Z-показника то він є достовірно вищим у групі хворих з ЦД 2-го типу порівняно з контрольною групою та групою ЦД 1-го типу. За даним показником, достовірної різниці між контрольною групою та групою ЦД 1-го типу не виявлено.

- жінки мають нижчу МЩКТ як центрального так і периферичного скелету у порівнянні з чоловіками у групі ЦД 2-го типу, у групі ЦД 1-го типу суттєво нижчі показники у жінок спостерігаються лише за T-показником периферичного скелету.

- корелятивний аналіз показав, що у групі ЦД 1-го типу T-показник як центрального так і периферичного скелету слабо позитивно корелює з ШКФ. Також спостерігається слабка зворотня кореляція між рівнем сечової кислоти та показниками денситометрії в цій групі. Рівень глікованого гемоглобіну слабо негативно корелює лише з T-показником периферичного скелету ($r = -0,3094$)

- у групі ЦД 2-го типу, навпаки, спостерігається позитивна кореляція між рівнем сечової кислоти та денситометричними показниками периферичного скелету. Жоден інший клінічний чи біохімічний показник не корелює з показниками DXA-SCAN.

- у обох дослідних групах виявлено дефіцит вітаміну D (нижче 50 нмоль/л). Рівень вітаміну D є достовірно нижчим у групі ЦД 1-го типу та 2-го типу у порівнянні зі здоровим контролем. Паратиреоїдний гормон є суттєво вищим у

групі ЦД 1-го типу у порівнянні з контрольною групою, також у групі ЦД 1-го типу він досить суттєво корелює з рівнем вітаміну D.

- регресійний аналіз показав, що лише T-показники центрального та периферичного скелету можна частково передбачити за допомогою врахування комбінованого впливу наявних факторів, але моделі є достатньо слабкими, що свідчить про те, що лише низький рівень варіативності T-показників залежить від врахованих факторів, таких як вік, наявність діабету, стать та ІМТ.

РОЗДІЛ 4
ОСОБЛИВОСТІ РІВНЯ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ВІТАМІНОМ D
НАСЕЛЕННЯ ЗАКАРПАТСЬКОЇ ОБЛАСТІ ТА АНАЛІЗ ЙОГО
КОРЕЛЯТИВНИХ ЗВ'ЯЗКІВ З ГОРМОНАЛЬНИМИ ТА БІОХІМІЧНИМИ
ПОКАЗНИКАМИ

4.1. Аналіз сезонного коливання рівня 25(ОН)D та поширеності дефіциту вітаміну D у дорослих та дітей Закарпатської області

На другому етапі дослідження, з 1639 дорослих обстежених на рівень вітаміну D за метаболітом 25(ОН)D в 2019 році в приватних лабораторних центрах 41% мали рівень вітаміну 25(ОН)D нижче 20 нг/мл, а 4,8% рівень нижче 10 нг/мл. Досліджено середній рівень вітаміну 25(ОН)D протягом кожного місяця року, як в цілому серед дорослого населення, так і серед чоловіків та жінок окремо. Дані по випадковій вибірці з числа обстежених наведені в таблиці 4.1.1.

Таблиця 4.1.1

Помісячні середні рівні вітаміну 25 (ОН)D в остежених жителів Закарпатської області

Місяць	Середній рівень 25 (ОН) D (нг/мл)	Кількість обстежених	Середнє стандартне відхилення (нг/мл)
1	2	3	4
січень	21,09496	125	8,740601
лютий	19,44805	174	7,667391
березень	21,56738	130	9,175733
квітень	21,02709	127	8,444707

Продовження таблиці 4.1.1

1	2	3	4
травень	20,74603	151	7,588533
червень	23,12350	137	8,184704
липень	26,83353	139	9,562510
серпень	23,59496	125	7,714381
вересень	26,97938	129	8,007460
жовтень	23,86948	134	8,587436
листопад	23,61140	136	8,831613
грудень	21,17182	132	7,584063
Протягом року	22,67206	1639	8,631762

З 1459 дорослих жінок обстежених в 2019 році 43% (n=638) мали рівень метаболіту 25(OH)D нижче 20 нг/мл, а 5% (n=73) рівень нижче 10 нг/мл.

Дані щодо досліджуваних жінок наведені в таблиці 4.1.2.

Таблиця 4.1.2

**Помісячні середні рівні вітаміну 25(OH)D серед обстежених жінок
Закарпатської області**

Місяць	Середній Рівень 25 (OH) D (нг/мл)	Кількість обстежених	Середнє стандартне відхилення (нг/мл)
1	2	3	4

Продовження таблиці 4.1.2

1	2	3	4
січень	20,55309	111	8,695880
лютий	19,20849	152	7,345626
березень	21,08222	117	8,530843
квітень	20,63518	114	8,262641
травень	20,75321	134	7,724716
червень	22,76933	119	8,018844
липень	25,75950	119	8,362249
серпень	23,10431	116	7,339036
вересень	26,65349	109	8,306655
жовтень	23,33405	126	8,360810
листопад	23,79378	127	8,858356
грудень	20,52435	115	7,627822
Протягом року	22,26540	1459	8,375004

Зі 180 дорослих чоловіків обстежених щодо рівня циркулюючого вітаміну D в 2019 році 27% (n=49) мали рівень метаболіту 25(OH)D нижче 20 нг/мл, а 3,3% (n=6) рівень нижче 10 нг/мл.

Дані щодо помісячних середніх рівнів 25(OH)D серед обстежених чоловіків Закарпатської області наведені в таблиці 4.1.3.

**Помісячні середні рівні вітаміну 25(OH)D серед обстежених чоловіків
Закарпатської області**

Місяць	Середній рівень 25(OH)D (нг/мл)	Кількість обстежених	Середнє стандартне відхилення (нг/мл)
1	2	3	4
січень	25,06867	15	8,28861
лютий	21,10318	22	9,64561
березень	25,93385	13	13,36571
квітень	24,46385	13	9,57315
травень	20,68941	17	6,62164
червень	25,46500	18	9,10502
липень	31,30421	19	10,57505
серпень	29,91889	9	9,98452
вересень	28,75550	20	5,98490
жовтень	32,30250	8	8,15054
листопад	21,03778	9	8,50391
грудень	25,55176	17	5,74230
Протягом року	25,70478	180	9,37718

Графічне порівняння середньомісячних рівнів 25(OH)D між жінками та чоловіками з загальної вибірки наведено на рисунку 4.1.1.

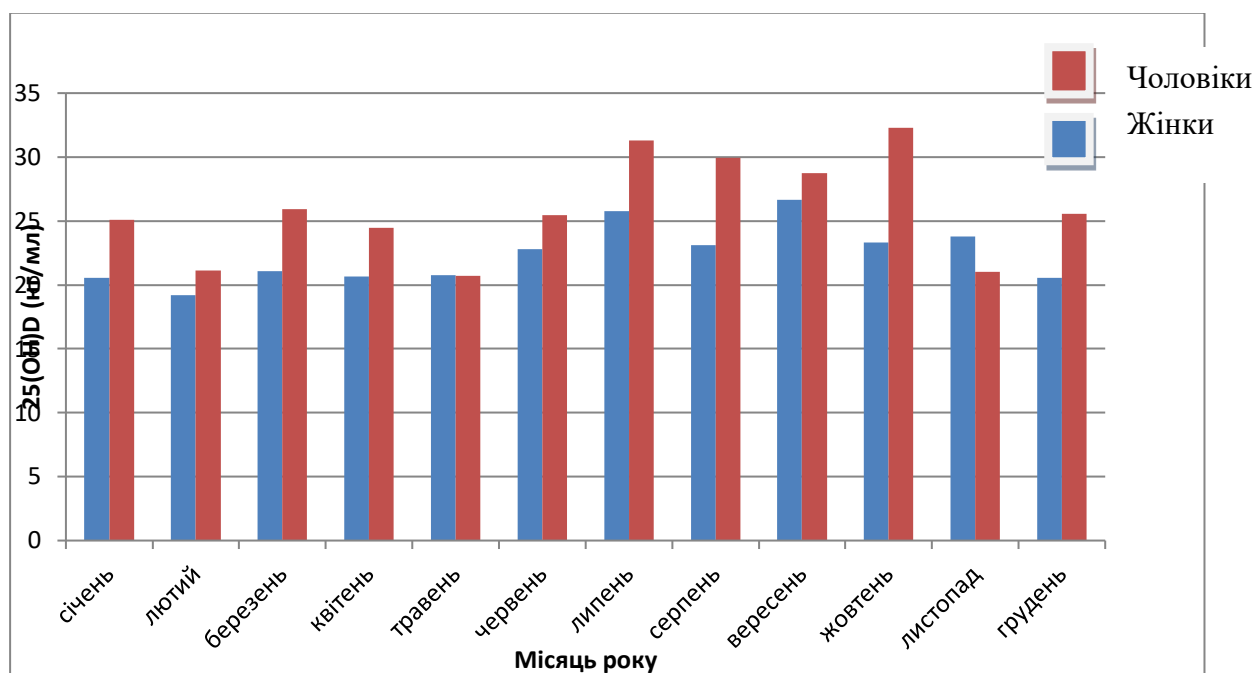


Рисунок 4.1.1. Порівняння середніх рівнів 25(OH)D у жінок та чоловіків помісячно в випадковій вибірці обстежених в мережі приватних лабораторій Закарпатської області

Дані порівняння середньорічного показника метаболіту 25(OH)D в загальній популяції Закарпатської області наведені в таблиці 4.1.4.

Таблиця 4.1.4

Дані Т-тесту середньорічного показника 25(OH)D між чоловіками та жінками у випадковій вибірці обстежених Закарпатської області

Середнє значення 25(OH)D Жінки (нг/мл)	Середнє значення 25(OH)D Чоловіки (нг/мл)	P (рівень значимості)	СВ 25(OH)D Група діабету (нг/мл)	СВ 25(OH)D Група без діабету (нг/мл)
1	2	4	5	6
22,45	26,18	0,00000*	8,6093	9,9653

Для проведення подальшого порівняння наших даних з іншими Європейськими та світовими дослідженнями нами було розраховано середній рівень вітаміну 25(OH)D в зимові місяці в загальній популяції, а також в різних підгрупах населення (таблиця 4.1.5)

Таблиця 4.1.5

Середні значення рівня 25(OH)D в зимові місяці в загальній випадковій вибірці обстежених та її підгрупах. Поширеність дефіциту вітаміну D застосовуючи норму за NAM та ES, USA

Показник	Загальна популяція	Чоловіки	Жінки	Діти
1	2	3	4	5
Середній рівень 25(OH)D в зимові місяці нг/мл	20,84	23,91	20,09	21,31
Відсоток осіб з дефіцитом вітаміну D нижче 20 нг/мл	51,74%	30,18%	54,64%	46,5%
Відсоток осіб з дефіцитом вітаміну D нижче 10 нг/мл	8,12%	5,66%	8,48%	4,6%

Середні значення 25(OH)D протягом року в загальній популяції та підгрупах населення наведені в таблиці 4.1.6.

Таблиця 4.1.6

Середні значення рівня 25(OH)D протягом року в загальній випадковій вибірці обстежених та її підгрупах. Поширеність дефіциту вітаміну D, застосовуючи норму за NAM та ES, USA

Показник	Загальна популяція	Чоловіки	Жінки	Діти
1	2	3	4	5
Середній рівень 25(OH)D протягом року нг/мл	22,67	25,7	22,3	26,00
Відсоток осіб з дефіцитом вітаміну D нижче 20 нг/мл	41,9%	25,00%	43,7%	29,8%
Відсоток осіб з дефіцитом вітаміну D нижче 10 нг/мл	4,82%	3,3 %	5%	1,63%

Також, з метою порівняння та узагальнення ми провели аналіз середньорічного рівня вітаміну 25(OH)D в різних вікових групах обстежених, а

також розрахували поширеність дефіциту вітаміну 25(OH)D в кожній із цих вікових груп у відсотках.

Дані наведені в таблиці 4.1.7.

Таблиця 4.1.7

**Середні значення середньорічного рівня 25(OH)D в різних вікових групах
Поширеність дефіциту вітаміну D, застосовуючи норму за NAM та ES у
різних вікових групах**

Показник	Вік 18-25 (n=232)	Вік 26-35 (n=470)	Вік 36-45 (n=394)	Вік 46-60 (n=412)	Вік > 60 (n=131)
1	2	3	4	5	6
Середній рівень 25(OH) D в зимові місяці нг/мл	23,23	24,18	22,45	21,76	19,81
Відсоток осіб з дефіцитом вітаміну D нижче 20 нг/мл	36,20%	35,10%	45,43%	44,1%	58,7%
Відсоток осіб з дефіцитом вітаміну D нижче 10 нг/мл	3,01%	3,40%	4,82%	5,8%	9,9%

Для оцінки дитячого населення ми провели аналіз середньорічного рівня вітаміну 25(OH)D в різних вікових групах дитячого населення загальної популяції Закарпатської області, а також розрахували поширеність дефіциту вітаміну 25(OH)D в кожній із цих вікових груп у відсотках. Дані наведені в таблиці 4.1.8.

Таблиця 4.1.8

Середні значення середньорічного рівня 25(OH)D в різних вікових групах обстежених дітей Закарпатської області.

Поширеність дефіциту вітаміну D у різних вікових групах дітей

Показник	Вік 0-3 (n=23)	Вік 4-8 (n=37)	Вік 8-12 (n=43)	Вік 13-17 (n=81)
1	2	3	4	5
Середній рівень 25(OH)D в зимові місяці нг/мл	38,55	28,55	22,12	23,33
Відсоток осіб з дефіцитом вітаміну D нижче 20 нг/мл	0%	21,62%	41,86%	35,8%
Відсоток осіб з дефіцитом вітаміну D нижче 10 нг/мл	0%	2,7%	4,65%	0%

Статистично значимих відмінностей між дітьми чоловічої та жіночої статі за середнім рівнем 25(OH) D протягом року не виявлено. Дані неведені в таблиці 4.1.9.

Дані Т-тесту середнього середньорічного рівня вітаміну 25(OH)D між дітьми чоловічої та жіночої статі

Середнє значення 25 (OH) D Дівчата (нг/мл)	Середнє значення 25 (OH) D Хлопці (нг/мл)	P (рівень значимості)	СВ 25(OH)D Дівчата (нг/мл)	СВ 25(OH)D Хлопці (нг/мл)
1	2	3	4	5
24,98	27,01	0,2003	10,38	11,01

З усіх наявних лабораторних показників серед дітей достатньо даних було, щоб вивести кореляцію лише по індексу НОМА. Спостерігається негативна кореляція середньої сили між індексом НОМА та рівнем вітаміну 25(OH)D у дітей ($r=0,6114$, $p<0,05$), див. рисунок 4.1.2.

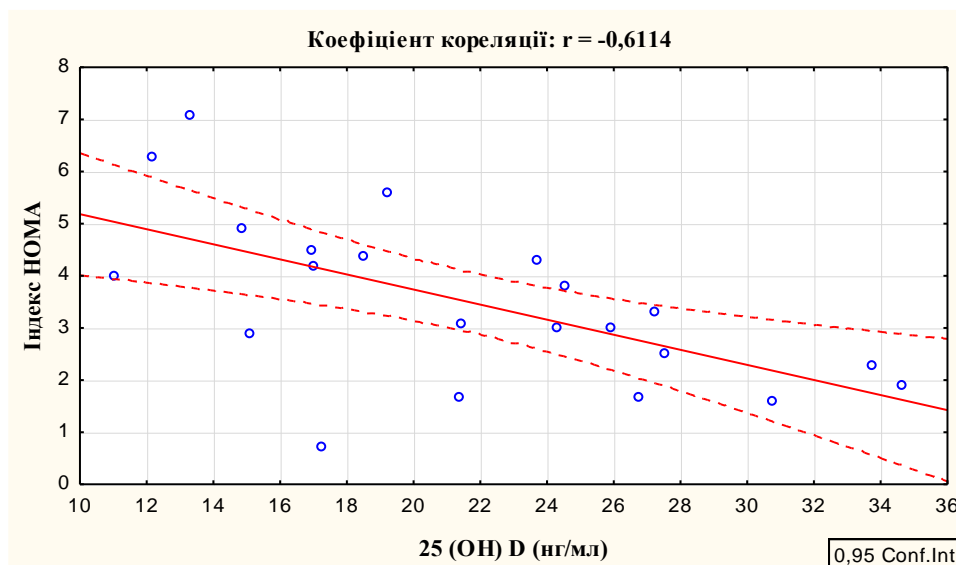


Рисунок 4.1.2. Кореляція між рівнем 25(OH)D та індексом НОМА у дітей

І насамкінець, рівень 25(OH)D протягом року є суттєво вищим у дітей у порівнянні з дорослими. Дані Т-тесту наведені у таблиці 4.1.10

Дані Т-тесту середнього середньорічного рівня вітаміну 25(OH)D між дітьми та дорослими

Середнє значення 25(OH)D Діти (нг/мл)	Середнє значення 25(OH)D Дорослі (нг/мл)	P (рівень значимості)	СВ 25(OH)D Дівчата (нг/мл)	СВ 25(OH)D Хлопці (нг/мл)
1	2	3	4	5
26,00	22,67	0,00001*	10,72	8,63

*Рівень значимості $p < 0,001$

Множинний регресійний аналіз не був можливий в даній вибірці пацієнтів, тобто тих, які пройшли обстеження в приватній лабораторії “Астра Lia”, оскільки при аналізі незалежних факторів (вік, стать, наявність діабету, деяких лабораторних показників) було виявлено, що між ними існує певний рівень мультиколінеарності в даній вибірці. При побудові моделі, було виявлено, що при включенні факторів наявності діабету, статі і віку лише 13% варіативності вітаміну 25(OH)D можна пояснити перерахованими факторами, які виявилися найбільш значущими. Але статистична значимість даної моделі є надзвичайно слабкою для достовірності прогнозування рівня 25(OH)D.

