

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МЕРЗЛЯКОВА ДИНАРА РАФКАТОВНА

ФАКТОРЫ РИСКА И ПРОФИЛАКТИКА НАРУШЕНИЙ КОСТНОГО
МЕТАБОЛИЗМА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА, РОЖДЁННЫХ
ПОСЛЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

3.1.21. – Педиатрия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Дружинина Наталья Анатольевна

УФА–2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1 Факторы риска развития нарушений костного метаболизма у недоношенных детей.....	15
1.2 Патогенетические аспекты развития остеопении у недоношенных детей.....	21
1.3 Методы диагностики остеопении у детей	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1 Клиническая характеристика обследованных групп детей.....	37
2.2 Методы статистической обработки результатов.....	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
3.1 Анте- и перинатальные факторы риска остеопении недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ.....	57
3.2 Особенности заболеваемости недоношенных детей первых трех лет жизни (соматическая патология)	66
3.3 Анализ соматической патологии недоношенных детей первых первых трёх лет жизни.....	68
3.4 Взаимосвязь показателей фосфорно-кальциевого обмена, кальций-регулирующих гормонов, витамина D с остеопенией.....	79
3.5 Роль генетических факторов в нарушении костного метаболизма у недоношенных детей, в том числе, рождённых с применением метода экстракорпорального оплодотворения.....	88
3.6 Анализ состояния прочности костей по результатам скрининга ультразвуковой денситометрии у недоношенных детей.....	97
3.7 Особенности вскармливания недоношенных детей.....	99
ГЛАВА 4 Физическое и психомоторное развитие недоношенных детей с высоким риском остеопении при рождении и в возрасте трёх лет	
4.1 Анализ физического развития.....	102
4.2 Анализ психомоторного развития детей в зависимости от массы тела при рождении с использованием шкалы КАТ/КЛАМС.....	110

ГЛАВА 5. Алгоритм ранней диагностики нарушений костного метаболизма у недоношенных детей, рождённых методом ЭКО	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	123
ВЫВОДЫ.....	130
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	132
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	132
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	133
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	135
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	155

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Совершенствование технологий ведения беременных женщин, преждевременных родов и выхаживания новорождённых с высокими факторами риска, переход отечественного здравоохранения на международные критерии живорождения неуклонно ведут к увеличению числа выживших недоношенных детей с очень низкой массой тела (ОНМТ) и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) при рождении [55,75,129].

Критериями успеха современной перинатальной медицины является не только сохранение жизни недоношенного ребёнка, но и возможность его дальнейшего нормального развития, полноценное участие в общественной деятельности [75].

В настоящее время выживает всё большее количество недоношенных детей, в том числе с низкой и экстремально низкой массой при рождении, которым на протяжении длительного времени требуется специальное педиатрическое наблюдение, поскольку прогноз развития ребёнка длительно остаётся неизвестным, и сохраняется риск формирования неврологической патологии, болезней органов дыхания. Поиск эффективной системы медицинского сопровождения недоношенных детей, позволяющей своевременно выявлять и корректировать отклонения в состоянии здоровья, является одной из самых сложных задач современной педиатрии.

Сохраняющаяся устойчивая тенденция к росту патологии костно-мышечной системы среди детского населения России свидетельствует о несвоевременности выявления факторов риска и недостаточной эффективности существующих мер профилактики нарушений костного метаболизма недоношенных детей. В течение последнего десятилетия ни один другой микронутриент не вызывал столь значительный интерес специалистов различных областей здравоохранения и медико-биологических наук, как витамин D. Причинами мультидисциплинарного

интереса являются многочисленные системные биологические эффекты, оказываемые этим гормоноподобным соединением и его активными метаболитами на различные органы и ткани, в которых находятся рецепторы к витамину D [10].

Нарушение минерализации костной ткани плода происходит вследствие недостаточного поступления витамина D в антенатальный период [14], однако патогенез нарушений костного метаболизма у недоношенных детей не ограничивается дефицитом только витамина D. Неонатологи и педиатры все большее внимание уделяют проблемам изучения минерального обмена [33]. В связи с неуклонным ростом числа остеопении у недоношенных и остеопороза среди детей и подростков всё большее значение придаётся своевременному выявлению факторов риска патологии в возрастном аспекте, особенно в критические периоды роста, одним из которых являются первые три года жизни [24].

Сегодня очень важно как можно раньше обратить внимание на признаки и симптомы проявления остеопении. В данном случае речь идёт о недостаточном количестве в организме как детей, так и родителей основных веществ, витаминов и питательных элементов. Так как проблема достаточно серьёзная, её необходимо эффективно решать и предпринимать какие-либо способы и варианты профилактики [10,70.128]. Для детей организм мамы в самые первые месяцы является основным источником питательных веществ, средой для развития, но существует много факторов риска, которые приводят к достаточно серьёзным проблемам в развитии плода, и страдает, прежде всего, костная система [135].

Особый интерес представляет изучение остеопении недоношенных детей, рождённых с очень низкой массой тела (ОНМТ) и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), с учётом определения ряда полиморфизмов определённых генов, ассоциированных с развитием метаболической болезни костей или протектирующих её (VDR, COL1A1, ACTN3) [145]. Таким образом, исследование особенностей здоровья и развития недоношенных детей, сопровождающихся

нарушениями костного метаболизма, является актуальной задачей теоретической и практической медицины.

Степень разработанности темы исследования

В современное время недостаток и дефицит витамина D является предиктором возникновения риска ряда заболеваний [10,14]. Остеопения является важной проблемой, которой придаётся всё большее значение в развитии ребёнка. Практически все недоношенные дети, рождённые с массой тела <1500 г, имеют остеопению [55]. Запасы витамина D формируются с 24-й недели гестации, поэтому, чем меньше срок гестации, на котором произошли роды, тем выше риск и степень последующего развития дефицита кальция и фосфора, так как максимально обеспечить высокую скорость усвоения кальция и фосфора соответственно внутриутробной в неонатальном периоде у недоношенных детей практически невозможно [135].

Если дети с очень низким весом не получают с помощью материнского молока достаточное количество питательных, полезных для здоровья веществ, особенно в случае, если речь идёт о фосфоре, кальции (более шестидесяти процентов отсутствия нужного количества), тогда это приведёт к большим проблемам [55]. Механическая стимуляция необходима для формирования костей, которая обеспечивается двигательной активностью [75]. Курение матери, преэклампсии, дефицит поступления кальция с питанием оказывают негативное влияние на минерализацию костей плода и ребёнка в III триместре [62].

На частоту и тяжесть остеопении недоношенных влияют и генетические факторы. Выявлен ряд полиморфизмов определённых генов, ассоциированных с развитием метаболической болезни костей или протектирующих данную патологию [145], но нет исследований в отношении детей, родившихся с применением метода ЭКО. Нами были изучены гены рецептора витамина D (VDR, COL1A1, ACTN3 и MYH 7) у детей с ОНМТ и ЭНМТ, рождённых с применением метода ЭКО. В этой связи изучение ранней диагностики нарушений

костного метаболизма у детей с ОНМТ и ЭНМТ, родившихся с применением метода экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), является актуальным и представляет научную и практическую значимость.