4.2 Аналіз рівня 25(OH)D в дорослих жителів Закарпатської області у групах залежно від рівня глікованого гемоглобіну

Серед 1824 осіб обстежених на даному етапі у мережі приватних лабораторій Закарпатської області було 1640 дорослих, які пройшли обстеження на рівень 25(OH)D в 2019 році і були включені в дане дослідження. 271 особа з категорії дорослих також мала аналіз на рівень глікованого гемоглобіну

забрааний в той самий день. Всі особи які мали рівень глікованого гемоглобіну вище 6,5% були віднесені у дослідну групу (n=87), особи з рівнем глікованого гемоглобіну нижче 6,5% були віднесені у контрольну групу (n=184). В решти 1369 осіб замірів глікованого гемоглобіну не було зроблено, тому вони не були включені в даний аналіз.

Для порівняння рівня вітаміну D в осіб дослідної і контрольної групи був застосований парний Т-тест для незалежних вибірок (тест Стюдента) оскільки дані за рівнем вітаміну 25(OH)D мали нормальний розподіл.

Рівень вітаміну D за метаболітом 25(OH)D в дослідній групі є статистично достовірно нижчим порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$). Дані Т-тесту (тест Стюдента) наведені у таблиці 4.2.1.

Таблиця 4.2.1

Результати Т-тесту між групами за глікованим гемоглобіном

Середнє значення 25(OH)D Дослідна група (нг/мл)	Середнє значення 25(OH)D Контрольна група (нг/мл)	P (рівень значимості)	СВ 25(OH)D Дослідна група (нг/мл)	СВ 25(OH)D Контрольна група (нг/мл)
1	2	3	4	5
18,79057	22,57370	0,000800*	8,684392	8,521205

*Рівень значимості $p < 0,001$

Також було вивчено поширеність дефіциту вітаміну D у двох групах порівняння.

Отже у дослідній групі (HbA1C>6,5%) дефіцит вітаміну D зустрічається в 65,5% осіб, а важкий дефіцит у 11,4%. Натомість, у контрольній групі (HbA1C<6,5%) дефіцит вітаміну D постерігався лише 39,6% обстежених, а важкий дефіцит у 5,4%.

Для розрахунку відношення шансів дефіциту вітаміну D ($25(\text{OH})\text{D} < 20$ нг/мл), у осіб дослідної та контрольної групи було створено наступну 2*2 таблицю 4.2.3

Таблиця 4.2.3

Розрахунок відношення шансів розвитку дефіциту вітаміну D в осіб з підвищеним рівнем глікованого гемоглобіну

	Кількість осіб з рівнем $25(\text{OH})\text{D} < 20$ нг/мл	Кількість осіб з рівнем $25(\text{OH})\text{D} > 20$ нг/мл
1	2	3
Кількість осіб дослідної групи	57	30
Кількість осіб контрольної групи	73	111

Відношення ризиків 2,8890

95% ДІ (1,69-4,91)

Z-статистика=3,91

Рівень значимості=0,0001

Даний показник показує, що особи з рівнем глікованого гемоглобіну вище 6,5% мають в 2,88 разів більшу вірогідність розвитку дефіциту вітаміну D (з достовірністю 95 % ця вірогідність коливається від 1,69 до 4,91).

Також ми зробили порівняння рівня вітаміну $25(\text{OH})\text{D}$ між чоловіками та жінками в двох групах. Дані наведені в таблицях 4.2.4-4.2.5.

Таблиця 4.2.4

Дані T-тесту між чоловіками та жінками у групі осіб дослідної групи

Середнє значення $25(\text{OH})\text{D}$ Жінки Дослідна група (нг/мл)	Середнє значення $25(\text{OH})\text{D}$ Чоловіки Дослідна група (нг/мл)	P (рівень значимості)	СВ $25(\text{OH})\text{D}$ Жінки Дослідна група (нг/мл)	СВ $25(\text{OH})\text{D}$ Чоловіки Дослідна група (нг/мл)
1	2	3	4	5
17,29	22,72	0,0084*	7,5223	10,3512

Як потенційний впливаючий фактор ми порівняли вік жінок і чоловіків в дослідній групі (середній вік жінок $50,29 \pm 15,79$ років, середній вік чоловіків $51,29 \pm 16,26$ років, статистично не відрізняються). Цікаво, що вік жінок з у дослідній групі не корелює з рівнем вітаміну 25(OH)D (коефіцієнт кореляції $r = -0,056$), проте вік чоловіків у цій групі негативно корелює з вітаміном D (коефіцієнт кореляції $r = -0,470$) (див. рисунок 4.2.1 та 4.2.2).

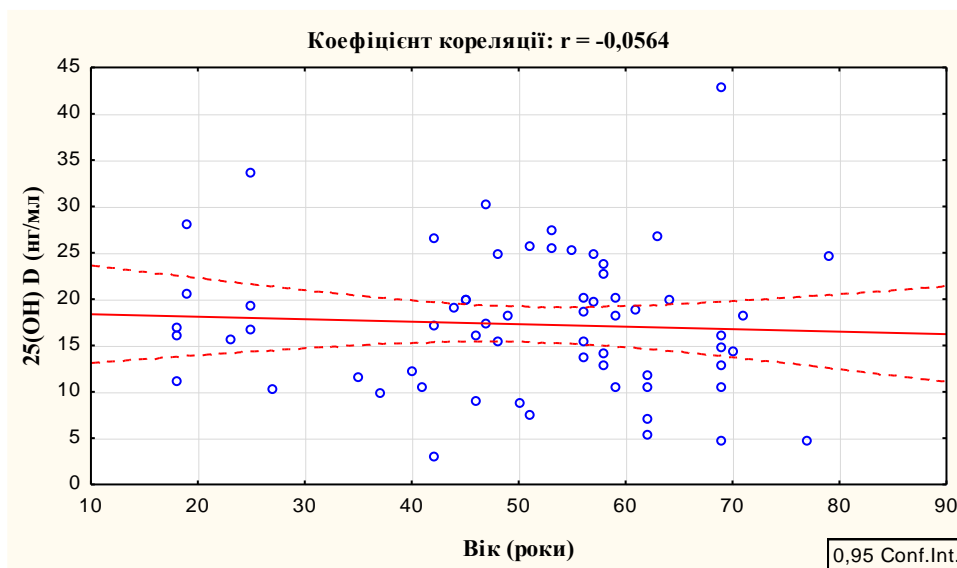


Рисунок 4.2.1. Кореляція рівня вітаміну D з віком у групі жінок дослідної групи

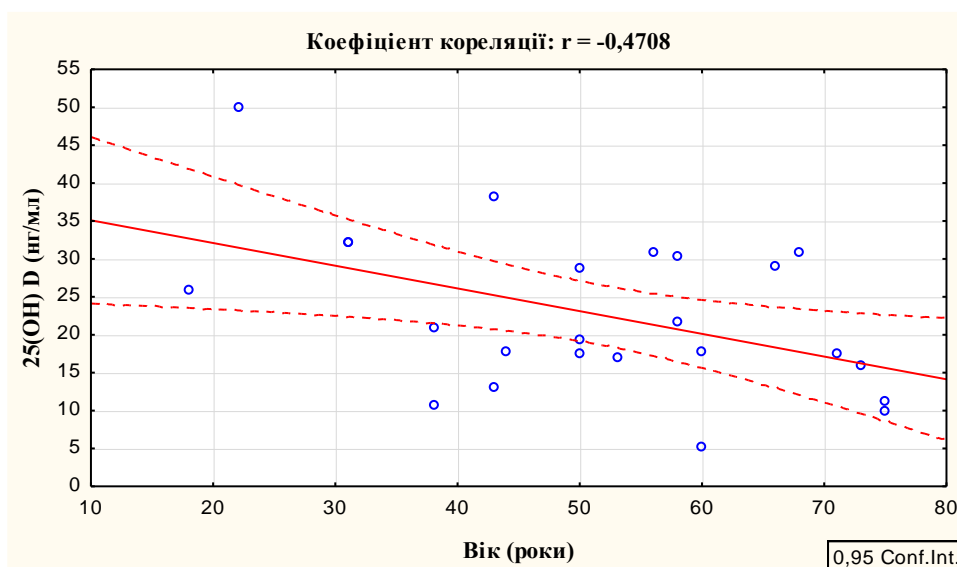


Рисунок 4.2.2. Кореляція рівня вітаміну D з віком у групі чоловіків дослідної групи

**Дані Т-тесту між чоловіками та жінками у контрольній групі
(HbA1C<6,5%)**

Середнє значення 25 (ОН) D Жінки з діабетом (нг/мл)	Середнє значення 25 (ОН) D Чоловіки з діабетом (нг/мл)	P (рівень значимості)	СВ 25 (ОН) D Група діабету (нг/мл)	СВ 25 (ОН) D Група без діабету (нг/мл)
1	2	3	4	5
21,54	27,11	0,00048*	7,8953	9,7512

*Рівень значимості $p < 0,001$

В контрольній групі не виявлено статистично достовірної різниці між середнім віком жінок і чоловіків (середній вік жінок $43,40 \pm 13,2$ років, середній вік чоловіків $41,52 \pm 14,01$ років).

Кореляція між віком і рівнем вітаміну 25(ОН)D серед жінок та чоловіків контрольної групи наведена на рисунках 4.2.3 та 4.2.4. Серед чоловіків спостерігається сильніша зворотня кореляція, у групі жінок кореляція відсутня.

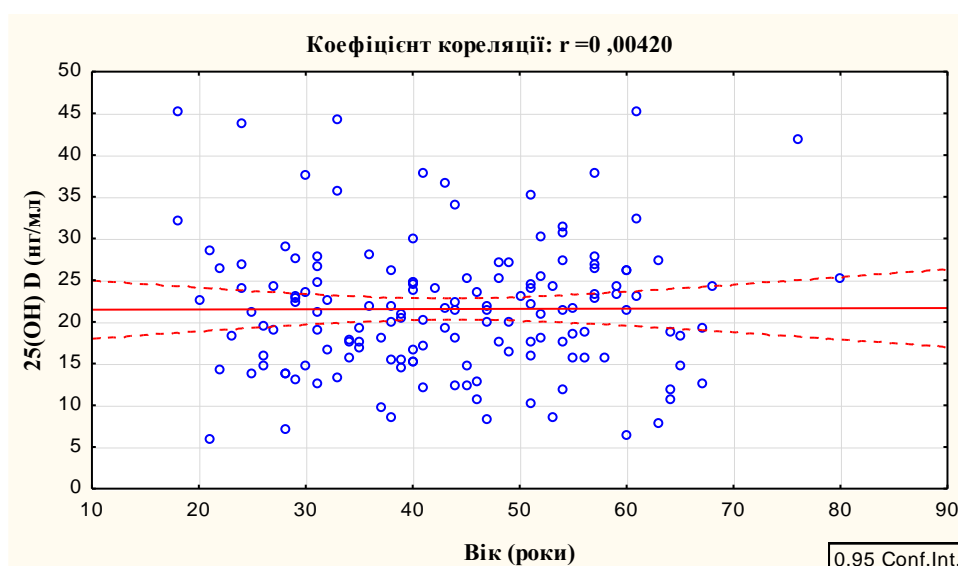


Рисунок 4.2.3. Кореляція рівня вітаміну D з віком у групі жінок контрольної групи

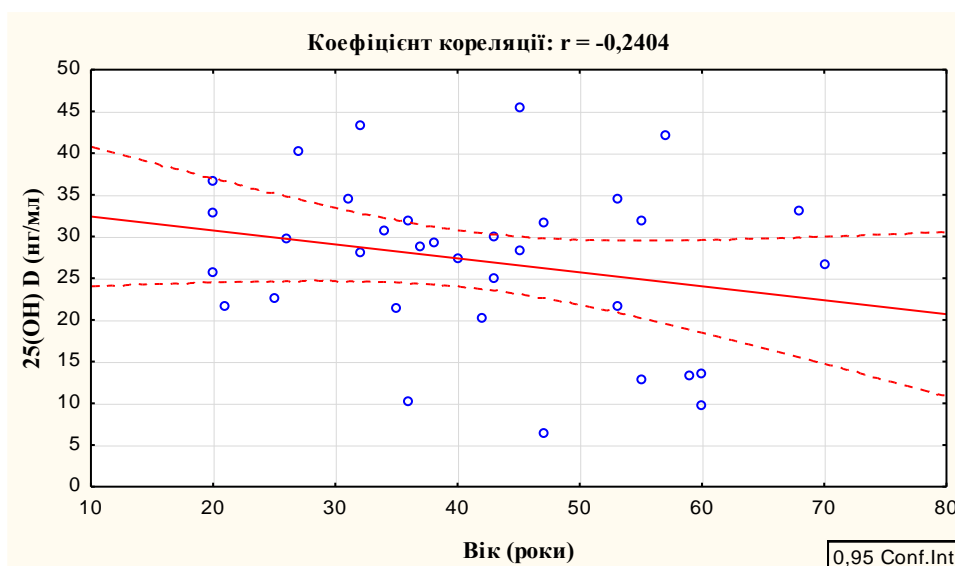


Рисунок 4.2.4. Кореляція рівня вітаміну D з віком у групі чоловіків контрольної групи

Також ми провели корелятивний аналіз між наявними в учасників дослідження біохімічними та гормональними показниками та рівнем 25(OH)D.

Дані наведені в таблиці 4.2.6.

Таблиця 4.2.6

Кореляція між рівнем 25(OH)D та деякими біохімічними та гормональними показниками у групі пацієнтів з $HbA1C > 6,5\%$

Показник	HbA1C	Індекс НОМА	Загальний холестерин	Тригліцериди	ЛПНП	ЛПВЛ	Ca^{2+}
1	2	3	4	5	6	7	8
Рівень 25(OH)D	-0,186	-0,200	-0,638	-0,323	-0,788	-0,081	0,072

Спостерігається сильна негативна кореляція між рівнем 25(OH)D та ЛПНП, а також загальним холестерином. Слабка негативна кореляція також

спостерігається з показником тригліцеридів плазми крові. Інші показники не корелюють істотно з 25(OH)D.

Натомість, серед 184 осіб, які були віднесені у групу осіб з HbA1C<6,5% жоден з показників істотно не корелював з рівнем 25(OH)D (таблиця 4.2.7). Єдиний показник, який на нижній межі статистичної значимості коефіцієнту кореляції ($r=0,2831$) позитивно корелював з 25(OH)D був рівень іонізованого кальцію (Ca^{2+}) плазми крові.

Таблиця 4.2.7

Кореляція між рівнем 25(OH)D та деякими біохімічними та гормональними показниками у контрольній групі

Показник	HbA1C	Індекс НОМА	Загальний холестерин	Тригліце риди	ПТГ	ТТГ	Ca ²⁺
1	2	3	4	5	6	7	8
Рівень 25(OH)D	-0,0394	-0,1232	-0,0416	-0,1945	-0,0810	-0,1366	0,2831

Висновки до розділу 4

Ретроспективне дослідження когорти пацієнтів, які проходили лабораторне обстеження у приватній лабораторії “Астра-Діа” показало наступні результати:

- аналіз рівня 25(OH)D показав суттєву сезонну варіативність показника: 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 в Закарпатській області також мають нижчий рівень 25(OH)D у порівнянні з чоловіками (22,45 нг/мл та 26,18 нг/мл відповідно, $p=0,000001$) і ця тенденція спостерігається практично в кожному місяці року.