Цель исследования

Определить факторы риска нарушений костного метаболизма у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), и разработать алгоритм ранней диагностики и профилактики выявленных нарушений в первые 3 года жизни.

Задачи исследования

1. Определить состояние здоровья и риск развития остеопении у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО, в первые 3 года жизни в зависимости от антенатальных факторов риска.

2. Определить взаимосвязь состояния здоровья матерей и риск развития остеопении у детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО.

3. Определить частоту полиморфизмов генов рецепторов витамина D: VDR, COL1A1, ACTN3 и MYH 7 у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, рождённых с применением метода ЭКО.

4. Определить характер и тяжесть нарушений минерального обмена по биохимическим маркерам в крови (уровню фосфорно-кальциевого обмена, кальцитонина, паратгормона, щелочной фосфатазы, С-концевых телопептидов коллагена I типа и витамина D) у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО, в первые 3 года жизни.

5. Определить состояние прочности костей по результатам скрининга ультразвуковой денситометрии у недоношенных детей, с ОНМТ и ЭНМТ, рождённых с применением метода ЭКО, в возрасте 3 лет.

6. Разработать прогностическую модель и алгоритм ранней диагностики нарушений костного метаболизма и дать рекомендации по коррекции выявленных нарушений.

Научная новизна

Выявлены антенатальные факторы риска матерей в нарушении костного метаболизма (остеопении) у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО: четвёртая беременность, ранний токсикоз, анемии, угроза прерывания и отёки во время беременности, хроническая фетоплацентарная недостаточность (ХФН), хроническая гипоксия плода (ХГП), гипертоническая болезнь и варикозная болезнь нижних конечностей; у матерей (ЭКО): возраст матери от 31 года и старше, курение во время беременности и работа с вредными условиями труда.

Впервые установлено, что у детей с ОНМТ и ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО), были снижены показатели С-концевых телопептидов коллагена I типа по сравнению с нормальным содержанием, особенно у детей, рождённых с ЭНМТ (ЭКО).

Было выявлено, что более ранняя неделя рождения, более низкая масса тела, длина тела, окружность головы и окружность груди при рождении и в 3, 6 месяцев скоррегированного возраста являются факторами риска развития недостаточности витамина D. Также было выявлено, что недостаточность витамина D ассоциирована с более поздним возрастом прорезывания зубов, ЭНМТ (против ОНМТ), проживание в городе (против проживания в селе), а также искусственным или смешанным вскармливанием (против грудного вскармливания).

По результатам ультразвуковой денситометрии выявлено, что у детей ЭКО (ОНМТ и ЭНМТ) снижение прочности кости ($SOS < 10\%$ и $> 3\%$) наблюдалось у 48,5% детей.

Впервые были изучены гены рецептора витамина D (VDR, COL1A1, ACTN3 и MYH 7) у детей с ОНМТ и ЭНМТ, рождённых с применением метода ЭКО, выявлено статистически значимое повышение частоты гомозиготного генотипа Т/Т и непротективного аллеля *Т полиморфного варианта rs1800012 гена COL1A1. Получены статистические различия в исследуемых группах по полиморфному варианту rs1544410 гена VDR. У недоношенных детей, рождённых методом ЭКО, значительно чаще встречается гомозиготный генотип В/В и непротективный аллель *В, которые характеризуют предрасположенность к нарушению развития костно-мышечной системы и ассоциируются с низкими показателями уровня витамина D в сыворотке крови детей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявленные факторы риска нарушений костного метаболизма у детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО, позволяют выделять группы риска среди детей первых 3-х лет жизни, прогнозировать развитие остеопении, нарушений роста, своевременно проводить подбор профилактических, реабилитационных мероприятий, направленных на предотвращение развития остеопении, включающих сбалансированное питание, адекватную физическую активность, массаж, гимнастику, отказ от курения матери во время беременности и работ с вредными условиями труда. Показано, что у недоношенных детей первого года жизни была выявлена максимальная частота дефицита и недостаточности витамина D, что связано с интенсивным ростом и набором массы тела в этот период. Для улучшения работы педиатра предложена модель и алгоритм прогнозирования нарушений костного метаболизма. Материалы диссертации послужат основой для разработки и внедрения оптимальных схем профилактики остеопении у недоношенных детей.

Методология и методы диссертационного исследования

Диссертационная работа выполнялась в три этапа. Проводилось обследование детей, родившихся с применением метода ЭКО, с очень низкой массой тела или экстремально низкой массой тела. Под нашим наблюдением находились 189 детей в возрасте от 3 месяцев скорректированного возраста до 3 лет.

На первом этапе был изучен социальный и биологический анамнез матерей детей после ЭКО и выделены факторы риска в формировании остеопении недоношенных детей. На втором этапе изучалось состояние здоровья детей с ОНМТ и ЭНМТ первых 3 лет жизни, родившихся после ЭКО. На третьем этапе проводилось исследование костного метаболизма у недоношенных детей (лабораторное и генетическое исследования), был разработан диагностическая модель прогнозирования риска формирования остеопении у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, рождённых с применением метода ЭКО и даны практические рекомендации по формированию групп риска с целью проведения ранних профилактических мероприятий. Исследовательская часть работы проводилась с помощью методов клинического обследования недоношенных детей, лабораторной и функциональной диагностики, анкетирования. Статистическая обработка результатов исследования была проведена с использованием современных программ.

Положения, выносимые на защиту

1. Факторами риска нарушений костного метаболизма у детей, рождённых с ОНМТ и ЭНМТ (ЭКО), являются: более ранняя неделя рождения, более низкая масса тела, длина тела, окружность головы и окружность груди при рождении и в 3, 6 месяцев скорректированного возраста, а также недостаточность витамина D ассоциирована с более поздним возрастом прорезывания зубов, ЭНМТ (против

ОНМТ), проживание в городе (против проживания в селе), а также искусственным или смешанным вскармливанием (против грудного вскармливания).

2. Формирование нарушений костного метаболизма у детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО, сопряжено с антенатальным неблагополучием, обусловленным экстрагенитальной патологией матерей, критическим возрастом деторождения, преждевременным появлением на свет, сочетанной соматической и неврологической патологией, дефицитом массы тела, сопровождающимися нарушениями роста и соматического здоровья.

3. Выявлено статистически значимое повышение частоты гомозиготного генотипа Т/Т и непротективного аллеля *Т полиморфного варианта rs1800012 гена COL1A1 в группе детей (ОНМТ и ЭНМТ), рождённых с применением метода ЭКО (у 54% детей). Получены статистические различия в исследуемых группах по полиморфному варианту rs1544410 гена VDR. В основной группе значительно чаще встречается гомозиготный генотип В/В и непротективный аллель *В, которые влияют на гармоничное развитие костно-мышечной системы ребёнка.

4. По биохимическим маркерам в крови у детей, рождённых с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО), к году скорректированного возраста снижены показатели витамина D, кальция, кальцитонина, а содержания паратгормона выше, чем у недоношенных детей с ОНМТ и ОНМТ (ЭКО). В группе детей с ЭНМТ (ЭКО) С-концевые телопептиды коллагена I типа значимо ниже, чем у детей с ЭНМТ, ОНМТ и ОНМТ (ЭКО), что указывает у них на более высокий риск развития остеопении.