- в зимові місяці 51,74% обстежених жителів Закарпатської області мали рівень вітаміну 25(OH)D нижче 20 нг/мл, а 8,12% населення мали рівень нижче 10 нг/мл.

- серед осіб обстежених за 2019 календарний рік в цілому, 41,9% мали середньорічний рівень 25(OH)D нижче 20 нг/мл, а 4,82% - 10 нг/мл. Дані показники є дещо вищими у порівнянні з поширеністю дефіциту в зимові місяці.

- пацієнти з рівнем глікованого гемоглобіну $> 6,5\%$ мали суттєво нижчий середньорічний рівень вітаміну 25(OH)D у порівнянні з особами з рівнем глікованого гемоглобіну $< 6,5\%$ (18,79 нг/мл проти 22,57 нг/мл, $p=0,000800$). При цьому особи з підвищеним рівнем HbA1C мають в 2,88 разів більшу вірогідність розвитку дефіциту вітаміну D (ДІ 1,69 - 4,91).

- жінки з підвищеним рівнем HbA1C мають суттєво нижчий середньорічний рівень 25(OH)D у порівнянні з чоловіками з цієї групи (17,29 нг/мл проти 22,72 нг/мл, $p=0,0084$).

- у групі осіб з підвищеним рівнем HbA1C вік не корелює з рівнем вітаміну D у жінок, але негативно корелює у чоловіків, тобто у старших чоловіків є тенденція до нижчих рівнів вітаміну D.

- серед осіб, які не мали діабету мали рівень глікованого гемоглобіну $< 6,5\%$ теж спостерігався суттєво нижчий рівень вітаміну 25(OH)D серед жінок у порівнянні з чоловіками цієї групи (21,54 нг/мл та 27,1 нг/мл відповідно, $p=0,00048$)

РОЗДІЛ 5

РЕЗУЛЬТАТИ СТАТИСТИЧНОГО АНАЛІЗУ ЧАСТОТ ГЕНОМНИХ ВАРІАНТІВ (АЛЕЛЕЙ), ЩО АСОЦІЙОВАНІ З ОСТЕОПОРОЗОМ ТА РІВНЕМ ВІТАМІНУ D В УКРАЇНСЬКІЙ ПОПУЛЯЦІЇ.

Файли з первинними геномними даними були анотовані за допомогою програмного забезпечення ANNOVAR і SNPEff з використанням референтної бази даних людського геному версії hg38. Для подальшого аналізу та порівняння нами було створено пул геномних варіантів (однуклеотидних поліморфізмів), які були описані в літературі, як такі, що асоційовані мінеральною щільністю кісткової тканини чи рівнем вітаміну D. Опис варіантів та літературні джерела наведені у таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Список ОНП включених в аналіз і порівняння в українській популяції

№	ОНП	Референсна алель/альтер нативна алель	Геномна позиція	Ген	Хромосома	Посила ння на джерел о
1	2	3	4	5	6	7
Однуклеотидні поліморфізми, що асоційовані з рівнем вітаміну D						
1	rs2282679	A\C	71742666	<i>GC</i>	4	Wang et all;Ahn et all; Lusky- Su et all[101, 102, 197]. Ahn et all[102] Jiang et all[103]
2	rs4855	C\A	71752606	<i>GC</i>	4	
3	rs10033936	A\G	71877757	<i>GC</i>	4	
4	rs3755967	C\T	71743681	<i>GC</i>	4	
5	rs17467825	A\G	71739800	<i>GC</i>	4	
6	rs12639968	C\T	71847155	<i>GC</i>	4	
7	rs1155563	T\C	71777771	<i>GC</i>	4	
8	rs12785878	G\T	71456403	<i>NADSYN1</i>	11	
9	rs10741657	A\G	14893332	<i>CYP2R1</i>	11	
10	rs17216707	T\C	54115823	<i>CYP24A1</i>	20	
11	rs8018720	G\C	39086981	<i>SEC23A</i>	14	
12	rs10745742	C\T	95964751	<i>AMDHD1</i>	12	

Продовження таблиці 5.1

1	2	3	4	5	6	7
13	rs117913124	G\A	14879385	<i>CYP2R1</i>	11	Manousaki et al[105]
14	rs7041	A\C	71752617	<i>GC</i>	4	
Однонуклеотидні поліморфізми, що асоційовані з мінеральною щільністю кісток						
15	rs1544410	C\T	47846052	<i>VDR</i>	12	Jia et al[198]
16	rs731236	A\G	47844974	<i>VDR</i>	12	Jakubowska et al[199]
17	rs4516035	T\C	47906043	<i>VDR</i>	12	Esterle et al[200]
18	rs4988321	G\A	68406721	<i>LRP5</i>	11	Falcon_Ramirez et al[201]
19	rs2306862	C\T	68410042	<i>LRP5</i>	11	Kitjaroentharn et al [202]
20	rs3736228	C\T	68433827	<i>LRP5</i>	11	Van Meurs et al [203]
21	rs1801197	T\C	93426441	<i>CALCR</i>	7	Trana et al h et al [204]
22	rs140121121	T\A	115629281	<i>PLS3</i>	X	Van Dijk et al [205]

Для проведення порівняння частот даних алелей було вибрано популяцію CEU (резиденти штату Юта, США, західноєвропейського та північно-європейського походження) з проекту “1000 геномів”, яка найбільш наближена до українців з описаних публічно доступних геномів[206]. Порівняння

проводилося за допомогою точного тесту Фішера з використанням кількості алелей в двох досліджуваних популяціях і побудовою спряжених таблиць 2x2. Алелі, різниця між якими відповідала статистично достовірному рівню значимості $p < 0,05$ вважалися такими, частота яких суттєво відрізняється в двох досліджуваних популяціях (таблиця 5.2).

Таблиця 5.2

Таблиця порівняння частот вибраних ОНП у популяції українців та європейців CEU

№	ОНП	Частота мінорного алеля в українців	Частота мінорного алеля в CEU	P-рівень значимості	Відношен ня шансів
1	2	3	4	5	6
Однонуклеотидні поліморфізми, що асоційовані з рівнем вітаміну D					
1	rs2282679	0,3505	0, 2465	0,0028*	1,64
2	rs4855	0,3505	0, 2475	0,0028*	1,64
3	rs10033936	0,3196	0,2435	0,0269*	1,45
4	rs3755967	0,3505	0,2475	0,0028*	1,64
5	rs17467825	0,3505	0,2485	0,0037*	1,62
6	rs12639968	0,2474	0,166	0,0084*	1,64
7	rs1155563	0,3299	0,2435	0,0132*	1,52
8	rs12785878	0,7008	0,6598	0,2431	0,82
9	rs10741657	0,6193	0,6134	0,8745	0,97

Продовження таблиці 5.2

1	2	3	4	5	6
10	rs17216707	0,1392	0,2266	0,0049*	0,55
11	rs8018720	0,8711	0,827	0,1486	1,41
12	rs10745742	0,3402	0,4185	0,0418*	0,71
13	rs117913124	0,0051	0,0239	0,1122	0,20
14	rs7041	0,5464	0,5835	0,3502	0,85
Однонуклеотидні поліморфізми, що асоційовані з мінеральною щільністю кісток					
15	rs1544410	0,3969	0,4036	0,87	0,97
16	rs731236	0,3969	0,3996	1	0,98
17	rs4516035	0,433	0,4225	0,8155	1,04
18	rs4988321	0,0515	0,0408	0,4486	1,27
19	rs2306862	0,1649	0,1521	0,6693	1,10
20	rs3736228	0,1495	0,1342	0,5752	1,13
21	rs1801197	0,232	0,3052	0,0428*	0,68
22	rs140121121	0,0309	0,0222	0,4048	1,43

* $p < 0,05$

Однонуклеотидні поліморфізми rs2282679 та rs4855, що знаходиться в гені GC на хромосомі 4p12, в декількох дослідженнях були асоційовані з концентрацією вітаміну D у сироватці крові.

В дослідженнях[101] алель, пов'язаний зі зниженням вітаміну D, а отже, ймовірністю недостатності вітаміну D є варіант C в rs2282679 та алель A в rs4855[207]. Носії двох таких алелів C rs2282679 (генотип CC) мали нижчий

рівень вітаміну D, ніж носії одного алеля, які, в свою чергу, мали нижчий рівень вітаміну D, ніж особи з генотипом AA за цим ОНП. З наведеного вище аналізу ми бачимо, що в українців патологічна алель С та А зустрічаються імовірно в 1,64 рази частіше порівняно з популяцією європейців ($p=0,0028$).

Цікаво, що rs2282679 є синонімічною заміною, тобто не впливає на зміну амінокислоти, тоді як rs4588 є несинонімічною мутацією в екзоні (екзон 12; амінокислота Thr змінюється на Lys у положенні 436). Тому, враховуючи високу кореляцію rs2282679 та rs4588 в дослідженнях ($r = 0,97$), rs2282679 може бути просто міткою для rs4588, що в свою чергу може бути варіантом, який спричинює вплив на концентрацію 25(OH)D. Цю імовірність підтримує ряд досліджень кандидатних генів[208, 209]. Середні рівні вітаміну D в залежності від генотипу даного алеля наведені в таблиці 5.3

Таблиця 5.3

Концентрація вітаміну 25(OH)D в когортах Framingham Heart study та British 1958 birth cohort в залежності від генотипу rs2282679

Дослідження	Домінантні гомозиготи AA	Гетерозиготи АС	Рецесивні гомозиготи СС
1	2	3	4
Framingham Heart study	33,04 нг/мл	29,92 нг/мл	25,84 нг/мл
British 1958 birth cohort	24,76 нг/мл	22,8 нг/мл	21,12 нг/мл

Даний ОНП rs2282679 був проаналізований на предмет асоціації генотипу з інфарктом міокарда, цукровим діабетом 2-го типу, раку, і не показав достатньої статистичної кореляції з цими захворюваннями[210].

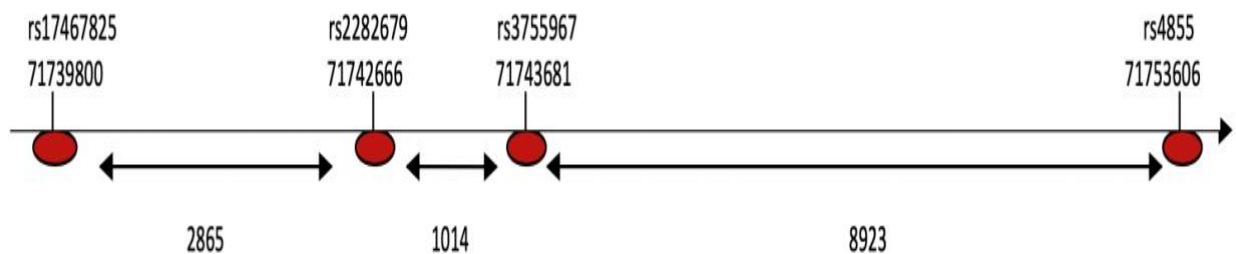
У нашій вибірці з 97 зразків, 91 особа відповіла на запитання про наявність чи відсутність цукрового діабету в опитуванні, яке проходив кожен учасник

проекту. Ми провели аналіз розподілу частот мінорного алеля C rs2282679 в групі осіб з діабетом (n=16) та без нього (n=75) (за даними анкети).

Застосувавши точний тест Фішера та тест Хі-квадрат встановили, що статистично значимої різниці в частоті даного алеля між двома групами осіб з цукровим діабетом та без цукрового діабету немає (тест Фішера $p=0,69$; за тестом Хі-квадрат $p=0,69$).

Також, ми виявили, що ще 5 варіантів rs10033936 rs3755967 rs17467825 rs12639968 rs1155563 гена GC суттєво відрізняються по частоті у популяції українців порівняно з популяцією Західної Європи (див.таблиця 5.2).

За допомогою кореляційного аналізу встановлено, що генотипи українців нашої вибірки за ОНП rs3755967, rs17467825, rs2282679 та rs4855 повністю корелюють між собою ($r=1$). Це означає, що вони знаходяться в стані повного зчеплення (передаються зчеплено), ділянка гена GC з даними ОНП схематично показана на рисунку 5.1.



ГЕН GC

Рисунок 5.1. Ділянка гена GC з ОНП, які передаються зчеплено

Щодо інших алелей, описаних як таких, що пов'язані з рівнем вітаміну D, то нами виявлено, що мінорна алель rs17216707 зустрічається у 0,55 рідше в українській популяції порівняно з популяцією CEU, а rs10745742 у 0,74 рідше.

ОНП rs17216707 знаходиться в гені *CYP24A1*, який кодує фермент 24-гідроксилазу. Цей фермент розщеплює активну форму вітаміну D-1,25-дигідроксिवітамін D₃ або кальцитріол, до неактивної форми, тобто біоінактивує

його. Фермент також розщеплює 25-гідроксивітамін D, який є формою вітаміну D, що циркулює в організмі. Понад 20 мутацій гена *CYP24A1* викликають ідіопатичну дитячу гіперкальціємію, яка також відома під назвою дитячої гіперкальціємії -1, що характеризується гіперкальціємією та гіперкальциурією, а також нефрокальцинозом в зв'язку з підвищеним циркулюючим рівнем 24-гідролази[211].

Використавши точний тест Фішера та тест Хі-квадрат встановили, статистично значимої різниці в частоті алеля rs17216707 між групами пацієнтів з цукровим діабетом та непацієнтів з цукровим діабетом також немає (тест Фішера $p=1$; за тестом Хі-квадрат $p=0,82$).

Ще один статистично відмінний між популяціями українців та європейців ОНП rs10745742 знаходиться в гені *AMDHD1* (амідогідролазовмісний домен, 1). Цей ген кодує фермент, що бере участь у катаболічному шляху гістидину, лізину, фенілаланіну, тирозину, проліну та триптофану. Встановлено, що мутації в *AMDHD1* асоціюються з атиповою ліпоматозною пухлиною, раком сполучної тканини, що нагадує жирові клітини[212].

При аналізі частот даного алеля в осіб з діабетом та без діабету різниці між частотою алеля rs10745742 в цих двох групах також не виявлено (тест Фішера $p=0,83$; за тестом Хі-квадрат $p=0,79$).

rs1801197 (Leu447Pro) знаходиться в гені *CALCR* – ген кальцитонінового рецептора і належить до підсмейства семи трансмембранних рецепторів, спряжених з G білком. Кодований білок бере участь у підтримці гомеостазу кальцію та в регулюванні остеобласт-опосередкованої резорбції кістки. Поліморфізми в цьому гені були пов'язані з варіаціями мінеральної щільності кісток і початком остеопорозу. Альтернативний сплайсинг призводить до формування декількох варіантів продукту гена. В українській популяції мінорна алель зустрічається у 0,68 разів рідше, є суперечливі наукові дані про зв'язок цієї алелі з остеопорозом. Проте, було показано, що генотип ТТ асоційований з 13 разів вищим ризиком нефролітіазу у чоловіків[213].

Висновки до розділу 5

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 ТТ (дві референтні алелі) асоційований з близько 13-кратно вищим ризиком нефролітіазу у чоловіків.

АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ

При дослідженні мінеральної щільності кісток у хворих на цукровий діабет 1-го та 2-го типу виявлено що T- та Z-показник центрального скелету (на рівні поперекового відділу хребта) у цих пацієнтів не відрізнявся від контрольної групи осіб, проте статистично значима різниця була виявлена у T- та Z-показнику периферичного скелету (на рівні кульшових суглобів) між трьома групами. Так пацієнти з цукровим діабетом 1-го типу мають нижчий T-показник у порівнянні з контрольною групою, і нижчий Z-показник порівняно з групою ЦД 2-го типу. Пацієнти з ЦД 2-го типу за денситометричними показниками периферичного скелету не відрізнялися від контрольної групи. Поширеність остеопорозу центрального скелету в групі цукрового діабету 1-го типу складає 7,4% осіб, а остеопенії - 14,8%. Наші результати свідчать про те, що загалом 22,2% пацієнтів з ЦД 1-го типу мають МЩКТ нижче норми, і це в основному пацієнти старшого віку. Загалом у нашому зразку існує тенденція до того, що молодші пацієнти з цукровим діабетом мають кращі показники денситометрії ніж більш старші, а також пацієнти з ЦД 1-го типу з остеопорозом чи остеопенією є значно молодшими в порівнянні з пацієнтами з ЦД 2-го типу зі зниженою МЩКТ, тобто патологічні зміни в скелеті у них настають в середньому на 10 років раніше, що також можна атрибутувати до ранішого настання цукрового діабету. Також цікаво, що пацієнти з ЦД 1-го типу з порушеннями стану скелету та без таких порушень суттєво відрізняються за віком (в середньому на 17 років), а пацієнти з ЦД 2-го типу – не відрізняються. Тобто вік грає важливу роль саме в пацієнтів з цукровим діабетом 1-го типу, що також підтверджується наявністю кореляції показників DXA-SCAN з віком пацієнтів з ЦД 1-го типу, та практичною відсутністю кореляції цих показників з віком у групі ЦД 2-го типу стаціонарних хворих.

Наші результати щодо поширеності остеопорозу у групі пацієнтів з цукровим діабетом є дещо нижчими за дані деяких інших досліджень (голландське дослідження, яке показало вищий ризик остеопенії та остеопорозу чоловіків з ЦД 1-го типу (14% чоловіків мали остеопороз при тривалості діабету

9 років; схожий показник поширеності остеопорозу (13% пацієток) був виявлений в жіночій когорті (n= 31, середній вік, 42 роки) із середньою тривалістю ЦД 1-го типу 20,2 років[29, 30]). Лімітацією нашого дослідження є те, що ми не визначали тривалість діабету у пацієнтів у зв'язку з наявними недосконалими даними анамнезу, щоб адекватно порівняти дослідження такого роду. Проте, середній вік наших пацієнтів з ЦД 1-го типу склав $34,88 \pm 14$ років, що дає непряму інформацію щодо не надто довгої тривалості діабету. Загалом дослідження показують, що втрата кісткової маси є неминучою і прогресуючою в пацієнтів з цукровим діабетом[214]. Ризик зниження МЦКТ збільшується при ХХН, що підтверджується простим логістичним аналізом. Однак така кореляція зникає після корекції щодо впливу віку, статі, паління, вживання алкоголю, гіпертонії, цукрового діабету та ожиріння[215]. Що ж до нашого дослідження, то рівень ШКФ, яка є предиктором функції нирок, а ті в свою чергу є одними з органів-мішеней для мікроангіопатії при цукровому діабеті, а також органом який конвертує вітамін D у його активну форму, корелювали з T-показником як центрального так і периферичного скелету у групі з цукровим діабетом 1-го типу. Дещо протилежні результати отримала Ісакова та співавтори, яка показала, що ШКФ не впливає на ризик розвитку переломів як у чоловіків так і у жінок, проте саме різке зниження ШКФ асоційоване з вищим ризиком переломів у жінок[216].

Цікавою є знахідка, що в групі ЦД 1-го типу сечова кислота негативно корелює з відносними денситометричними показниками, а у групі ЦД 2-го типу позитивно, що більше виражено в периферичному скелеті.

Схожі результати були отримані в когорті японських жінок в пери- та постменопаузі, де рівень сечової кислоти в сироватці крові позитивно та суттєво асоціювався з МЦКТ поперекового відділу хребта, незалежно від віку, індексу маси тіла, паління, вживання алкоголю, фізичних навантажень, років після менопаузи, цукрового діабету, гіпертонії, кальцію в сироватці крові, розрахункової швидкості клубочкової фільтрації, плазмового С-реактивного білка та сироваткової лужної фосфатази (стандартизована бета= $0,078$, $p=0,049$).

Асоціація між МЩКТ поперекового відділу хребта та сечовою кислотою залишалася суттєво позитивною після виключення жінок старше 60 років[217].

Пацієнти з діабетом як 1-го так і 2-го типу обстежені нами на першому етапі в ендокринологічному відділенні ЗОКЛ мали нижчі рівні 25(OH)D у порівнянні зі здоровими особами, проте рівень був суттєво нижчим у пацієнтів з цукровим діабетом саме 1-го типу (ЦД 1-го типу середній рівень 15,5 нг/мл у перерахунку з ммоль/л; ЦД 2-го типу – 20,62 нг/мл). Показово, що результати замірів рівня вітаміну 25(OH)D стаціонарних пацієнтів цукровим практично співпали з рівнем пацієнтів підвищеним рівнем глікованого гемоглобіну (HbA1C>6,5%) когорти приватної лабораторії, дані яких ми досліджували на другому етапі дослідження. Отже середній рівень вітаміну D в стаціонарних пацієнтів ендокринологічного відділення ЗОКЛ ім. А. Новака був наступним: 15,5±3,4 нг/мл у пацієнтів з ЦД 1-го типу, та 20,62±4,64 нг/мл в пацієнтів з ЦД 2-го типу, в той час як у пацієнтів з підвищеним рівнем глікованого гемоглобіну (HbA1C>6,5%), які пройшли обстеження в приватній лабораторії він був на рівні 18,79±8,68 нг/мл. Проте ми не можемо судити про наявність в них цукрового діабету лише по одноразовому заміру HbA1C.

Ми бачимо, що рівні 25(OH)D визначені в пацієнтів з цукровим діабетом обстежених на першому етапі та осіб з HbA1C>6,5% аналізованих на другому етапі практично співпадають. Також, слід зауважити, що 25(OH)D на першому на другому етапі дослідження вимірювався двома різними методами (методом твердофазного імуноферментного аналізу в лабораторії “Діла” на першому етапі в стаціонарних пацієнтів на контрольних осіб та електрохемолумінесцентним методом в лабораторії “Астра Діа” на другому етапі у 1824 осіб).

Цікаво що в групі пацієнтів з HbA1C>6,5% з когорти пацієнтів лабораторії “Астра Діа” спостерігається зворотня кореляція між рівнем вітаміну 25(OH)D та загальним холестерином і тригліцеридами (коефіцієнти кореляції $r=-0,63$ та $r=-0,32$ відповідно). Проте, у групі осіб з рівнем HbA1C<6,5% такої кореляції не

спостерігалось. Аналогічно, в бразильському дослідженні регресійний аналіз показав, що рівень загального холестерину є одним з незалежних предикторів рівня вітаміну 25(OH) D у пацієнтів з діабетом 2 типу[218]. В численних оглядах літератури, зокрема і вітчизняних, описано, що низька концентрація 25(OH)D асоціюється з високим ризиком серцевосудинних захворювань, зокрема у пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу[219, 220]. Проте результати рандомізованих контрольованих досліджень із замісною терапією вітаміном D показують конфліктуючі результати щодо модифікації нею рівня холестерину та його фракцій, а також ризику ССЗ. Так, одне з таких досліджень показало, що замісна терапія препаратом кальцію та вітаміну D значно збільшувала концентрацію 25(OH)D і знижувала концентрацію ЛНЩ. Жінки з вищим 25(OH)D мали більш сприятливі ліпідні профілі, включаючи підвищення рівня ЛПВЩ, а також нижчий рівень ЛПНЩ та ТГ[221]. Дещо протилежно, інше дослідження показало, що лікування помірними дозами кальцію та вітаміну D3 не змінило стан кальцифікованих бляшок коронарних артерій серед жінок в постменопаузі[222]. Так, цікаво, що саме в групі пацієнтів з цукровим діабетом було знайдено унікальний циркулюючий холестеринний пул моноцитів, який модулюється вітаміном D і має потенціал сприяти ССЗ при діабеті 2-го типу. Дослідження показали, що замісна терапія вітаміном D зменшує експресію моноцитів CD36 та поглинання ними холестерину[223]. Тому можливо саме фактор наявності діабету якимось чином модифікує зв'язок холестерину та циркулюючого рівня вітаміну D.

Враховуючи вищеописані кліматичні характеристики Закарпаття в контексті України і Європи наведені в першому розділі, ми провели порівняння наших результатів з декількома дослідженнями, які визначали рівень вітаміну D в Україні та за кордоном. Так, Поворознюк[175] та співавтори визначили, що 81,8 % населення України мало рівень вітаміну D нижче 20 нг/мл, при цьому 37,3% мали рівень нижче 10 нг/мл. За нашими даними лише 51,74% населення Закарпатської області має дефіцит вітаміну D (нижче 20 нг/мл) в зимові місяці,

що практично в півтора рази нижче поширеності описаної Поворознюк та співавторами по Україні. Лише у 8,12% населення Закарпатської області взимку спостерігається рівень 25(OH)D нижче 10 нг/мл, що у 4,6 разів нижче порівняно з даним дослідженням. Середньорічна поширеність дефіциту вітаміну D в Закарпатті за нашими даними складає 41,9% (нижче 20 нг/мл), та важкого дефіциту - 4,82% (нижче 10 нг/мл), що ще більш суттєво відрізняє наші дані від даних порівнюваного дослідження. Також, в даній статті наводять середній рівень вітаміну D по Україні 13,87 нг/мл, при чому на заході країни від є найнижчим і складає 12,61 нг/мл, в той час як за нашими даними від складає 20,84 нг/мл взимку та 22,67 нг/мл протягом року в Закарпатській області, що майже в два рази перевищує попередні результати за даними Поворознюка та співавторів.

Причин такої різючої різниці може бути декілька, в першу чергу це використання біохімічного аналізатора та тест-систем, якими проводилося вимірювання в дослідженні Поворознюка 2010 року, а саме електрохемолюмінісцентний метод на аналізаторі Elecsys 2010 (Roche®, Німеччина), який компанія Roche Diagnostics вилучила з використання посилюючись на погіршення відповідності результатів до значень референтного методу (рідинна хроматографія - тандемна мас-спектрометрія; англ. LCMSMS). Виявлено, що ця система занадто занижувала дійсні рівні вітаміну 25(OH)D в сироватці крові[176]. Також сезон забору матеріалу міг посприяти деякій різниці в наших результатах, проте в дослідженні Поворознюк та співав. не вказано сезон забору крові.

Кліматичні умови маловірогідно могли посприяти такій великій різниці, оскільки Закарпаття знаходиться в зоні із середньою сонячною активністю порівняно з іншими регіонами України, а також кількість ясних днів в Ужгороді не суттєво відрізнялася від інших віддалених великих міст (*див. Розділ 1*).

Щодо когорти пацієнтів з цукровим діабетом, то схожі дані були отримані і вітчизняними вченими, де в пацієнтів з цукровим діабетом спостерігалася

зворотня асоціація між станом компенсації порушеного вуглеводного обміну та рівнем забезпеченості вітаміном D[224].

Польське дослідження 2016 року[225] у якому взяло участь 5775 дорослих осіб середнім віком $54,0 \pm 15,9$ років показало, що середній рівень 25(OH)D у поляків склав $18,0 \pm 9,6$ нг/мл, при цьому 65,8% популяції мали рівень 25(OH)D нижче 20 нг/мл. Забір матеріалу в даному дослідженні проводився з 14 лютого по 1 березня, та з 28 квітня по 2 травня, тобто найбільш сонячні місяці воно не охопило. Також територія Польщі знаходиться північніше ($52^{\circ}13$ північної широти та $21^{\circ}02'$ східної довготи) Закарпатської області загалом, хоча автори вважають географічний фактор маловажливим. Цікаво, що дане дослідження показало нижчі рівні вітаміну D у чоловіків порівняно з жінками на відміну від наших результатів, де жінки як з вищим так і з нормальним рівнем глікованого гемоглобіну мали нижчі рівні вітаміну D у всіх вікових групах дорослого населення практично у всі місяці року. Також, слід відмітити, що в даному дослідженні використовували інший аналізатор, а саме Liaison XL system (DiaSorin; CLIA method), що являється імонохемолюмінісцентним твердофазним методом.

У сусідній Словаччині дослідження[226] здорових жінок віком 25-40 років показало середній рівень вітаміну 25(OH)D на рівні 32,6 нг/мл, проте відсутні дані в яку пору року відбувався забір матеріалу. Жінки в Закарпатті (середній вік $39,87 \pm 13,22$ роки) мали середній рівень 25(OH)D 22,3 нг/мл протягом року, що на 10,3 нг/мл нижче рівня визначеного словацькими колегами. У віковій групі 26-45 років серед обох статей середній рівень 25(OH)D закарпатців був 23,3 нг/мл, що незначно відрізняється від рівня когорти жінок нашої вибірки.

Поширеність важкого дефіциту вітаміну D в Закарпатті (8,12% нижче 10 нг/мл зимові місяці) є дещо вищою порівняно з Францією, проте є нижчою ніж у більшості країн західної та північної Європи (див. таблиця 1.4.3).

Середній рівень вітаміну 25(OH)D в загальній популяції закарпатців, що склав 20,84 нг/мл в зимові місяці, знаходиться практично на рівні визначеного в Австрії та Бельгії, він на 10 нг/мл є нижчим ніж у Франції, та на 8 нг/мл нижчим

Ниж у Швеції. Проте Закарпаття має середні вищі зимові рівні у порівнянні з Іспанією, Італією та Польщею (див. Розділ 1, таблиця 1.4.2). Дані результати відображають, що Закарпаття знаходиться приблизно посередині парадоксального північно-південного тренду рівня вітаміну D в сироватці крові, в якому південно-європейські країни мають часто нижчі рівні ніж північно-європейські країни.

Загалом наші дані визначили практично в два рази нижчу поширеність дефіциту вітаміну D (за критерієм Endocrine Society нижче 20 нг/мл), та більше ніж в 4 рази нижчу поширеність важкого дефіциту вітаміну D (критерій за NAM нижче 10 нг/мл) ніж попередні масштабні українські дослідження, що може бути пояснено різними методиками вимірювання показника, і менш імовірно географічними чи культурними особливостями.

В нашому дослідженні існують певні лімітації, а саме те, що рівень вітаміну D вимірювався методом, який не є золотим стандартом для цього роду досліджень. Ми також, не маємо даних про місце проживання, походження осіб, які були включені у дослідження на другому етапі, проте у нас були дані зі слів учасників другого етапу, що на момент обстеження вони не вживали харчові добавки та вітаміни, що може не відображати реальну картину. Тому, дане дослідження когорти закарпатців на другому етапі можна вважати грубим популяційним дослідженням рівня вітаміну D в Закарпатській області.

При оцінці частоти ОНП, які ми вивчали важливо порівняти їх частоту з частотами вивчених популяцій у світі. Так, мінорна алель G(C) інтронного варіанту rs2282679 зустрічається в українців з частотою 35%, що наразі є найвищою зареєстрованою частотою у світі. В африканських популяціях алель G зустрічається лише у 5% населення, в Європі – у 25% населення, найвища регіональна частота зареєстрована в південній Азії, а саме у популяціях індусів штату Гуджарат та Тельгана (31,6% та 30,4% відповідно) та китайців Хан (31,9%)[227]. Ця алель входить у групу зчеплення з 4-ох ОНП rs2282679, rs4855

rs375596 та rs17467825, які в нашій когорті із 97 українців повністю корелюють один з одним.

Міnorна алель С в ОНП rs17216707 зустрічається в українців з частотою 13,92%, що є найнижчою зареєстрованою частотою в Європі (середня частота в європейців 23%, найнижча в британців 15,4%). У світі міnorна алель даного ОНП має найнижчу частоту в Африці (3%) та Азії (4%).

Такі результати в українській популяції щодо ОНП rs2282679, rs4855 rs3755967 та rs17467825 та rs17216707 можуть свідчити про генетичне змішування і/або природній добір.

Міnorна алель ОНП rs1801197 зустрічається в українській популяції у 23% населення, при чому середня частота у світі 38% за даними проекту GNOMAD, частота в європейців 30,5% (26-33% залежно від субпопуляції). Тобто в українців частіше зустрічається мажорна (референтна алель Т), яка була пов'язана з вищим ризиком нефролітазу у когорті чоловіків.

ВИСНОВКИ

У дисертаційному дослідженні отримані нові науково-обґрунтовані результати дослідження стану скелету у госпіталізованих пацієнтів з цукровим діабетом, які не досягли цільових рівнів компенсації глікемічного контролю, досліджено основні фактори, які асоційовані з патологічними змінами скелету в цій когорті пацієнтів. Додатково вперше вивчено рівень забезпеченості вітаміном D в Закарпатській області та вивчено частоту ОНП, які асоційовані з рівнем вітаміну D та МЩКТ в українців. Зокрема встановлено:

1. Госпіталізовані пацієнти з ЦД 1-го типу в стадії декомпенсації мають достовірно нижчі відносні показники рентгенівської денситометрії периферичного скелету порівняно зі практично здоровими особами, а також особами з ЦД 2-го типу.