5. У детей с ОНМТ и ЭНМТ, рождённых с применением метода ЭКО, выявлено снижение прочности кости ($SOS < 10\%$ и $> 3\%$) у 48,5% детей, что оказалось статистически значимым и доказало наличие нарушений развития костно – мышечной системы.

6. Диагностическая модель и алгоритм прогнозирования риска формирования остеопении у детей с ОНМТ и ЭНМТ, рождённых методом ЭКО, позволит проводить на раннем этапе персонализированные профилактические мероприятия.

Степень достоверности

Достаточный объём клинических наблюдений и проведённых исследований, обоснованность и достоверность научных положений определяется современными информативными методами исследования, статистической достоверностью полученных результатов. Собственные клинические наблюдения, адекватная статистическая обработка результатов исследований в достаточной мере обосновывают выводы и рекомендации, вытекающие из полученных результатов исследования.

Диссертация отличается от других работ качественным результатом активной самостоятельной деятельности ее автора. В центре внимания актуальность, разработка цели и задач в процессе проведения исследований.

Апробация результатов

Основные положения доложены и обсуждены на VI Общероссийской конференции с международным участием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (Санкт-Петербург, 2020); на научно-практической конференции «Актуальные вопросы педиатрии и неонатологии» (Астрахань, 2020); на научно-практической конференции «Актуальные вопросы педиатрии и неонатологии» (Волгоград, 2021), на научно-практической онлайн-школе «Управление рисками в здоровье детей» (Уфа, 2021).

Экспертиза диссертации была проведена на межкафедральном заседании кафедр госпитальной педиатрии, педиатрии с курсом ИДПО, поликлинической и неотложной педиатрии с курсом ИДПО, факультетской педиатрии с курсами педиатрии, неонатологии и симуляционным центром ИДПО, детской хирургии с физической и медицинской реабилитацией детей с курсом ИДПО совместно с Проблемной комиссией «Особенности детского организма в норме и при патологии» ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол № 2 от 16.06.2022г).

Внедрение результатов исследования

Материалы диссертации используются в работе отделения патологии новорождённых и недоношенных детей, кабинета катамнеза государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Республиканская детская клиническая больница» г. Уфы, а также в учебном процессе на кафедре педиатрии с курсом ИДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад автора

Диссертация – это результат самостоятельной работы автора. Автором обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, лично выполнены все исследования, самостоятельно проведены статистическая обработка и анализ полученных данных, сформулированы выводы и разработаны практические рекомендации, проведён анализ отечественных и зарубежных литературных источников, подготовлены публикации и написан текст диссертационной работы. Доля личного участия автора в совместных публикациях составляет 90%.

Соответствие Паспорту (формуле) специальности

Диссертационное исследование проведено в соответствии с формулой специальности 3.1.21. Педиатрия. Медицинские науки, охватывающей проблемы изучения здоровья ребёнка в процессе его развития, физиологии и патологии детского возраста, а также разработки методов диагностики, профилактики и лечения детских болезней (п. 1, 3 области исследований).

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 13 статей, из них 4 – в рецензируемых журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки РФ для публикации основных материалов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата медицинских наук и 1 статья в журнале, входящем в МБД Scopus. Также разработаны методические рекомендации для врачей–педиатров. Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2022684621 от 15.12.2022 года «Риск остеопении у детей» на основании заявки №2022665232 от 10.08.2022 года.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя из 191 источника, включающего 88 отечественных и 103 зарубежных источников. Работа представлена на 156 листах машинописного текста, иллюстрирована 33 таблицами и 32 рисунком.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Факторы риска развития нарушений костного метаболизма у недоношенных детей

Термины метаболическая болезнь костей (МБК), нарушения костного метаболизма, остеопения используются взаимозаменяемо для обозначения снижения минеральной плотности костной ткани (МПКТ) у недоношенных новорождённых. Несмотря на отсутствие консенсуса по поводу определения, МБК представляет собой значительное уменьшение в костной ткани недоношенного ребёнка содержания минералов с сопутствующими клиническими, биохимическими и/или рентгенологическими изменениями [177]. В результате отсутствия единого определения, а также критериев диагностики заболеваемость сильно варьирует, тем не менее, большинство специалистов считают, что риск развития этого патологического состояния обратно пропорционален гестационному возрасту и массе тела при рождении и составляет от 23% до 60% у новорождённых, чей вес меньше, чем 1500 граммов [55].

Таким образом, МБК (остеопения) – патологическое состояние, которое чаще выявляется у преждевременно родившихся новорождённых с массой тела при рождении менее 1500 г, характеризуется не только недостаточностью витамина D, но и нехваткой кальция и фосфора [11,71,87,105,145].

Необходимо обратить внимание на основные причины, которые связаны с развитием одной из патологий, получившей название остеопения у ребёнка. Речь идёт о факте отсутствия необходимого количества поступающих в организм малыша питательных веществ, а также фосфора, кальция. Также есть ещё несколько факторов, которые приводят к патологии и её быстрому развитию:

- внутриутробная гипотрофия или задержка внутриутробного развития (ЗВУР);
- низкая масса тела при рождении (менее 1500 г);
- перенесённая гипоксия/асфиксия;
- эндогенный дефицит минеральных веществ при рождении;

- недостаточное поступление витамина D при оральном/энтеральном/парентеральном питании;
- экзогенный дефицит кальция (Ca), фосфора, магния и меди, поступающих в организм алиментарным путём;
- незрелость Ca-регулирующих систем;
- неадекватная инсоляция;
- почечная недостаточность и др.

В отношении нехватки необходимого витамина D: дети, которые родились раньше срока, отличаются высокой незрелостью. В целом, стоит уточнить, что количество данного витамина у мамы влияет на особенности развития малыша. У многих женщин в период вынашивания ребенка отмечается недостаток рассматриваемого витамина. Такое состояние отмечается и у малыша, особенно в самом начале его развития [70,110,114,143,148,162,188]. Показатель указанного выше витамина D, находящегося непосредственно в пуповинной крови, тесно связан с его показателем в сыворотке крови матери, который составляет около семидесяти процентов [143]. Как показывают проверенные данные, если в третьем триместре беременная женщина курит, то это оказывает влияние на формирование костей у малыша [124,143].

Процессы деминерализации костей начинаются у ребёнка с самого момента его появления на свет и могут продолжаться до восьми и более недель. Что касается особенностей недоношенного ребёнка, то в данном случае стоит отметить невысокий показатель минерализации костей, который отмечается в возрасте до сорока недель [116,124]. Если в этот начальный период развития ребёнок не получает необходимое количество фосфора и кальция, то это отрицательно влияет на рост костей. Без данных веществ невозможно представить полноценное развитие маленького ребёнка [109,124,154]. Здесь важную роль играет правильный и профессиональный подход к процессу кормления таких детей: питание должно быть богато кальцием и фосфором. Если питание окажется нерациональным, то у младенца в скором времени возникнут осложнения, связанные с переломами костей, появлением остеопороза [128,180,182,187].