2. У групі ЦД 1-го типу Т-показник як центрального так і периферичного скелету слабо позитивно корелює з ШКФ. Також спостерігається слабка обернена кореляція між рівнем сечової кислоти та показниками денситометрії в цій групі. Рівень глікованого гемоглобіну слабо негативно корелює лише з Т-показником периферичного скелету, натомість у групі ЦД 2-го типу, навпаки, спостерігається позитивна кореляція між рівнем сечової кислоти та денситометричними показниками периферичного скелету.

3. Поширеність дефіциту вітаміну D (< 50 нмоль/л або 20 нг/мл) у пацієнтів з ЦД є теж надзвичайно високою: у 100 % хворих на цукровий діабет 1-го типу та 70% хворих на цукровий діабет 2-го типу.

4. В великій когорті осіб, які пройшли обстеження на рівень 25(OH)D в мережі приватних лабораторій Закарпатської області спостерігається суттєва сезонна варіативність показника 25(OH)D: найнижчий рівень спостерігався в лютому, а найвищий у вересні та липні. В зимові місяці 51,74% населення Закарпатської області має рівень вітаміну 25(OH)D нижче 20 нг/мл, в той час як 8,12% населення мають рівень нижче 10 нг/мл. Серед дитячого населення в зимові місяці 46,5% осіб мали 25(OH)D нижче 20 нг/мл, а 4,6% - нижче 10 нг/мл.

Загалом діти мають вищий середньорічний рівень вітаміну D порівняно з дорослими (26 нг/мл проти 22,67 нг/мл). Рівень вітаміну 25(OH)D негативно корелює з показником інсулінорезистентності (індексом НОМА) у дітей ($r = -0,61, p < 0,05$).

5. Статистичний аналіз частот геномних варіантів (алелей), що асоційовані з остеопорозом та рівнем вітаміну D в українській популяції показав наступне: 10 ОНП статично достовірно відрізняються за частотою в популяції українців порівняно з популяцією CEU, $p < 0,05$. При цьому, 7 з цих ОНП знаходяться в гені *GC*, частота їх мінорної алелі 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. Мінорний алель rs10745742 зустрічається в українців у 0,74 рідше порівняно з CEU. Статистично-значимої різниці у частоті ОНП, які вивчалися у даному дослідженні в осіб з цукровим діабетом та осіб без ЦД не виявлено. Лише один ОНП rs1801197 асоційований з мінеральним обміном та МЩКТ відрізнявся за частотою в популяції українців порівняно з популяцією CEU.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Пацієнтам з цукровим діабетом, особливо старшого віку варто 1 раз у рік проходити рентгенівське денситометричне обстеження скелету та вимірювати рівень 25(OH)D та ПТГ з метою раннього виявлення порушень та початку лікування.

2. Все доросле населення Закарпатської області потребує регулярного визначення рівня вітаміну D, рекомендовано восени, з призначенням адекватної замісної терапії в разі виявлення дефіциту або недостатності. Дітям з синдромом інсулінорезистентності також рекомендовано вимірювати рівень 25(OH)D також щорічно восени і призначати замісну терапію згідно результатів обстеження.

3. Рекомендовано визначення генотипу швидким ПЛР методом за кількома однонуклеотидними поліморфізмами, які асоційовані з нижчим рівнем вітаміну D з метою розрахунку індивідуального полігенного ризику розвитку дефіциту вітаміну D.

Список використаних джерел

- [1] P. Pludowski, M. F. Holick, W. B. Grant, J. Konstantynowicz, M. R. Mascarenhas, A. Наq, *et al.*, "Рекомендації щодо використання вітаміну D," *Семейная медицина*, pp. 36-46, 2018.
- [2] C. F. Munns, N. Shaw, M. Kiely, B. L. Specker, T. D. Thacher, K. Ozono, *et al.*, "Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets," *Hormone research in paediatrics*, vol. 85, pp. 83-106, 2016.
- [3] I. Roggen, I. Gies, J. Vanbesien, O. Louis, and J. De Schepper, "Trabecular bone mineral density and bone geometry of the distal radius at completion of pubertal growth in childhood type 1 diabetes," *Hormone Research in Paediatrics*, vol. 79, pp. 68-74, 2013.
- [4] S.-S. Li, L.-H. Gao, X.-Y. Zhang, J.-W. He, W.-Z. Fu, Y.-J. Liu, *et al.*, "Genetically low vitamin D levels, bone mineral density, and bone metabolism markers: a Mendelian randomisation study," *Scientific reports*, vol. 6, p. 33202, 2016.
- [5] L. Bao, M. Chen, Y. Lei, Z. Zhou, H. Shen, and F. Le, "Association between vitamin D receptor BsmI polymorphism and bone mineral density in pediatric patients: A meta-analysis and systematic review of observational studies," *Medicine*, vol. 96, 2017.
- [6] L. Mao, Y. Tamura, N. Kawao, K. Okada, M. Yano, K. Okumoto, *et al.*, "Influence of diabetic state and vitamin D deficiency on bone repair in female mice," *Bone*, vol. 61, pp. 102-108, 2014.
- [7] W. D. Leslie, M. R. Rubin, A. V. Schwartz, and J. A. Kanis, "Type 2 diabetes and bone," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 27, pp. 2231-2237, 2012.
- [8] P. Pietschmann, J. Patsch, and G. Schernthaner, "Diabetes and bone," *Hormone and metabolic research*, vol. 42, pp. 763-768, 2010.

- [9] P. Vestergaard, "Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes—a meta-analysis," *Osteoporosis International*, vol. 18, pp. 427-444, 2007.
- [10] M. Janghorbani, R. M. Van Dam, W. C. Willett, and F. B. Hu, "Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture," ed: Oxford Univ Press, 2007.
- [11] E. S. Strotmeyer, J. A. Cauley, A. V. Schwartz, M. C. Nevitt, H. E. Resnick, D. C. Bauer, *et al.*, "Nontraumatic fracture risk with diabetes mellitus and impaired fasting glucose in older white and black adults: the health, aging, and body composition study," *Archives of internal medicine*, vol. 165, pp. 1612-1617, 2005.
- [12] S. TA, "Diagnosis and classification of diabetes mellitus," *Diabetes care*, vol. 37, p. S81, 2014.
- [13] A. D. Association, "Classification and diagnosis of diabetes," *Diabetes care*, vol. 38, pp. S8-S16, 2015.
- [14] P. A. C, "Diabetes mellitus. In: Jameson JL (ed) Harrison's endocrinology, 3rd edn. ," *McGraw-Hill, New York,*, vol. 3rd edn, pp. 261–307 .
- [15] B. Mlinar, J. Marc, A. Janež, and M. Pfeifer, "Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases," *Clinica Chimica Acta*, vol. 375, pp. 20-35, 2007.
- [16] V. T. Samuel and G. I. Shulman, "Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links," *Cell*, vol. 148, pp. 852-871, 2012.
- [17] N. Consensus, "Development panel on osteoporosis: prevention, diagnosis and therapy," *Jama*, vol. 285, pp. 785-795, 2001.
- [18] W. H. Organization, "Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: report of a WHO study group [meeting held in Rome from 22 to 25 June 1992]," 1994.
- [19] W. D. Leslie, R. A. Adler, G. E.-H. Fuleihan, A. Hodsman, D. L. Kendler, M. McClung, *et al.*, "Application of the 1994 WHO classification to populations

- other than postmenopausal Caucasian women: the 2005 ISCD Official Positions," *Journal of Clinical Densitometry*, vol. 9, pp. 22-30, 2006.
- [20] Y. Lu, H. K. Genant, J. Shepherd, S. Zhao, A. Mathur, T. P. Fuerst, *et al.*, "Classification of osteoporosis based on bone mineral densities," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 16, pp. 901-910, 2001.
- [21] R. Guéguen, P. Jouanny, F. Guillemin, C. Kuntz, J. Pourel, and G. Siest, "Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy families," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 10, pp. 2017-2022, 1995.
- [22] A. J. MacGregor, H. Snieder, and T. D. Spector, "Genetic factors and osteoporotic fractures in elderly people: twin data support genetic contribution to risk of fracture," *BMJ: British Medical Journal*, vol. 320, p. 1669, 2000.
- [23] P.-J. López-Ibarra, M. M. C. Pastor, F. Escobar-Jiménez, M. D. S. Pardo, A. G. González, J. D. D. Luna, *et al.*, "Bone mineral density at time of clinical diagnosis of adult-onset type 1 diabetes mellitus," *Endocrine Practice*, vol. 7, pp. 346-351, 2001.
- [24] R. Sealand, C. Razavi, and R. A. Adler, "Diabetes mellitus and osteoporosis," *Current diabetes reports*, vol. 13, pp. 411-418, 2013.
- [25] E. J. Hamilton, V. Rakic, W. A. Davis, S. P. Chubb, N. Kamber, R. L. Prince, *et al.*, "A five-year prospective study of bone mineral density in men and women with diabetes: the Fremantle Diabetes Study," *Acta diabetologica*, vol. 49, pp. 153-158, 2012.
- [26] D. J. Hadjidakis, A. Raptis, M. Sfakianakis, A. Mylonakis, and S. Raptis, "Bone mineral density of both genders in Type 1 diabetes according to bone composition," *Journal of Diabetes and its Complications*, vol. 20, pp. 302-307, 2006.
- [27] H. Lunt, C. Florkowski, T. Cundy, D. Kendall, L. Brown, J. Elliot, *et al.*, "A population-based study of bone mineral density in women with longstanding type 1 (insulin dependent) diabetes," *Diabetes research and clinical practice*, vol. 40, pp. 31-38, 1998.

- [28] M. Munoz-Torres, E. Jodar, F. Escobar-Jimenez, P. Lopez-Ibarra, and J. Luna, "Bone mineral density measured by dual X-ray absorptiometry in Spanish patients with insulin-dependent diabetes mellitus," *Calcified tissue international*, vol. 58, pp. 316-319, 1996.
- [29] S. Kemink, A. Hermus, L. Swinkels, J. Lutterman, and A. Smals, "Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology," *Journal of endocrinological investigation*, vol. 23, pp. 295-303, 2000.
- [30] G. Hampson, C. Evans, R. Petitt, W. Evans, S. Woodhead, J. Peters, *et al.*, "Bone mineral density, collagen type 1 α 1 genotypes and bone turnover in premenopausal women with diabetes mellitus," *Diabetologia*, vol. 41, pp. 1314-1320, 1998.
- [31] J. T. Tuominen, O. Impivaara, P. Puukka, and T. Rönnemaa, "Bone mineral density in patients with type 1 and type 2 diabetes," *Diabetes care*, vol. 22, pp. 1196-1200, 1999.
- [32] E. S. Strotmeyer, J. A. Cauley, T. J. Orchard, A. R. Steenkiste, and J. S. Dorman, "Middle-aged premenopausal women with type 1 diabetes have lower bone mineral density and calcaneal quantitative ultrasound than nondiabetic women," *Diabetes care*, vol. 29, pp. 306-311, 2006.
- [33] M. Campos Pastor, P. Lopez-Ibarra, F. Escobar-Jimenez, M. Serrano Pardo, and A. Garcia-Cervigon, "Intensive insulin therapy and bone mineral density in type 1 diabetes mellitus: a prospective study," *Osteoporosis International*, vol. 11, pp. 455-459, 2000.
- [34] P. Clausen, B. Feldt-Rasmussen, P. Jacobsen, K. Rossing, H. H. Parving, P. Nielsen, *et al.*, "Microalbuminuria as an early indicator of osteopenia in male insulin-dependent diabetic patients," *Diabetic medicine*, vol. 14, pp. 1038-1043, 1997.
- [35] M. Rix, H. Andreassen, and P. Eskildsen, "Impact of peripheral neuropathy on bone density in patients with type 1 diabetes," *Diabetes Care*, vol. 22, pp. 827-831, 1999.

- [36] D. E. Bonds, J. C. Larson, A. V. Schwartz, E. S. Strotmeyer, J. Robbins, B. L. Rodriguez, *et al.*, "Risk of fracture in women with type 2 diabetes: the Women's Health Initiative Observational Study," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 91, pp. 3404-3410, 2006.
- [37] N. Napoli, E. S. Strotmeyer, K. E. Ensrud, D. E. Sellmeyer, D. C. Bauer, A. R. Hoffman, *et al.*, "Fracture risk in diabetic elderly men: the MrOS study," *Diabetologia*, vol. 57, pp. 2057-2065, 2014.
- [38] W.-P. Koh, R. Wang, L.-W. Ang, D. Heng, J.-M. Yuan, and C. Y. Mimi, "Diabetes and risk of hip fracture in the Singapore Chinese Health Study," *Diabetes Care*, vol. 33, pp. 1766-1770, 2010.
- [39] A. V. Schwartz, D. E. Sellmeyer, K. E. Ensrud, J. A. Cauley, H. K. Tabor, P. J. Schreiner, *et al.*, "Older women with diabetes have an increased risk of fracture: a prospective study," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 86, pp. 32-38, 2001.
- [40] I. De Liefde, M. Van der Klift, C. De Laet, P. Van Daele, A. Hofman, and H. Pols, "Bone mineral density and fracture risk in type-2 diabetes mellitus: the Rotterdam Study," *Osteoporosis International*, vol. 16, pp. 1713-1720, 2005.
- [41] E. S. Strotmeyer, J. A. Cauley, A. V. Schwartz, M. C. Nevitt, H. E. Resnick, J. M. Zmuda, *et al.*, "Diabetes is associated independently of body composition with BMD and bone volume in older white and black men and women: The Health, Aging, and Body Composition Study," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 19, pp. 1084-1091, 2004.
- [42] T. Majima, Y. Komatsu, T. Yamada, Y. Koike, M. Shigemoto, C. Takagi, *et al.*, "Decreased bone mineral density at the distal radius, but not at the lumbar spine or the femoral neck, in Japanese type 2 diabetic patients," *Osteoporosis international*, vol. 16, pp. 907-913, 2005.
- [43] J. Kanis, A. Odén, O. Johnell, H. Johansson, C. De Laet, J. Brown, *et al.*, "The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women," *Osteoporosis international*, vol. 18, pp. 1033-1046, 2007.

- [44] B. Ettinger, K. E. Ensrud, T. Blackwell, J. R. Curtis, J. A. Lapidus, E. S. Orwoll, *et al.*, "Performance of FRAX in a cohort of community-dwelling, ambulatory older men: the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) study," *Osteoporosis International*, vol. 24, pp. 1185-1193, 2013.
- [45] L. M. Giangregorio, W. D. Leslie, L. M. Lix, H. Johansson, A. Oden, E. McCloskey, *et al.*, "FRAX underestimates fracture risk in patients with diabetes," *Journal of bone and mineral research*, vol. 27, pp. 301-308, 2012.
- [46] D.-d. Zhao, P.-l. Jiao, J.-j. Yu, X.-j. Wang, L. Zhao, Y. Xuan, *et al.*, "Higher serum uric acid is associated with higher bone mineral density in Chinese men with type 2 diabetes mellitus," *International journal of endocrinology*, vol. 2016, 2016.
- [47] P. Yan, Z. Zhang, Q. Wan, J. Zhu, H. Li, C. Gao, *et al.*, "Association of serum uric acid with bone mineral density and clinical fractures in Chinese type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study," *Clinica Chimica Acta*, vol. 486, pp. 76-85, 2018.
- [48] M. Pirro, M. Mannarino, V. Bianconi, S. De Vuono, A. Sahebkar, F. Bagaglia, *et al.*, "Uric acid and bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women: the link lies within the fat," *Osteoporosis International*, vol. 28, pp. 973-981, 2017.
- [49] A. Dogru, A. Balkarli, C. C. Karatay, V. Cobankara, and M. Sahin, "Bone mineral density and serum osteocalcin levels in patients with gout," *Acta Clinica Belgica*, vol. 74, pp. 252-257, 2019.
- [50] Y. H. Lee and G. G. Song, "Uric acid level, gout and bone mineral density: A Mendelian randomization study," *European journal of clinical investigation*, vol. 49, p. e13156, 2019.
- [51] M. Wakasugi, R. Wakao, M. Tawata, N. Gan, K. Koizumi, and T. Onaya, "Bone mineral density measured by dual energy X-ray absorptiometry in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus," *Bone*, vol. 14, pp. 29-33, 1993.
- [52] T. A. Einhorn, A. L. Boskey, C. M. Gundberg, V. J. Vigorita, V. J. Devlin, and M. M. Beyer, "The mineral and mechanical properties of bone in chronic

- experimental diabetes," *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 6, pp. 317-323, 1988.
- [53] G. Maor and E. Karnieli, "The Insulin-Sensitive Glucose Transporter (GLUT4) Is Involved in Early Bone Growth in Control and Diabetic Mice, But Is Regulated through the Insulin-Like Growth Factor I Receptor 1," *Endocrinology*, vol. 140, pp. 1841-1851, 1999.
- [54] J. Jiang, A. C. Lichtler, G. A. Gronowicz, D. J. Adams, S. H. Clark, C. J. Rosen, *et al.*, "Transgenic mice with osteoblast-targeted insulin-like growth factor-I show increased bone remodeling," *Bone*, vol. 39, pp. 494-504, 2006.
- [55] M. L. Bouxsein, C. J. Rosen, C. H. Turner, C. L. Ackert, K. L. Shultz, L. R. Donahue, *et al.*, "Generation of a New Congenic Mouse Strain to Test the Relationships Among Serum Insulin-like Growth Factor I, Bone Mineral Density, and Skeletal Morphology In Vivo," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 17, pp. 570-579, 2002.
- [56] R. Bouillon, M. Bex, E. Van Herck, J. Laureys, L. Doms, E. Lesaffre, *et al.*, "Influence of age, sex, and insulin on osteoblast function: osteoblast dysfunction in diabetes mellitus," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 80, pp. 1194-1202, 1995.
- [57] S. N. Pramojane, M. Phimphilai, N. Chattipakorn, and S. C. Chattipakorn, "Possible roles of insulin signaling in osteoblasts," *Endocrine research*, vol. 39, pp. 144-151, 2014.
- [58] S. Adami, "Bone health in diabetes: considerations for clinical management," *Current medical research and opinion*, vol. 25, pp. 1057-1072, 2009.
- [59] D. Vashishth, "The role of the collagen matrix in skeletal fragility," *Current osteoporosis reports*, vol. 5, pp. 62-66, 2007.
- [60] V. M. Monnier, R. R. Kohn, and A. Cerami, "Accelerated age-related browning of human collagen in diabetes mellitus," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 81, pp. 583-587, 1984.

- [61] M. Saito and K. Marumo, "Effects of collagen crosslinking on bone material properties in health and disease," *Calcified tissue international*, vol. 97, pp. 242-261, 2015.
- [62] P. Odetti, S. Rossi, F. Monacelli, A. Poggi, M. Cirnigliaro, M. Federici, *et al.*, "Advanced glycation end products and bone loss during aging," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1043, pp. 710-717, 2005.
- [63] S. Tang, M. R. Allen, R. Phipps, D. B. Burr, and D. Vashishth, "Changes in non-enzymatic glycation and its association with altered mechanical properties following 1-year treatment with risedronate or alendronate," *Osteoporosis international*, vol. 20, pp. 887-894, 2009.
- [64] A. V. Schwartz, P. Garnero, T. A. Hillier, D. E. Sellmeyer, E. S. Strotmeyer, K. R. Feingold, *et al.*, "Pentosidine and increased fracture risk in older adults with type 2 diabetes," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 94, pp. 2380-2386, 2009.
- [65] E. D'Erasmus, D. Pisani, A. Ragno, N. Raejntroph, E. Vecci, and M. Acca, "Calcium homeostasis during oral glucose load in healthy women," *Hormone and metabolic research*, vol. 31, pp. 271-273, 1999.
- [66] R. Okazaki, Y. Totsuka, K. Hamano, M. Ajima, M. Miura, Y. Hirota, *et al.*, "Metabolic Improvement of Poorly Controlled Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus Decreases Bone Turnover 1," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 82, pp. 2915-2920, 1997.
- [67] R. Scragg, I. Holdaway, V. Singh, P. Metcalf, J. Baker, and E. Dryson, "Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels decreased in impaired glucose tolerance and diabetes mellitus," *Diabetes research and clinical practice*, vol. 27, pp. 181-188, 1995.
- [68] P. Dhaon and V. N. Shah, "Type 1 diabetes and osteoporosis: A review of literature," *Indian journal of endocrinology and metabolism*, vol. 18, p. 159, 2014.
- [69] M. N. Horcajada-Molteni, B. Chanteranne, P. Lebecque, M. J. Davicco, V. Coxam, A. Young, *et al.*, "Amylin and bone metabolism in streptozotocin-

- induced diabetic rats," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 16, pp. 958-965, 2001.
- [70] R. Dacquin, R. A. Davey, C. Laplace, R. Levasseur, H. A. Morris, S. R. Goldring, *et al.*, "Amylin inhibits bone resorption while the calcitonin receptor controls bone formation in vivo," *J Cell Biol*, vol. 164, pp. 509-514, 2004.
- [71] M. Bridges, S. Moochhala, J. Barbour, and C. Kelly, "Influence of diabetes on peripheral bone mineral density in men: a controlled study," *Acta diabetologica*, vol. 42, pp. 82-86, 2005.
- [72] J.-L. Pérez-Castrillón, D. De Luis, J. C. Martín-Escudero, T. Asensio, R. del Amo, and O. Izaola, "Non-insulin-dependent diabetes, bone mineral density, and cardiovascular risk factors," *Journal of diabetes and its complications*, vol. 18, pp. 317-321, 2004.
- [73] L. Lenchik, T. Register, F. Hsu, K. Lohman, B. Nicklas, B. Freedman, *et al.*, "Adiponectin as a novel determinant of bone mineral density and visceral fat," *Bone*, vol. 33, pp. 646-651, 2003.
- [74] S. Takeda, F. Elefteriou, R. Levasseur, X. Liu, L. Zhao, K. L. Parker, *et al.*, "Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system," *Cell*, vol. 111, pp. 305-317, 2002.
- [75] P. Ducy, M. Amling, S. Takeda, M. Priemel, A. F. Schilling, F. T. Beil, *et al.*, "Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass," *Cell*, vol. 100, pp. 197-207, 2000.
- [76] B. Burguera, L. C. Hofbauer, T. Thomas, F. Gori, G. L. Evans, S. Khosla, *et al.*, "Leptin reduces ovariectomy-induced bone loss in rats," *Endocrinology*, vol. 142, pp. 3546-3553, 2001.
- [77] T. Thomas, F. Gori, S. Khosla, M. D. Jensen, B. Burguera, and B. L. Riggs, "Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes 1," *Endocrinology*, vol. 140, pp. 1630-1638, 1999.

- [78] W. Holloway, F. Collier, C. Aitken, M. Malakellis, T. Gough, D. Myers, *et al.*, "Leptin inhibits osteoclast generation," in *Journal of Bone and Mineral Research*, 2000, pp. S174-S174.
- [79] D. B. Henriksen, P. Alexandersen, N. H. Bjarnason, T. Vilsbøll, B. Hartmann, E. E. Henriksen, *et al.*, "Role of gastrointestinal hormones in postprandial reduction of bone resorption," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 18, pp. 2180-2189, 2003.
- [80] R. J. Bollag, Q. Zhong, P. Phillips, L. Min, L. Zhong, R. Cameron, *et al.*, "Osteoblast-Derived Cells Express Functional Glucose-Dependent Insulinotropic Peptide Receptors 1," *Endocrinology*, vol. 141, pp. 1228-1235, 2000.
- [81] R. J. Bollag, Q. Zhong, K. Ding, P. Phillips, L. Zhong, F. Qin, *et al.*, "Glucose-dependent insulinotropic peptide is an integrative hormone with osteotropic effects," *Molecular and cellular endocrinology*, vol. 177, pp. 35-41, 2001.
- [82] S. Doppelt, "Vitamin D, rickets, and osteomalacia," *The Orthopedic clinics of North America*, vol. 15, pp. 671-686, 1984.
- [83] B. Altieri, G. Muscogiuri, L. Barrea, C. Mathieu, C. V. Vallone, L. Mascitelli, *et al.*, "Does vitamin D play a role in autoimmune endocrine disorders? A proof of concept," *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, vol. 18, pp. 335-346, 2017.
- [84] M. Scaranti, G. de Castro Júnior, and A. O. Hoff, "Vitamin D and cancer: does it really matter?," *Current opinion in oncology*, vol. 28, pp. 205-209, 2016.
- [85] J. H. White, "Vitamin D signaling, infectious diseases, and regulation of innate immunity," *Infection and immunity*, vol. 76, pp. 3837-3843, 2008.
- [86] H. A. Bischoff-Ferrari, W. C. Willett, J. B. Wong, E. Giovannucci, T. Dietrich, and B. Dawson-Hughes, "Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials," *Jama*, vol. 293, pp. 2257-2264, 2005.
- [87] A. Avenell, W. J. Gillespie, L. D. Gillespie, and D. O'Connell, "Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures associated with involutional and

- post-menopausal osteoporosis," *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2005.
- [88] J. A. Cauley, A. Z. LaCroix, L. Wu, M. Horwitz, M. E. Danielson, D. C. Bauer, *et al.*, "Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and risk for hip fractures," *Annals of internal medicine*, vol. 149, pp. 242-250, 2008.
- [89] T. L. Van Belle, A.-S. Vanherwegen, D. Feyaerts, P. De Clercq, A. Verstuyf, H. Korf, *et al.*, "1, 25-Dihydroxyvitamin D3 and its analog TX527 promote a stable regulatory T cell phenotype in T cells from type 1 diabetes patients," *PloS one*, vol. 9, p. e109194, 2014.
- [90] B. Prietl, G. Treiber, T. Pieber, and K. Amrein, "Vitamin D and immune function," *Nutrients*, vol. 5, pp. 2502-2521, 2013.
- [91] D. D. Bikle, "Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications," *Chemistry & biology*, vol. 21, pp. 319-329, 2014.
- [92] D. Fraser and E. Kodicek, "Unique biosynthesis by kidney of a biologically active vitamin D metabolite," *Nature*, vol. 228, p. 764, 1970.
- [93] S. A. Kliewer, K. Umesono, D. J. Noonan, R. A. Heyman, and R. M. Evans, "Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors," *Nature*, vol. 358, p. 771, 1992.
- [94] S. K. Moestrup and P. J. Verroust, "Megalin-and cubilin-mediated endocytosis of protein-bound vitamins, lipids, and hormones in polarized epithelia," *Annual review of nutrition*, vol. 21, pp. 407-428, 2001.
- [95] D. Hunter, M. De Lange, H. Snieder, A. MacGregor, R. Swaminathan, R. Thakker, *et al.*, "Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 16, pp. 371-378, 2001.
- [96] C. Karohl, S. Su, M. Kumari, V. Tangpricha, E. Veledar, V. Vaccarino, *et al.*, "Heritability and seasonal variability of vitamin D concentrations in male twins—," *The American journal of clinical nutrition*, vol. 92, pp. 1393-1398, 2010.

- [97] N. T. Mills, M. J. Wright, A. K. Henders, D. W. Eyles, B. T. Baune, J. J. McGrath, *et al.*, "Heritability of transforming growth factor- β 1 and tumor necrosis factor-receptor type 1 expression and vitamin D levels in healthy adolescent twins," *Twin Research and Human Genetics*, vol. 18, pp. 28-35, 2015.
- [98] H. J. Yu, M. J. Kwon, H. Y. Woo, and H. Park, "Analysis of 25-Hydroxyvitamin D Status According to Age, Gender, and Seasonal Variation," *Journal of clinical laboratory analysis*, vol. 30, pp. 905-911, 2016.
- [99] Z. Dastani, R. Li, and B. Richards, "Genetic regulation of vitamin D levels," *Calcified tissue international*, vol. 92, pp. 106-117, 2013.
- [100] E. J. Benjamin, J. Dupuis, M. G. Larson, K. L. Lunetta, S. L. Booth, D. R. Govindaraju, *et al.*, "Genome-wide association with select biomarker traits in the Framingham Heart Study," *BMC medical genetics*, vol. 8, p. S11, 2007.
- [101] T. J. Wang, F. Zhang, J. B. Richards, B. Kestenbaum, J. B. Van Meurs, D. Berry, *et al.*, "Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study," *The Lancet*, vol. 376, pp. 180-188, 2010.
- [102] J. Ahn, K. Yu, R. Stolzenberg-Solomon, K. C. Simon, M. L. McCullough, L. Gallicchio, *et al.*, "Genome-wide association study of circulating vitamin D levels," *Human molecular genetics*, vol. 19, pp. 2739-2745, 2010.
- [103] X. Jiang, P. F. O'Reilly, H. Aschard, Y.-H. Hsu, J. B. Richards, J. Dupuis, *et al.*, "Genome-wide association study in 79,366 European-ancestry individuals informs the genetic architecture of 25-hydroxyvitamin D levels," *Nature communications*, vol. 9, p. 260, 2018.
- [104] S. A. Boyadjiev, J. C. Fromme, J. Ben, S. S. Chong, C. Nauta, D. J. Hur, *et al.*, "Cranio-lenticulo-sutural dysplasia is caused by a SEC23A mutation leading to abnormal endoplasmic-reticulum-to-Golgi trafficking," *Nature genetics*, vol. 38, p. 1192, 2006.
- [105] D. Manousaki, T. Dudding, S. Haworth, Y.-H. Hsu, C.-T. Liu, C. Medina-Gómez, *et al.*, "Low-frequency synonymous coding variation in CYP2R1 has

- large effects on vitamin D levels and risk of multiple sclerosis," *The American Journal of Human Genetics*, vol. 101, pp. 227-238, 2017.
- [106] Y. Rosen, J. Daich, I. Soliman, E. Brathwaite, and Y. Shoenfeld, "Vitamin D and autoimmunity," *Scandinavian journal of rheumatology*, vol. 45, pp. 439-447, 2016.
- [107] J. Tuomilehto, "The emerging global epidemic of type 1 diabetes," *Current diabetes reports*, vol. 13, pp. 795-804, 2013.
- [108] M. G. Kimlin, "Geographic location and vitamin D synthesis," *Molecular aspects of medicine*, vol. 29, pp. 453-461, 2008.
- [109] J.-Y. Dong, W. Zhang, J. J. Chen, Z.-L. Zhang, S.-F. Han, and L.-Q. Qin, "Vitamin D intake and risk of type 1 diabetes: a meta-analysis of observational studies," *Nutrients*, vol. 5, pp. 3551-3562, 2013.
- [110] E. Hyppönen, E. Läärä, A. Reunanen, M.-R. Järvelin, and S. M. Virtanen, "Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study," *The Lancet*, vol. 358, pp. 1500-1503, 2001.
- [111] R. Feng, Y. Li, G. Li, Z. Li, Y. Zhang, Q. Li, *et al.*, "Lower serum 25 (OH) D concentrations in type 1 diabetes: a meta-analysis," vol. 108, pp. e71-e75, 2015.
- [112] M. Simpson, H. Brady, X. Yin, J. Seifert, K. Barriga, M. Hoffman, *et al.*, "No association of vitamin D intake or 25-hydroxyvitamin D levels in childhood with risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY)," vol. 54, p. 2779, 2011.
- [113] K. L. Munger, L. I. Levin, J. Massa, R. Horst, T. Orban, and A. J. A. j. o. e. Ascherio, "Preclinical serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of type 1 diabetes in a cohort of US military personnel," vol. 177, pp. 411-419, 2013.
- [114] E. D. Gorham, C. F. Garland, A. A. Burgi, S. B. Mohr, K. Zeng, H. Hofflich, *et al.*, "Lower prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D concentration is associated with higher risk of insulin-requiring diabetes: a nested case-control study," vol. 55, pp. 3224-3227, 2012.