Не только питание, но и двигательная активность оказывает большое влияние на процесс укрепления костей. Рост костей замедляется в том случае, если отмечается снижение активности у больного ребёнка, ряд неврологических проблем. Все это отрицательно сказывается на общем развитии детей. Для повышения физической активности ребёнка стоит ввести комплекс упражнений для ребенка продолжительностью около десяти минут в день. Это влияет на формирование костей у ребёнка, что показывают данные проводимого анализа и изучения данной темы [125]. Но вместе с тем стоит быть внимательным в применении и поиске различных специальных, продолжительных программ по активному развитию [157]. Нужно учитывать ещё один важный момент: существует большое количество средств, которые применяют для лечения особых острых состояний у младенцев, но они, в свою очередь, влияют на формирование и укрепление костной ткани. В качестве примера можно назвать гепарин, фуросемид, которые приводят к нарушению образования кальция в организме маленького ребёнка. Именно по этой причине с применением специальных препаратов важно быть аккуратным [55].

В случае, если в организме происходит нарушение поступления витамина D и кальция вследствие холестаза и синдрома короткой кишки, то это приводит к развитию остеопении [125]. Многое зависит от почечной недостаточности, проявленной в хронической форме [90,124].

Стоит обратить внимание на генетические аспекты развития остеопении у недоношенного ребёнка. Указаны некоторые полиморфизмы генов, ассоциированных с развитием метаболической болезни костей (ERa) или протектирующих её (VDR, COLIA1) [65,145]. У детей, как и у взрослых, наблюдаются нарушения костного метаболизма с различными изменениями, патологиями [102,145].

Стоит обратить особое внимание на взаимосвязи некоторых данных МПКТ у людей, которые имеют родственные кровные связи. Здесь в качестве примера можно привести маму и дочь или братьев-близнецов. Было отмечено, что от пятидесяти и до восьмидесяти процентов отмеченного МПКТ связано как раз с

генетикой, данными факторами развития [151,155]. Что касается больших геномных исследований: в них выявлено больше шестидесяти локусов (мест), которые ассоциируются с данными МПКТ. Это говорит исключительно о полигенности данной обусловленности [96]. Выбранные конкретные гены имеют некоторую связь с основными периодами развития костей [145]. Можно обратить внимание на основной предмет, находящийся в центре обсуждения – это некоторые последствия болезни костей у недоношенного ребенка, которые не в полной мере на сегодняшний день исследованы [56,110].

Есть большое количество детей, которые появились с помощью вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Например, сегодня многие люди часто обращаются к ЭКО и другим не менее популярным и актуальным способам рождения младенцев. Выбор зависит только от желания самих родителей [2,69,101,143]. Сегодня, действительно, интересен вопрос, связанный с появлением ребёнка с ВРТ [20,22,23,50,51,52], но данные, которые были получены, отличаются противоречивым характером. Этот момент необходимо учитывать и принимать во внимание [5,81]. Есть точка зрения, что в данном случае при применении ВРТ есть большой, достаточно высокий риск разного рода выявленных осложнений, пороков и так далее [164]. Но также представлено большое количество работ и исследований, которые не подтверждают данную гипотезу [67,78,149]. Даже в настоящее время нет полной и подробной информации о влиянии на организм будущего ребёнка всевозможных факторов, связанных с ВРТ [80,82,84,85].

В двадцатом веке, если не было криоконсервации эмбриона, то в матку были перенесены эмбрионы для того, чтобы повысилась вероятность забеременеть в скором времени. Именно по этой причине повышался шанс и возможность зачать и родить несколько детей [10,132], но сегодня стоит отметить способ перенесения только единственного эмбриона. Но в то же время при применении ВРТ появляется вероятность того, что ребёнок родится мёртвым.

Если у женщины наблюдаются некоторые существенные нарушения в деторождении, то есть много рисков в процессе вынашивания младенца, то в

данном случае сложно говорить о том, что играет значительную роль. Возможно речь идет о возрастных особенностях или о том, в каком состоянии находится в данный момент организм женщины [4]. Всегда нужно понимать большую разницу между различными существующими понятиями, к которым относится, например, факт выявленной задержки развития плода в утробе матери [78].

Нельзя исключать влияние ВРТ на частоту нарушения костного метаболизма у новорождённых, учитывая важное значение состояния здоровья матери и течения беременности в развитии остеопении, высокий процент преждевременных родов, однако в доступной литературе таких исследований, практически, нет.

Существует огромное количество всевозможных исследований, в которых достаточно подробно изучаются особенности развития ребёнка, который появился с помощью ВРТ [26,27,28,29,30,31]. Но самое главное, во многих источниках нет подробной и подтверждённой информации, которая касается отличий детей, рождённых благодаря ВРТ, от детей, зачатых естественным путём [141]. Необходимо вместе с тем упомянуть следующий момент. Дело в том, что есть некоторая информация о том, что ребёнок после ЭКО отстаёт в процессе развития. Например, многие авторы, исследователи внимательно следили за тем, как же именно развиваются разные дети. В центре внимания оказались дети в возрасте около года и три года. Таким образом, можно было сделать следующие выводы. Оказалось, что во время наблюдения за разными детьми, нормальное развитие у детей, рождённых благодаря ЭКО, было не таким заметным и явным [37]. Но самое интересное то, что были рассмотрены дети, которые появились как после первой попытки ЭКО, так и после многочисленных попыток, и уровень развития у них был разным [76,77].

В настоящее время существует много достаточно спорных моментов, которые имеют отношения к риску патологий и пороков после проведения ВРТ: влияют ли основные причины, связанные с такой проблемой как бесплодие на проявления различных заболеваний [41]. Стоит уточнить, что во многих официальных источниках по данному вопросу есть данные о достаточно высоких

рисках, связанных с появлением негативных факторов о невозможности до конца срока выносить здорового малыша. Наблюдается следующий момент, который состоит в том, что не до конца изучен и рассмотрен момент проявления пороков при развитии ребёнка. Стоит обратить внимание на использование других способов рождения детей [5,79,81]. Сведения в отношении отклонений и высоких показателей риска развития патологии, проявления онкологии, разных нарушений в неврологическом плане у ребёнка считаются далеко не однозначными. Необходимо обратить внимание на некоторые факторы, которые оказывают прямое влияние на особенности здоровья того ребёнка, который был рождён с помощью ВРТ. Здесь многое связано и зависит от того, какой у родителей возраст, почему они оказались бесплодными, есть ли генетические патологии. Таким образом, можно сделать вывод, что важен и актуален каждый момент, каждая деталь.

Невозможно даже в современное время отрицать негативное влияние на ребёнка популярных методов, в частности ВРТ [51,76]. Кроме того, важно обратить внимание на питание матери. Также играют огромную роль условия проведения ВРТ. Каждая деталь в тот момент имеет важное значение для развития плода [35,74]. Тот ребёнок, который зачат благодаря возможности переноса эмбриона в замороженном состоянии, отличается большим весом. Это значимый показатель, который отличает их от других малышей [67,115,168,169], по этой причине можно прийти к выводу, что процесс по замораживанию эмбриона в этом случае воздействовал на состояние младенца [69].