- [115] S. Nejentsev, J. D. Cooper, L. Godfrey, J. M. Howson, H. Rance, S. Nutland, *et al.*, "Analysis of the vitamin D receptor gene sequence variants in type 1 diabetes," *Diabetes*, vol. 53, pp. 2709-2712, 2004.
- [116] M. E. Miettinen, M. C. Smart, L. Kinnunen, C. Mathews, V. Harjutsalo, H.-M. Surcel, *et al.*, "Maternal VDR variants rather than 25-hydroxyvitamin D concentration during early pregnancy are associated with type 1 diabetes in the offspring," *Diabetologia*, vol. 58, pp. 2278-2283, 2015.
- [117] J. M. Norris, H.-S. Lee, B. Frederiksen, I. Erlund, U. Uusitalo, J. Yang, *et al.*, "Plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and risk of islet autoimmunity," *Diabetes*, vol. 67, pp. 146-154, 2018.
- [118] D. Blanton, Z. Han, L. Bierschenk, M. P. Linga-Reddy, H. Wang, M. Clare-Salzler, *et al.*, "Reduced serum vitamin D-binding protein levels are associated with Type 1 diabetes," *Diabetes*, vol. 60, pp. 2566-2570, 2011.
- [119] E. J. Szathmary, "The effect of Gc genotype on fasting insulin level in Dogrib Indians," *Human genetics*, vol. 75, pp. 368-372, 1987.
- [120] M. J. Berridge, "Vitamin D deficiency and diabetes," *Biochemical Journal*, vol. 474, pp. 1321-1332, 2017.
- [121] V. Shah, K. Harrall, C. Shah, T. Gallo, P. Joshee, J. Snell-Bergeon, *et al.*, "Bone mineral density at femoral neck and lumbar spine in adults with type 1 diabetes: a meta-analysis and review of the literature," *Osteoporosis International*, vol. 28, pp. 2601-2610, 2017.
- [122] D. R. Weber, K. Haynes, M. B. Leonard, S. M. Willi, and M. R. Denburg, "Type 1 diabetes is associated with an increased risk of fracture across the life span: a population-based cohort study using The Health Improvement Network (THIN)," *Diabetes Care*, p. dc150783, 2015.
- [123] K. M. Shchubelka, O. Oleksyk, and T. Hanych, "Vitamin D status, calcium, magnesium and parathyroid hormone levels in patients with diabetes mellitus," *INTERNATIONAL JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY*, vol. 13, pp. 570-573, 2017.

- [124] O. Hauache, M. Lazaretti-Castro, S. Andreoni, S. Gimeno, C. Brandao, A. Ramalho, *et al.*, "Vitamin D receptor gene polymorphism: correlation with bone mineral density in a Brazilian population with insulin-dependent diabetes mellitus," *Osteoporosis international*, vol. 8, pp. 204-210, 1998.
- [125] B. Maestro, S. Molero, S. Bajo, N. Davila, and C. Calle, "Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃," *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, vol. 20, pp. 227-232, 2002.
- [126] B. Draznin, K. Sussman, R. Eckel, M. Kao, T. Yost, and N. Sherman, "Possible role of cytosolic free calcium concentrations in mediating insulin resistance of obesity and hyperinsulinemia," *The Journal of clinical investigation*, vol. 82, pp. 1848-1852, 1988.
- [127] J. E.-B. REUSCH, N. BEGUM, K. E. SUSSMAN, and B. DRAZNIN, "Regulation of GLUT-4 phosphorylation by intracellular calcium in adipocytes," *Endocrinology*, vol. 129, pp. 3269-3273, 1991.
- [128] M. R. Haussler, G. K. Whitfield, I. Kaneko, C. A. Haussler, D. Hsieh, J.-C. Hsieh, *et al.*, "Molecular mechanisms of vitamin D action," *Calcified tissue international*, vol. 92, pp. 77-98, 2013.
- [129] K. Ee, "Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 89, pp. 2548-56, 2004.
- [130] E. H. Danen and K. M. Yamada, "Fibronectin, integrins, and growth control," *Journal of cellular physiology*, vol. 189, pp. 1-13, 2001.
- [131] R. G. Baker, M. S. Hayden, and S. Ghosh, "NF- κ B, inflammation, and metabolic disease," *Cell metabolism*, vol. 13, pp. 11-22, 2011.
- [132] M. Cohen-Lahav, S. Shany, D. Tobvin, C. Chaimovitz, and A. Douvdevani, "Vitamin D decreases NF κ B activity by increasing I κ B α levels," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 21, pp. 889-897, 2006.
- [133] K. Sadeghi, B. Wessner, U. Lagner, M. Ploder, D. Tamandl, J. Friedl, *et al.*, "Vitamin D₃ down-regulates monocyte TLR expression and triggers

- hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns," *European journal of immunology*, vol. 36, pp. 361-370, 2006.
- [134] A. Giulietti, E. van Etten, L. Overbergh, K. Stoffels, R. Bouillon, and C. Mathieu, "Monocytes from type 2 diabetic patients have a pro-inflammatory profile: 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ works as anti-inflammatory," *Diabetes research and clinical practice*, vol. 77, pp. 47-57, 2007.
- [135] T. N. Kim, M. S. Park, K. I. Lim, H. Y. Choi, S. J. Yang, H. J. Yoo, *et al.*, "Relationships between sarcopenic obesity and insulin resistance, inflammation, and vitamin D status: the Korean Sarcopenic Obesity Study," *Clinical endocrinology*, vol. 78, pp. 525-532, 2013.
- [136] K. L. Jablonski, M. Chonchol, G. L. Pierce, A. E. Walker, and D. R. Seals, "25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults," *Hypertension*, vol. 57, pp. 63-69, 2011.
- [137] C. A. Peterson and M. E. Heffernan, "Serum tumor necrosis factor- α concentrations are negatively correlated with serum 25 (OH) D concentrations in healthy women," *Journal of inflammation*, vol. 5, p. 10, 2008.
- [138] A. Bellia, C. Garcovich, M. D'Adamo, M. Lombardo, M. Tesauro, G. Donadel, *et al.*, "Serum 25-hydroxyvitamin D levels are inversely associated with systemic inflammation in severe obese subjects," *Internal and emergency medicine*, vol. 8, pp. 33-40, 2013.
- [139] V. Ganji, X. Zhang, N. Shaikh, and V. Tangpricha, "Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with prevalence of metabolic syndrome and various cardiometabolic risk factors in US children and adolescents based on assay-adjusted serum 25-hydroxyvitamin D data from NHANES 2001–2006," *The American journal of clinical nutrition*, vol. 94, pp. 225-233, 2011.
- [140] E. Hyppönen, D. Berry, M. Cortina-Borja, and C. Power, "25-Hydroxyvitamin D and pre-clinical alterations in inflammatory and hemostatic markers: a cross sectional analysis in the 1958 British Birth Cohort," *PloS one*, vol. 5, 2010.

- [141] S. Tangvarasittichai, "Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus," *World journal of diabetes*, vol. 6, p. 456, 2015.
- [142] M. Brownlee, "The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism," *diabetes*, vol. 54, pp. 1615-1625, 2005.
- [143] S. Furukawa, T. Fujita, M. Shimabukuro, M. Iwaki, Y. Yamada, Y. Nakajima, *et al.*, "Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome," *The Journal of clinical investigation*, vol. 114, pp. 1752-1761, 2017.
- [144] K. Nakai, H. Fujii, K. Kono, S. Goto, R. Kitazawa, S. Kitazawa, *et al.*, "Vitamin D activates the Nrf2-Keap1 antioxidant pathway and ameliorates nephropathy in diabetic rats," *American journal of hypertension*, vol. 27, pp. 586-595, 2014.
- [145] A. Greń, "Effects of vitamin E, C and D supplementation on inflammation and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic mice," *Int J Vitam Nutr Res*, vol. 83, pp. 168-175, 2013.
- [146] A. J. Ferira, E. M. Laing, D. B. Hausman, D. B. Hall, G. P. McCabe, B. R. Martin, *et al.*, "Vitamin D supplementation does not impact insulin resistance in black and white children," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 101, pp. 1710-1718, 2016.
- [147] С. Шаповал and І. Венгрин, "Перспективи використання сонячної енергії на території України," *Молодий вчений*, pp. 21-24, 2014.
- [148] П. Масляк and П. Шищенко, "Географія України: пробний підруч. для 8–9 кл. серед. шк," *К.: Зодіак-Еко*, 2000.
- [149] Л. Дмитренко and С. Барандіч, "Оцінка кліматичних ресурсів сонячної енергії в Україні," *Наукові праці Українського науково-дослідного гідрометеорологічного інституту*, 2011.
- [150] M. J. McKenna, "Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly," *The American journal of medicine*, vol. 93, pp. 69-77, 1992.
- [151] P. Lips, "Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications," *Endocrine reviews*, vol. 22, pp. 477-501, 2001.

- [152] D. A. Volmer, L. R. Mendes, and C. S. Stokes, "Analysis of vitamin D metabolic markers by mass spectrometry: current techniques, limitations of the "gold standard" method, and anticipated future directions," *Mass spectrometry reviews*, vol. 34, pp. 2-23, 2015.
- [153] M. Vidailhet, E. Mallet, A. Bocquet, J.-L. Bresson, A. Briend, J.-P. Chouraqui, *et al.*, "Vitamin D: still a topical matter in children and adolescents. A position paper by the Committee on Nutrition of the French Society of Paediatrics," *Archives de pédiatrie*, vol. 19, pp. 316-328, 2012.
- [154] A. C. Ross, J. E. Manson, S. A. Abrams, J. F. Aloia, P. M. Brannon, S. K. Clinton, *et al.*, "The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 96, pp. 53-58, 2011.
- [155] M. F. Holick, N. C. Binkley, H. A. Bischoff-Ferrari, C. M. Gordon, D. A. Hanley, R. P. Heaney, *et al.*, "Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 96, pp. 1911-1930, 2011.
- [156] T. J. Aspray, C. Bowring, W. Fraser, N. Gittoes, M. K. Javaid, H. Macdonald, *et al.*, "National Osteoporosis Society vitamin D guideline summary," *Age and ageing*, vol. 43, pp. 592-595, 2014.
- [157] W. S. G. o. Prevention, M. o. Osteoporosis, and W. H. Organization, *Prevention and management of osteoporosis: report of a WHO scientific group*: World Health Organization, 2003.
- [158] C. Lamberg-Allardt, M. Brustad, H. E. Meyer, and L. Steingrimsdottir, "Vitamin D—a systematic literature review for the 5th edition of the Nordic Nutrition Recommendations," *Food & nutrition research*, vol. 57, p. 22671, 2013.
- [159] N. S. German, "New reference values for vitamin D," *Annals of nutrition & metabolism*, vol. 60, p. 241, 2012.
- [160] H. Netherlands, "Dietary reference intakes: calcium, vitamin D, thiamin, riboflavin, niacin, pantothenic acid, and biotin," *The Hague: Health Council of the Netherlands*, 2000.

- [161] R. Weggemans, D. Kromhout, and C. Van Weel, "New dietary reference values for vitamin D in the Netherlands," *European journal of clinical nutrition*, vol. 67, pp. 685-685, 2013.
- [162] P. Płudowski, E. Karczmarewicz, M. Bayer, G. Carter, D. Chlebna-Sokół, J. Czech-Kowalska, *et al.*, "Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe—recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency," *Endokrynologia Polska*, vol. 64, pp. 319-327, 2013.
- [163] R. Bouillon, N. M. Van Schoor, E. Gielen, S. Boonen, C. Mathieu, D. Vanderschueren, *et al.*, "Optimal vitamin D status: a critical analysis on the basis of evidence-based medicine," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 98, pp. E1283-E1304, 2013.
- [164] P. Lips, "Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia," *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, vol. 103, pp. 620-625, 2007.
- [165] S. Kudlacek, B. Schneider, M. Peterlik, G. Leb, K. Klaushofer, K. Weber, *et al.*, "Assessment of vitamin D and calcium status in healthy adult Austrians," *European journal of clinical investigation*, vol. 33, pp. 323-331, 2003.
- [166] J. Kristinsson and Ö. Valdimarsson, "Serum 25-hydroxyvitamin D levels and bone mineral density in 16–20 years-old girls: lack of association," *Journal of internal medicine*, vol. 243, pp. 381-388, 1998.
- [167] D. McCarthy, A. Collins, M. O'Brien, C. Lamberg-Allardt, J. Jakobsen, J. Charzewska, *et al.*, "Vitamin D intake and status in Irish elderly women and adolescent girls," *Irish journal of medical science*, vol. 175, p. 14, 2006.
- [168] G. MacFarlane, J. Sackrison Jr, J.-J. Body, D. Ersfeld, J. Fenske, and A. Miller, "Hypovitaminosis D in a normal, apparently healthy urban European population," *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, vol. 89, pp. 621-622, 2004.
- [169] D. J. M. Malvy, C. Guinot, P. Preziosi, P. Galan, M. C. Chapuy, M. Maamer, *et al.*, "Relationship between vitamin D status and skin phototype in general adult population," *Photochemistry and photobiology*, vol. 71, pp. 466-469, 2000.

- [170] S. Adami, O. Viapiana, D. Gatti, L. Idolazzi, and M. Rossini, "Relationship between serum parathyroid hormone, vitamin D sufficiency, age, and calcium intake," *Bone*, vol. 42, pp. 267-270, 2008.
- [171] L. Napiórkowska, T. Budlewski, W. Jakubas-Kwiatkowska, V. Hamzy, D. Gozdowski, and E. Franek, "Prevalence of low serum vitamin D concentration in an urban population of elderly women in Poland," *Pol Arch Med Wewn*, vol. 119, pp. 699-703, 2009.
- [172] J. Almirall, M. Vaqueiro, M. L. Baré, and E. Anton, "Association of low serum 25-hydroxyvitamin D levels and high arterial blood pressure in the elderly," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 25, pp. 503-509, 2010.
- [173] A. Burgaz, A. Åkesson, K. Michaëlsson, and A. Wolk, "25-hydroxyvitamin D accumulation during summer in elderly women at latitude 60°N," *Journal of internal medicine*, vol. 266, pp. 476-483, 2009.
- [174] N. O. Kuchuk, S. M. Pluijm, N. M. van Schoor, C. W. Looman, J. H. Smit, and P. Lips, "Relationships of serum 25-hydroxyvitamin D to bone mineral density and serum parathyroid hormone and markers of bone turnover in older persons," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 94, pp. 1244-1250, 2009.
- [175] В. Поворознюк, Н. Балацька, В. Муц, and О. Вдовіна, "Дефіцит та недостатність вітаміну D у жителів України," *Біль. Суставы. Позвоночник*, 2011.
- [176] A. Connell, N. Jenkins, M. Black, J. Pasco, M. Kotowicz, and H. Schneider, "Overreporting of vitamin D deficiency with the Roche Elecsys Vitamin D3 (25-OH) method," *Pathology*, vol. 43, pp. 368-371, 2011.
- [177] I. Elmadfa and A. L. Meyer, *Austrian nutrition report 2012*: Federal Ministry of Health, 2012.
- [178] K. Castetbon, M. Vernay, A. Malon, B. Salanave, V. Deschamps, C. Roudier, *et al.*, "Dietary intake, physical activity and nutritional status in adults: the French nutrition and health survey (ENNS, 2006–2007)," *British Journal of Nutrition*, vol. 102, pp. 733-743, 2009.

- [179] B. Hintzpeter, G. Mensink, W. Thierfelder, M. Müller, and C. Scheidt-Nave, "Vitamin D status and health correlates among German adults," *European journal of clinical nutrition*, vol. 62, pp. 1079-1089, 2008.
- [180] R. Andersen, C. Mølgaard, L. T. Skovgaard, C. Brot, K. Cashman, E. Chabros, *et al.*, "Teenage girls and elderly women living in northern Europe have low winter vitamin D status," *European journal of clinical nutrition*, vol. 59, pp. 533-541, 2005.
- [181] J. Adams and M. White, "Characterisation of UK diets according to degree of food processing and associations with socio-demographics and obesity: cross-sectional analysis of UK National Diet and Nutrition Survey (2008–12)," *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, vol. 12, p. 160, 2015.
- [182] A. Spiro and J. Buttriss, "Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe," *Nutrition bulletin*, vol. 39, pp. 322-350, 2014.
- [183] J. Hilger, A. Friedel, R. Herr, T. Rausch, F. Roos, D. A. Wahl, *et al.*, "A systematic review of vitamin D status in populations worldwide," *British journal of nutrition*, vol. 111, pp. 23-45, 2014.
- [184] N. van Schoor and P. Lips, "Worldwide vitamin D status," in *Vitamin D*, ed: Elsevier, 2018, pp. 15-40.
- [185] A. Mithal, D. A. Wahl, J.-P. Bonjour, P. Burckhardt, B. Dawson-Hughes, J. A. Eisman, *et al.*, "Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D," *Osteoporosis international*, vol. 20, pp. 1807-1820, 2009.
- [186] A. Dawodu and H. Akinbi, "Vitamin D nutrition in pregnancy: current opinion," *International journal of women's health*, vol. 5, p. 333, 2013.
- [187] N. J. Shaw and M. Z. Mughal, "Vitamin D and child health part 1 (skeletal aspects)," *Archives of disease in childhood*, vol. 98, pp. 363-367, 2013.
- [188] N. EFSA, "Panel (EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies), 2012a. Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D. EFSA Journal 2012; 10 (7): 2813, 45 pp," ed, 2012.