Имеется множество исследований о влиянии ВРТ на состояние здоровья ребёнка [53,66,126,142,158]. Показатель пластичности развития детей влияет на дальнейшее развитие. Получены доказательства, которые говорят о том, что есть определенные трудности в выборе правильного подхода к определению возможностей развития детей с ВРТ [67,146].

Потребуется провести полноценное исследование, которое бы дало возможность понять влияние бесплодия, разных факторов, особенностей протекания родов.

1.2 Патогенетические аспекты развития остеопении у недоношенных детей

Клиническая картина остеопении недоношенных зависит от степени потери МПКТ. МБК может протекать бессимптомно или проявляться тяжёлыми патологическими изменениями костной системы вплоть до переломов. Таким образом, раннее выявление МБК и её проявления – остеопении представляет собой важный шаг в профилактике и лечении этого заболевания, в патогенезе которого участвуют многие факторы. Исследования, проведенные в 246 отделениях интенсивной терапии новорождённых, показали, что гестационный возраст 28–36 недель и менее был наиболее широко используемым показателем для начала скрининга МБК. Частое использование петлевых диуретиков, кормление исключительно грудным молоком, питание матери в течение более 14 дней также использовались многими врачами в качестве пороговых значений для скрининга [145]. Тем не менее, это исследование было ограничено отделениями интенсивной терапии в соответствии с определениями Американской академии педиатрии. Другое исследование, в котором участвовали отделения интенсивной терапии всех уровней в США, пришло к выводу, что в качестве пороговых значений для скрининга обычно следует использовать массу тела при рождении ниже 1500 г и питание матери в течение более 4 недель, а не 2 недель [145].

В формировании остеопении недоношенных важную роль играют особенности фосфорно–кальциевого обмена. Большинство питательных веществ накапливается в организме плода равномерно в зависимости от гестационного возраста: чем он больше у новорождённого, тем выше концентрация минералов в крови. В отличие от этого создание запасов кальция и фосфора начинается с 33–34-й недели беременности и происходит быстрыми темпами (по экспотенциальной зависимости).

С момента рождения человека его скелет развивался с помощью некоторого количества запаса нутриентов. Всё это сопровождается снижением показателя плотности костей. Но когда речь идет о невысокой минерализации, то рост связан

с различными сложностями в развитии. У недоношенных детей, особенно в самые первые дни, недели, наблюдается незрелая система пищеварения, что уменьшает нормальный, правильный процесс поступления в организм различных минеральных веществ. Именно по этой причине восстановительные возможности обмена веществ (кальций, фосфор) затянуты во времени. Дело всё в том, что как фосфор, так и кальций играют большую роль в развитии костей, без которых невозможно представить развитие ребёнка. Регуляторами обмена кальция и фосфора являются паратгормон, кальцитриол, кальцитонин, паратиреоидный гормон, связанный пептид, гормон роста, инсулиноподобные факторы роста, тиреоидные гормоны, эстрогены, андрогены, кортикостероиды, витамины А и С, цитокины [93,135].

Далее стоит обратить внимание на процесс, который получил название остеопения недоношенного младенца, при котором нарушается рост костей из-за того, что нет нужного количества кальция и фосфора. Остеопения выражается в медленном росте ребёнка, также постоянно наблюдаются дыхательные расстройства. Но и это ещё далеко не все проблемы, которые проявляются у детей. Например, речь идет о патологических переломах костей. Для того, чтобы диагностировать болезнь, необходимо проведение рентгенографии и остеоденситометрии, биохимических анализов крови и мочи. На основании полученных данных врач может сделать соответствующие выводы и назначить конкретное лечение. В первую очередь в такой ситуации потребуется обратить внимание на некоторые существенные изменения в процессе кормления младенца, при которых он будет получать нужное количество фосфора, кальция и витамина D для развития организма [55].

Что касается остеопении у недоношенного ребёнка, то этот процесс имеет прямое отношения к изменениям костной ткани. Те младенцы, которые были рождены на тридцать второй неделе, имеют примерно в 20% случаев патологические нарушения. Стоит уточнить, что ребёнок, который родился с весом меньше полутора килограммов, имеет признаки повреждения костей. В настоящее время остеопения активно изучается [92,93,97,145,148,160].

Изменения в метаболизме отмечаются с самого рождения ребёнка. Но некоторые особенности проявляются только на шестой неделе или даже немного позже. Как выражается остеопения? Прежде всего, она протекает без симптомов, также можно отметить некоторые характерные особенности в отношении развития ребёнка в физическом плане, что типично для преждевременно рождённых детей [55].

Начальные особенности выявления остеопении недоношенного ребёнка проявляются некоторыми изменениями: респираторными нарушениями (кряхтящее или стонущее дыхание, одышка, необходимость длительной кислородной поддержки), что связано со слабостью каркаса грудной клетки, снижением объёма лёгких на вдохе. Для того, чтобы поставить правильный диагноз, потребуется профессиональный врачебный осмотр.

Достаточно долгое время проявления нехватки минералов отражается на позднем проявлении серьёзных признаков остеопении: рост у таких детей в течение длительного времени не увеличивается так, как это должно быть в норме. Но и это ещё далеко не все основные особенности. Мышечная сила также снижена, замедленное развитие моторных навыков, костная ткань отличается мягкостью, голова формируется неправильной формы. У новорождённого отмечается большое число хрящей, богатая сосудистая сеть в областях шейки кости, надкостница отличается значительной толщиной [55,145]. После рождения костная ткань растёт быстро, меняется особенность её структуры [39,135].

Глубоко недоношенные дети при рождении подвержены риску развития остеопении недоношенных. Основным этиологическим фактором является дефицит субстрата для построения костной ткани, особенно кальция и фосфора. Иммобилизация также может способствовать развитию остеопении [138,146].

Остеопения у недоношенных детей приводит к нарушению минерализации кости, в результате скорость роста и развитие костной системы могут быть нарушены. Хотя снижение минерализации кости явно связано с множественными деформациями скелета, такими, как искривление ног, сколиоз и вмятины черепа, в

тяжёлых случаях переломы; распространённость таких деформаций у недоношенных детей с остеопенией до сих пор не изучена.

В современное время у детей недостаток и дефицит витамина D является предиктором возникновения риска ряда заболеваний [8,10,14,16,46,59,99,89,123,134,173]. Показатели витамина D у матери влияют на состояние плода и получение им данного витамина в нужном количестве. Показатель 25(OH)D, выявленный непосредственно в крови пуповины, находится в пределах от 50% до 80% от показателей его матери. Если у беременной женщины наблюдается недостаточное количество поступающего и имеющегося витамина D, то у младенца в первое время наблюдается такая же ситуация с его недостаточным количеством [25,27,59,110,114,143,147,162,188].

Как показывают результаты проводимых исследований, недостаточное количество витамина с концентрацией 25(OH)D в крови меньше, чем 10 нг/мл обнаружено приблизительно у пятнадцати процентов младенцев в Дании. Это один из немногих примеров, на который стоит обратить внимание для сравнения показателей [24,33,135,144,145]. В том случае, если будущая мать постоянно принимала необходимое количество витамина D, у новорождённого отмечается значительное улучшение витамин D-статуса [60,61,62,63,64].

В настоящее время не существует конкретной, однозначной точки зрения для того, чтобы понять, что значит правильное количество 25(OH)D в крови у младенцев. Этот вопрос является постоянно обсуждаемым и даже в некоторых ситуациях спорным [10,14,25,70,73]. Иногда данные показатели и результаты сравниваются с данными, полученными у взрослого человека [147,162].

Как показывают данные проведенной работы в Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова большое количество новорождённых появляется с нехваткой необходимого количества витамина D независимо от гестационного возраста. Показатели 25(OH)D в самые первые дни, недели жизни не составили и 20 нг/мл, а у 1/3 детей – ниже 10 нг/мл. Что касается детей, которые оказались глубоко недоношенными, то при

проведении профессиональной диагностики был определен невысокий показатель витамина D, особенно в зимний период времени (8,1 нг/мл) [9].

Главный фактор риска проявления недостаточного количества рассматриваемого витамина у младенца - это недостаточное содержание витамина D у матери. Также к другим факторам риска можно отнести достаточно долгий период парентерального питания, лечение барбитуратами, синдромы холестаза и мальабсорбции [9].

Необходимо обратить внимание на некоторые характеристики метаболизма витамина D у ребёнка в утробе матери, а также у недоношенного ребёнка. Стоит заметить, что данные особенности не в полной мере сегодня исследованы. Известно, что витамин D поступает через плаценту в такой форме, как 25(OH)D, после чего происходит процесс метаболизма, протекающий в почках младенца. Это отмечается на двадцать четвертой неделе [162,188]. На неонатальном этапе проводится дотация витамина, и это приводит к значительному, существенному увеличению показателей 25(OH)D в крови детей. Здесь нет никакой разницы между доношенным ребёнком и недоношенным [162,175,188]. Но стоит уточнить, что полностью сравнивать метаболизм представленного витамина у детей (преимущественно недоношенных) с более взрослыми детьми нельзя. Дело всё в том, что здесь отмечаются конкретные характерные отличительные способы обмена веществ, отличия, связанные с усвоением витамина D, например, у маленького недоношенного ребёнка нет достаточной конвертации витамина D в форму 1,25(OH)₂D₃, так как экспрессия 24 гидроксилазы CYP24A1 находится в незрелом состоянии [7,182].

Что касается недостатка витамина D, то у младенцев он практически не выявлен и не отмечен, если речь идет о клинических проявлениях. Стоит обратить внимание на признак гипокальциемии, она отмечается у ребёнка, который появился у матери с невысоким содержанием витамина D. Именно серьёзный недостаток витамина D у ребёнка становится основной причиной симптоматической гипокальциемии, а также проявления гипокальциемических судорог у новорождённого [108,110,117,162]. В некоторых странах есть примеры

врождённого рахита с существенным количеством дефицита витамина D. Рахит выявляется уже в самые первые дни жизни младенца. Здесь отмечаются некоторые признаки остеопении, рахитичные изменения костей, краниотабес, гипокальциемия. Таким образом, ребёнок сталкивается с большим количеством патологических изменений и проявлений остеопении, что связано непосредственно с отсутствием достаточного количества витамина [108,111,122,179]. Ребёнку при рождении требуется необходимое количество дополнительных питательных веществ, в которых он постоянно и остро нуждается. Если речь идет об энтеральном питании, то витамин D потребуется принимать внутрь [48,49,54,58].

Что касается питательного и необходимого грудного молока, то здесь находится незначительное содержание рекомендованного витамина D, всего от 10 до 80 ЕД в 1 л. Наличие витамина в молоке всегда тесно связано с тем, насколько часто она находится на солнце. Если мать дополнительно принимает препараты с содержанием этого витамина, тогда его количество в организме существенно возрастает [9,114,117]. Если говорить о специальной смеси для ребёнка (доношенного), то здесь в несколько раз количество витамина больше, чем в материнском молоке и достигает показателя порядка пятисот единиц на литр, но и этого не хватает для ребёнка в первое время его развития.

Актуальными исследованиями выявлено, что каждый доношенный ребёнок должен непременно получать профилактическую дотацию витамина D после нескольких суток после рождения. Дозировка в этом случае составит четыреста единиц в сутки [110,122,153,156]. Так как официальные препараты данного витамина в стране содержат в одной капле (дозе) приблизительно пятьсот суточных единиц, то рекомендуется давать детям по одной капле. Что касается лечебной дозировки, то она составит две капли витамина, то есть тысячу единиц в сутки [110,153]. В настоящее время нет строгих рекомендаций по употреблению витамина при проявлении врождённого рахита. Есть только информация о некоторых специальных методах применительно к лечению с использованием препаратов кальция и витамина D в дозировке 1600 до 6000 ЕД/сут. [9,150].

Необходимо обратить внимание на то, что при энтеральном питании необходимость в поступлении витамина D у недоношенного ребёнка в первое время составит до одной тысячи единиц в сутки, что зависит от особенностей витамина D [162,175]. Опытные профессионалы, исследователи данной темы (нутрициологи и детские гастроэнтерологи европейского сообщества) рекомендуют уровень витамина D 800–1000 ЕД в сутки для недоношенного ребёнка в первые месяцы жизни для того, чтобы быстро скорректировать сниженный фетальный уровень витамина D. В данном случае речь идет о ребёнке с массой тела до 1800 г [127,175]. Стоит уточнить, что небольшое количество потребности в нём удовлетворяется благодаря необходимым продуктам питания для недоношенного ребёнка. После выписки из стационара нет конкретных сведений, говорящих о повышенной потребности в витамине у недоношенного ребёнка в сравнении с доношенными детьми [175].

В процессе кормления недоношенного ребёнка, у которого вес составляет меньше одного килограмма пятьсот граммов, важно использовать молоко матери и небольшое рекомендованное количество специальных веществ – обогатителей грудного молока (ОГМ). Всё это гарантирует наличие примерно 160 ЕД витамина D в ста миллилитрах [87]. Также есть стартовая молочная смесь для недоношенного ребёнка с содержанием 120–150 ЕД витамина D в ста миллилитрах [87]. При применении указанных выше продуктов количество поступающего с питанием витамина D находится в пределах от 96–144 ЕД/сут. для ребёнка с массой тела 500 г до 346–518 ЕД/сут для недоношенного с массой тела 1800 г.

Можно сделать вывод, что большому числу недоношенных детей, которые получают оптимальное питание, потребуются дополнительные пятьсот единиц витамина D для обеспечения общей суточной потребности в пределах 400–1000 ЕД [33,34].

Необходимо знать, что вводить витамин D нужно только после того, как получены данные в том, что недоношенный ребёнок его хорошо перенесёт с энтеральным питанием. Если ребёнок был рождён с весом меньше полутора

килограмм, то ему стоит давать витамин тогда, когда показатели энтерального питания за сутки установятся на данных 100 мл/кг [171,175]. В случаях дефицита витамина 25(OH) D в крови менее 20 нг/мл доза дотации витамина D у недоношенного ребёнка может быть увеличена до 1000 ЕД/сут. Каждый конкретный случай рассматривается индивидуально для того, чтобы не навредить младенцу [15,16,18,21].