- [189] Z. Mughal, "Resurgence of vitamin D deficiency rickets in the UK," in *Society for Endocrinology BES 2012*, 2012.
- [190] I. M. van der Meer, B. J. Middelkoop, A. J. P. Boeke, and P. Lips, "Prevalence of vitamin D deficiency among Turkish, Moroccan, Indian and sub-Saharan African populations in Europe and their countries of origin: an overview," *Osteoporosis international*, vol. 22, pp. 1009-1021, 2011.
- [191] B. Hintzpeter, C. Scheidt-Nave, M. J. Müller, L. Schenk, and G. B. Mensink, "Higher prevalence of vitamin D deficiency is associated with immigrant background among children and adolescents in Germany," *The Journal of nutrition*, vol. 138, pp. 1482-1490, 2008.
- [192] I. Wicherts, A. Boeke, I. Van der Meer, N. Van Schoor, D. Knol, and P. Lips, "Sunlight exposure or vitamin D supplementation for vitamin D-deficient non-western immigrants: a randomized clinical trial," *Osteoporosis International*, vol. 22, pp. 873-882, 2011.
- [193] M.-A. Krieg, J. Cornuz, A. Jacquet, D. Thiebaud, and P. Burckhardt, "Influence of anthropometric parameters and biochemical markers of bone metabolism on quantitative ultrasound of bone in the institutionalized elderly," *Osteoporosis international*, vol. 8, pp. 115-120, 1998.
- [194] M. Samefors, C. J. Östgren, S. Mölsted, C. Lannering, P. Midlöv, and A. Tengblad, "Vitamin D deficiency in elderly people in Swedish nursing homes is associated with increased mortality," *European journal of endocrinology*, vol. 170, pp. 667-675, 2014.
- [195] "Наказ МОЗ України від 29.12. 2014 № 1021" Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті 1 типу у молодих людей та дорослих", "Режим доступу: http://www.dec.gov.ua/mtd/_cd1_dor.html.
- [196] "Наказ МОЗ України від 21.12. 2012 № 1118 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті 2 типу», "Наказ МОЗ

України.—Режим доступу:

http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20121221_1118.html, 2012.

- [197] J. Lasky-Su, N. Lange, J. M. Brehm, A. Damask, M. Soto-Quiros, L. Avila, *et al.*, "Genome-wide association analysis of circulating vitamin D levels in children with asthma," *Human genetics*, vol. 131, pp. 1495-1505, 2012.
- [198] F. Jia, R.-F. Sun, Q.-H. Li, D.-X. Wang, F. Zhao, J.-M. Li, *et al.*, "Vitamin D receptor Bsm I polymorphism and osteoporosis risk: a meta-analysis from 26 studies," *Genetic testing and molecular biomarkers*, vol. 17, pp. 30-34, 2013.
- [199] E. Jakubowska-Pietkiewicz, W. Młynarski, I. Klich, W. Fendler, and D. Chlebna-Sokół, "Vitamin D receptor gene variability as a factor influencing bone mineral density in pediatric patients," *Molecular biology reports*, vol. 39, pp. 6243-6250, 2012.
- [200] L. Esterle, F. Jehan, J. P. Sabatier, and M. Garabedian, "Higher milk requirements for bone mineral accrual in adolescent girls bearing specific caucasian genotypes in the VDR promoter," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 24, pp. 1389-1397, 2009.
- [201] E. Falcón-Ramírez, L. Casas-Avila, R. M. Cerda-Flores, C. Castro-Hernández, J. Rubio-Lightbourn, R. Velázquez-Cruz, *et al.*, "Association of LRP5 haplotypes with osteoporosis in Mexican women," *Molecular biology reports*, vol. 40, pp. 2705-2710, 2013.
- [202] A. Kitjaroentham, H. Hananantachai, B. Phonrat, S. Preutthipan, and R. Tungtrongchitr, "Low density lipoprotein receptor-related protein 5 gene polymorphisms and osteoporosis in Thai menopausal women," *Journal of negative results in biomedicine*, vol. 15, p. 16, 2016.
- [203] J. B. van Meurs, T. A. Trikalinos, S. H. Ralston, S. Balcells, M. L. Brandi, K. Brixen, *et al.*, "Large-scale analysis of association between LRP5 and LRP6 variants and osteoporosis," *Jama*, vol. 299, pp. 1277-1290, 2008.
- [204] G. J. Tranah, B. C. Taylor, L.-Y. Lui, J. M. Zmuda, J. A. Cauley, K. E. Ensrud, *et al.*, "Genetic variation in candidate osteoporosis genes, bone mineral density,

- and fracture risk: the study of osteoporotic fractures," *Calcified tissue international*, vol. 83, pp. 155-166, 2008.
- [205] F. S. van Dijk, M. C. Zillikens, D. Micha, M. Riessland, C. L. Marcelis, C. E. de Die-Smulders, *et al.*, "PLS3 mutations in X-linked osteoporosis with fractures," *New England Journal of Medicine*, vol. 369, pp. 1529-1536, 2013.
- [206] N. Siva, "1000 Genomes project," ed: Nature Publishing Group, 2008.
- [207] K. M. O'Brien, D. P. Sandler, M. Shi, Q. E. Harmon, J. A. Taylor, and C. R. Weinberg, "Genome-wide association study of serum 25-hydroxyvitamin D in US women," *Frontiers in genetics*, vol. 9, p. 67, 2018.
- [208] R. Jewkes, Y. Sikweyiya, R. Morrell, and K. Dunkle, "Gender inequitable masculinity and sexual entitlement in rape perpetration South Africa: findings of a cross-sectional study," *PloS one*, vol. 6, 2011.
- [209] L.-H. Li, X.-Y. Yin, X.-H. Wu, L. Zhang, S.-Y. Pan, Z.-J. Zheng, *et al.*, "Serum 25 (OH) D and vitamin D status in relation to VDR, GC and CYP2R1 variants in Chinese," *Endocrine journal*, vol. 61, pp. 133-141, 2014.
- [210] R. Jorde, H. Schirmer, T. Wilsgaard, R. M. Joakimsen, E. B. Mathiesen, I. Njølstad, *et al.*, "Polymorphisms related to the serum 25-hydroxyvitamin D level and risk of myocardial infarction, diabetes, cancer and mortality. The Tromsø Study," *PloS one*, vol. 7, 2012.
- [211] R. St-Arnaud and G. Jones, "CYP24A1: structure, function, and physiological role," in *Vitamin D*, ed: Elsevier, 2018, pp. 81-95.
- [212] J. K. Myung, J. B. Jeong, D. Han, C. S. Song, H. J. Moon, Y. A. Kim, *et al.*, "Well-differentiated liposarcoma of the oesophagus: clinicopathological, immunohistochemical and array CGH analysis," *Pathology & Oncology Research*, vol. 17, pp. 415-420, 2011.
- [213] P. Mitra, M. Guha, S. Ghosh, S. Mukherjee, B. Bankura, D. K. Pal, *et al.*, "Association of calcitonin receptor gene (CALCR) polymorphism with kidney stone disease in the population of West Bengal, India," *Gene*, vol. 622, pp. 23-28, 2017.

- [214] V. Rigalleau, C. Lasseur, C. Raffaitin, C. Perlemoine, N. Barthe, P. Chauveau, *et al.*, "Bone loss in diabetic patients with chronic kidney disease," *Diabetic medicine*, vol. 24, pp. 91-93, 2007.
- [215] X. Kong, L. Tang, X. Ma, W. Liu, Z. Wang, M. Cui, *et al.*, "Relationship between mild-to-moderate chronic kidney disease and decreased bone mineral density in Chinese adult population," *International urology and nephrology*, vol. 47, pp. 1547-1553, 2015.
- [216] T. Isakova, T. E. Craven, J. J. Scialla, T. L. Nickolas, A. Schnall, J. Barzilay, *et al.*, "Change in estimated glomerular filtration rate and fracture risk in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Trial," *Bone*, vol. 78, pp. 23-27, 2015.
- [217] S. Ishii, M. Miyao, Y. Mizuno, M. Tanaka-Ishikawa, M. Akishita, and Y. Ouchi, "Association between serum uric acid and lumbar spine bone mineral density in peri- and postmenopausal Japanese women," *Osteoporosis International*, vol. 25, pp. 1099-1105, 2014.
- [218] M. C. Rolim, B. M. Santos, G. Conceição, and P. N. Rocha, "Relationship between vitamin D status, glycemic control and cardiovascular risk factors in Brazilians with type 2 diabetes mellitus," *Diabetology & metabolic syndrome*, vol. 8, p. 77, 2016.
- [219] M. Cigolini, M. P. Iagulli, V. Miconi, M. Galiotto, S. Lombardi, and G. Targher, "Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and prevalence of cardiovascular disease among type 2 diabetic patients," *Diabetes care*, vol. 29, pp. 722-724, 2006.
- [220] L. Sokolova, V. Pushkarev, V. Pushkarev, and N. Tronko, "Diabetes and atherosclerosis. Cellular mechanisms of the pathogenesis. Literature review," *Ендокринологія*, pp. 127-138, 2017.
- [221] P. F. Schnatz, X. Jiang, S. Vila-Wright, A. K. Aragaki, M. Nudy, D. M. O'Sullivan, *et al.*, "Calcium/Vitamin D (CaD) Supplementation, Serum 25 (OH) Vitamin D Concentrations, and Cholesterol Profiles in the Women's Health

- Initiative CaD Randomized Trial," *Menopause (New York, NY)*, vol. 21, p. 823, 2014.
- [222] J. E. Manson, M. A. Allison, J. J. Carr, R. D. Langer, B. B. Cochrane, S. L. Hendrix, *et al.*, "Calcium/vitamin D supplementation and coronary artery calcification," *Menopause (New York, NY)*, vol. 17, p. 683, 2010.
- [223] A. E. Riek, J. Oh, I. Darwech, V. Worthy, X. Lin, R. E. Ostlund Jr, *et al.*, "Vitamin D3 supplementation decreases a unique circulating monocyte cholesterol pool in patients with type 2 diabetes," *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, vol. 177, pp. 187-192, 2018.
- [224] Ю. Комісаренко, "Корекція вітаміном D3 порушень метаболічних процесів у пацієнтів із цукровим діабетом 1-го та 2-го типів," *Ukrainian Biochemical Journal*, pp. 111-116, 2014.
- [225] P. Płudowski, C. Ducki, J. Konstantynowicz, and M. Jaworski, "Vitamin D status in Poland," *Pol Arch Med Wewn*, vol. 126, pp. 530-539, 2016.
- [226] P. Vanuga, Z. Killinger, P. Masaryk, S. Tomkova, Z. Kmecova, V. Spustova, *et al.*, "Vitamin D levels in young healthy premenopausal females in Slovakia," in *11th European Congress of Endocrinology*, 2009.
- [227] L. Clarke, X. Zheng-Bradley, R. Smith, E. Kulesha, C. Xiao, I. Toneva, *et al.*, "The 1000 Genomes Project: data management and community access," *Nature methods*, vol. 9, pp. 459-462, 2012.

ДОДАТКИ

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

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”).

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”.

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”.

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 ”.

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

MEMORANDUM OF COLLABORATION

In order to further strengthen international cooperation and external relations in the field of education, the State University 'Uzhhorod National University' represented by the Rector, professor Volodymyr Smolanka, MD, PhD, DSc., and BGI Genomics Co., Ltd. represented by Yuan Liu, on the other hand, have signed a Memorandum of Collaboration dated on November, 2017.

The purpose of this Memorandum of Collaboration is a mutual intention to promote international cooperation in education, research and training, exchange of faculty members and students.

The signed Memorandum of Collaboration provides the establishment of contacts and cooperation in the field of education, research and training, based on principles of mutual and fruitful exchange of experience on each side.

The Parties intent to provide assistance to academic exchange of students as well as advanced professional training of academic staff in the implementation of joint educational programs.

To achieve the objective of this Memorandum of Collaboration, the Parties intent to:

- promote the exchange of internships/traineeships for undergraduate and graduate students, PhD, and academic staff;
- promote the exchange of young researchers and clinicians;
- promote the establishment of scientific cooperation in areas of mutual interest;
- exchange experiences of best practices in teaching and research;
- initiate actions to facilitate joint participation in the framework programs of the European Union;
- organize joint seminars and conferences.

Cooperation under the Memorandum of Cooperation will be funded on the basis of separate agreements between the parties, using financial instruments held by the parties or, if necessary, the resources of organizations and institutions participating in cooperation. The Parties intent to sign the Agreement to stipulate the specific terms and conditions accordingly.

Memorandum of Collaboration may be supplemented by additional agreements in writing signed by both parties.

Memorandum of Collaboration is only for the intent of cooperation of the Parties, and is not legally binding. This Memorandum of Collaboration shall enter into force upon signing up and shall be valid for five (5) years. Memorandum of Collaboration may be altered or prolonged by agreement of the Parties in writing.

This Memorandum of Collaboration has been drawn up in two copies in English, with equal validity, one for each of the Parties.

SU "Uzhhorod National University"

BGI Genomics Co., Ltd.



Professor Volodymyr Smolanka

46 Pidhirna St, 88000 Uzhhorod,
Transcarpathia, Ukraine
tel.: (03122) 3-33-41
fax: (03122) 3-42-02
e-mail: official@uzhnu.edu.ua

Yuan Liu

Building 7, BGI Park, No. 21 Hongan 3rd
Street, Yantian District, Shenzhen, 518083, China
tel.: +86-755-36307888
fax.: +86-755-36307273
e-mail: info@genomics.cn

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Медичний директор ТОВ «Закарпатська Ендоклініка»


Гойдаш Т.М.
2020



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозиції для впровадження: скринінг дефіциту вітаміну D у пацієнтів з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу

Установа, автори: ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет, кафедра факультетської терапії, 88000, м. Ужгород, вул. Грибоедова 10, Ганич Т.М., Щубелка Х.М..

Джерело інформації 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>.

Впроваджено в: приватний медичний центр, ТОВ «Закарпатська Ендоклініка»

Термін впровадження: січень 2020 – серпень 2020 р.

Кількість пацієнтів: 100

Ефективність впровадження: Використання клініко-діагностичного алгоритму показало його ефективність, яка відповідає критеріям, наведеним у джерелі інформації. Використання даних наукового дослідження дозволило покращити лікування дефіциту вітаміну D та оптимізувати його профілактику у амбулаторних хворих на цукровий діабет як 1-го, так і 2-го типу.

Висновки і пропозиції: рекомендувати до впровадження в приватних та державних амбулаторно-поліклінічних закладах України.

Відповідальний за впровадження:

Медичний директор ТОВ «Закарпатська Ендоклініка»

Гойдаш Т.М.


«25» серпня 2020 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар КНП "ЗАКАРПАТСЬКА ОБЛАСНА
КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ ІМЕНІ АНДРІЯ НОВАКА"
ЗАКАРПАТСЬКОЇ ОБЛАСНОЇ РАДИ

Яцина Ю.Ю.

_____ 2020

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозиції для впровадження: скринінг остеопорозу серед пацієнтів з цукровим діабетом 1-го та 2-го типу в стадії декомпенсації та субкомпенсації

Установа, автори: ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет, кафедра факультетської терапії, 88000, м. Ужгород, вул. Грибоедова 10, Ганич Т.М., Щубелка Х.М..

Джерело інформації: 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.

Впроваджено в: ендокринологічному відділенні КНП “ЗОКЛ ім. А. Новака”

Термін впровадження: липень 2019 – вересень 2020 р.

Кількість пацієнтів: 80

Ефективність впровадження: Використання клініко-діагностичного алгоритму показало його ефективність, яка відповідає критеріям, наведеним у джерелі інформації. Використання даних наукового дослідження дозволило покращити превенцію та оптимізувати лікувально-діагностичний алгоритм остеопорозу та остеопенії у госпіталізованих хворих на цукровий діабет як 1-го, так і 2-го типу.

Висновки і пропозиції: рекомендувати до впровадження в ендокринологічних відділеннях стаціонарних підрозділів України.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач ендокринологічного відділення

к.мед.н. Олексик Ольга Томівна

«08» 09 2020 р.