В основном, у тех детей, которые были глубоко недоношенные, и масса которых при рождении была менее одного килограмма, а также у детей, получающих длительное парентеральное питание, как правило, может с большой вероятностью появиться метаболическое заболевание костей. И эта болезнь в основном отмечается в первые месяцы после рождения. Это связывается с недостаточным количеством кальция, а также фосфора. При этом не рекомендуется назначать витамин D в этот период в дозировке, превышающей тысячу единиц в сутки. При проявлении остеопении недоношенных потребуется определить уровень 25(OH) D в крови [90].

Большое внимание стоит уделить синдрому холестаза у недоношенного младенца: в такой ситуации уменьшается всасывание витамина в кишечнике. Как показывают полученные исследования, ребёнок с выявленным выше синдромом, с парентеральным питанием имеет в 2 раза ниже данные 25(OH) D в крови. Поэтому дозировка витамина в этом случае может быть увеличена до 800–5000 ЕД/сут. [99,120]. Во время полного парентерального питания обычная дозировка витамина D находится в пределах четырехсот единиц в сутки, если ребёнок весит больше двух с половиной килограммов. При массе менее двух с половиной килограммов данный показатель составит менее двухсот единиц в сутки [125].

Если недоношенный ребёнок родился уже после тридцать первой недели гестации, то нет необходимости определять уровень 25(OH) D. Данными для определения уровня 25(OH) D будут являться признаки врождённого рахита, метаболической болезни костей. Также определение данного показателя нужно недоношенному ребёнку, у которого существует риск дефицита витамина D, или тем детям, которые получают завышенную дозировку данного витамина (в

сравнении с профилактической нормой) [110,111,122,147]. Если речь идет о недоношенном ребёнке, и у него вес во время рождения меньше одного килограмма, то рекомендуется проводить мониторинг уровня витамина D в крови [11,147,175]. Если у младенца отмечается персистирующий холестаза больше десяти дней, то нужно в срочном порядке провести мониторинг уровня жирорастворимых витаминов, чтобы назначить в дальнейшем правильное лечение.

Выделенный ген рецептора витамина подвергся исследованию, как важный фактор, влияющий на развитие остеопороза [151]. Во время изучения близнецов отметили присутствие ассоциации между данными минеральной плотности костей и 29 полиморфизмом VDR у женщин с хорошим здоровьем. Отмеченный рецептор витамина группы D является важным для реализации значительного числа биоэффектов данного витамина [145,146]. Что касается гена VDR, то здесь есть большое количество однонуклеотидных замен, которые связаны с состоянием самого рецептора. Когда речь идет о необходимой минерализации костей, то необходимо упомянуть о полиморфных генотипах гена VDR. Как показывают исследования, темпы накопления минералов в кости при развитии ребёнка связаны с полиморфизмами в гене VDR [145].

Сегодня можно обратить внимание на огромное количество работ, касающихся такого понятия, как полиморфизм гена VDR, который является вероятным фактором риска, связанным с такой характеристикой, как предрасположенность к некоторым различным заболеваниям (инфекционные или неинфекционные [98,106,116,140,172,173,177]. Существует еще одна полиморфная область, находящаяся в стартовом кодоне, это небольшой рестрикционный фрагмент, так называемый элемент FokI (rs 10735810) [145]. Необходимо уточнить следующий момент, что полиморфизмы рецептора витамина D были исследованы, подробно изучены в качестве возможных факторов, оказывающих большое влияние на развитие некоторых аутоиммунных болезней [96,101,112,119,130,140,163,166,172,181,189]. В данном случае стоит обратить внимание на конкретные примеры заболеваний, к которым относятся

рассеянный склероз [95], тиреоидит аутоиммунный [159], ревматоидный артрит [170,185], воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) [99,160], сахарный диабет первого типа [106]. Но и это еще далеко не все основные моменты, на которые рекомендуется обратить внимание во время исследования и изучения поставленного вопроса. Отмечается роль полиморфизмов генов VDR при астме [97,185], туберкулезе и ВИЧ-инфекции [183,184,186]. Теперь можно установить, что особенности и характер протекания и наблюдения за экспрессией VDR в клетках иммунной системы считается фактором, который может быть связан с различными болезнями, как инфекционными, так и неинфекционными [139,150,171,175,179,181,189]. Существует еще один значимый ген, который изучается при анализе данных МПКТ. В данном случае речь идет о гене альфа 1 цепи коллагена I типа (COL1A1).

Сама по себе рассматриваемая костная ткань состоит как из необходимых минералов, так и из органических соединений. Отмеченная выше органическая часть представлена клетками костной ткани, белками и так далее. Коллаген первого типа оказывается в данном случае основным и определяющим белком, относящимся к костной ткани [135,145]. Гетеротример - это и есть тот самый коллаген первого типа, состоящий главным образом из альфа1 и альфа2 протеинов. Они способны кодироваться отдельными представленными генами под названием COL1A1 и COL1A2. Теперь необходимо понять, как данные гены способны оказывать влияние непосредственно на кость. В центре внимания болезнь под названием несовершенный остеогенез. Здесь отмечаются следующие показатели: приблизительно девяносто процентов пациентов страдают мутациями, происходящими в генах, связанных с альфа 1 и 2 цепи коллагена первого типа. Именно по этой причине в дальнейшем проявляется невысокая плотность кости (минеральная), поэтому наблюдаются многочисленные патологические переломы. Когда минеральная плотность костей снижается, то повышается вероятность перелома. Со снижением минеральной плотности кости и повышенным риском переломов связаны не только мутации, но и генетические полиморфизмы COL1A1 [135].

Обладатели отдельного генотипа под названием Ss (GT) обладают небольшим количеством неорганического компонента, и в то же время у них отмечается значительное количество органического компонента. Именно такая особенность влияет на прочность костей.

Таким образом, можно сделать вывод, что те люди, у которых есть описываемый выше генотип GT (Ss) отличаются невысокой минерализацией, если сравнить их с носителями другого генотипа, получившего название GG (SS) Sp1 COL1A1. Именно по этой причине наличие того или иного представленного генотипа оказывает значительное влияние на такой показатель, как высокая или низкая прочность костной ткани [135,145].

1.3 Методы диагностики остеопении у детей

Патогенез остеопении влияет на выбор основных способов проведения современной диагностики, связанной с выявленными нарушениями непосредственно в костных тканях. Речь идет о конкретных биопоказателях. Их уровень имеет отношение к костному метаболизму. Речь идет о витамине D, кальции, кальцидоле, остеокальцине, костной щелочной фосфатазе.

Благодаря специальным биохимическим маркерам можно определить некоторые важные параметры и признаки развития:

- возможность отметить и обнаружить существенное уменьшение массы костной ткани (это важно для оценки риска переломов, степени влияния факторов риска на МПКТ, прогноза роста ребёнка);
- возможность провести запланированные и важные для дальнейшего анализа скрининговые исследования;
- возможность оценить особенную активность костеобразующих и костеразрушающих клеток при костной патологии и прогнозирования течения болезней опорно-двигательного аппарата у детей;
- дают возможность внимательно ознакомиться с процессами в образовании костной ткани в возрастном аспекте;

- взаимосвязь минеральной плотности кости с процессами роста кости;
- дают возможность проанализировать и оценить эффективность профилактики и лечения.

Каждое мероприятие позволяет оценить качество, новые возможности анализа патологии и дальнейшее ее лечение, профилактические меры и так далее. Для этого требуется профессиональный подход.

Для того, чтобы изучить костный метаболизм и его особенности у младенца, потребуется обратить внимание на сывороточный остеокальцин (неколлагеновый белок). Как показывают результаты проведенных исследований, недостаточное количество витамина D связано с уменьшением показателя кальцидиола, то есть у младенца происходит уменьшения костного вещества [40].

Некоторые исследователи описывают повышение концентрации остеокальцина и кальцитриола [1,39]. Что касается различных иностранных литературных источников, то здесь многие авторы обращают внимание на такую патологию как остеопения, называя её метаболической болезнью костей недоношенных детей [55,114]. Есть много тестов, которые используются для скрининга МБК. Измерение сывороточного кальция, сывороточного фосфата и ЩФ используется большинством врачей в качестве скрининговых тестов. Рентген, кальций в моче, фосфаты в моче, паратгормон, 25-гидроксиколекальциферол и 1,25-дигидроксиколекальциферол D реже используются для скрининга [124,125,136]. Кроме того, канальцевая реабсорбция фосфатов также использовалась многими неонатологами для наблюдения за развитием заболевания [93]. Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о противоречивых рекомендациях роли щелочной фосфатазы в скрининге МБК. Показатель ЩФ в сыворотке 700–750 МЕ/л указывает на увеличение костного метаболизма и коррелирует с остеопенией, которая на этой стадии может быть клинически бессимптомной. Уровень ЩФ в сыворотке более 1000 МЕ/л может использоваться в качестве индикатора, но не в качестве критерия в диагностике МБК [146]. Однако недавнее проспективное когортное исследование, проведённое у 120 новорождённых детей, рождённых с

гестационным возрастом ≤ 34 недель и массой тела при рождении < 1500 г, показало, что пороговое значение 500 МЕ/л уровня ЩФ в сыворотке может быть использовано в качестве предиктора для выявления МБК со 100% чувствительностью и $80,77\%$ специфичностью [163]. Однако уровень ЩФ в плазме не позволяет прогнозировать тяжесть и рентгенологические признаки МБК [129].

Предыдущее исследование показало, что ЩФ в сыворотке выше 900 МЕ/л вместе с фосфатом в сыворотке менее $1,8$ ммоль/л можно использовать для скрининга МБК с чувствительностью и специфичностью 100% и 70% соответственно. У пациентов с проблемами, связанными с оттоком желчи, когда общая ЩФ в сыворотке высокая, использование костно-специфического изофермента ЩФ оказалось полезным. Однако нет достаточных данных, чтобы принять этот показатель в качестве клинического предиктора МБК. Кроме того, было показано, что костно-специфический изофермент ЩФ и общая ЩФ сопоставимы друг с другом, и нет необходимости использовать такой дорогой специфический маркер для скрининга [146].

Кальций сыворотки не отражает содержание кальция в костях, поскольку он может оставаться нормальным за счёт потери скелетного кальция, тогда как фосфаты сыворотки более точно отражают содержание скелетного фосфора. Следовательно, уровень кальция в сыворотке нельзя использовать в качестве надежного индикатора для выявления новорождённых с высоким риском МБК [137]. Кроме того, гипокальциемия может возникать одновременно с МБК в категории младенцев, получающих петлевые диуретики в течение длительного периода. Низкий уровень кальция заставляет паращитовидную железу секретировать паратгормон (ПТГ), который, в свою очередь, выводит фосфат через почки и улучшает всасывание кальция и фосфата в желудочно-кишечном тракте [146]. Колебания уровня кальция в сыворотке крови делает его ненадёжным индикатором для прогнозирования фактического состояния минерализации костей и впоследствии не может использоваться отдельно в качестве маркера-предиктора МБК [152,165]. Было обнаружено, что почечный

порог выведения фосфатов у новорождённых детей, рождённых до 25 недель беременности, ниже, чем у недоношенных большего гестационного возраста, и, следовательно, у них выше экскреция фосфатов с мочой. Поскольку фосфат не связан с альбумином, как кальций, экскреция фосфата с мочой предпочтительнее, чем кальция с мочой для скрининга МБК. Соотношение кальция к креатинину или фосфора к креатинину можно использовать для скрининга МБК, однако их следует интерпретировать с осторожностью, поскольку на них влияют пищевые добавки и лекарства, такие как петлевые диуретики и теофиллин [146].

Надёжным методом оценки статуса минерализации костей является двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (DEXA), так как позволяет определять риск развития переломов, однако существует множество препятствий для использования этого метода в качестве универсального скринингового устройства для диагностики МБК [38,109,116,125,161]. Дорогое оборудование недоступно в странах с ограниченными ресурсами, и длительное время, необходимое для получения изображения, представляет собой основные препятствия для его широкого использования [137]. Было обнаружено, что результаты качественного ультразвукового исследования (QUS) в значительной степени коррелируют с щелочной фосфатазой в сыворотке и факторами риска снижения минерализации костей. Таким образом, это полезный метод для выявления новорождённых с высоким риском МБК, но он не является предиктором ширины кортикальной кости [140]. Кроме того, недостаточно данных для принятия его в качестве стандартизированного подхода к скринингу, более того, данных, относящихся к стандартным значениям QUS и DEXA, также недостаточно. Сывороточный остеокальцин является специфическим биомаркером активности костных клеток и может быть надёжным методом диагностики МБК, однако, в первые несколько месяцев жизни новорождённого прямая связь между сывороточным остеокальцином и содержанием минералов в скелете отсутствует, что ограничивает его использование в диагностике МБК [176].

На сегодняшний день у неонатологов нет общепринятых подходов к мониторингу прогрессирования МБК у новорождённых и детей раннего возраста, текущие рекомендации основаны только на индивидуальной клинической практике. Группа исследователей предположила, что проверка сывороточного фосфата и ЩФ каждые 1 или 2 недели может быть надежным показателем при мониторинге прогрессирования заболевания [191]. Другие авторы рекомендуют измерять кальций в сыворотке, фосфат в сыворотке, кальций в моче, фосфат в моче и соотношение кальций/креатинин каждые 7 дней у недоношенных новорождённых в возрасте до 3 недель, а затем каждые 2 недели, когда они становятся старше 3 недель [144]. Рентгеновский снимок одной из длинных костей, таких как большеберцовая, бедренная, лучевая и локтевая, необходим для подтверждения диагноза «остеопения», рентгенографии грудной клетки недостаточно для установления диагноза. Его регулярно проводят врачи всем пациентам с МБК, поскольку он позволяет оценить тяжесть заболевания, состояние минерализации и переломы. Поэтому рекомендуется каждые 5–6 недель делать рентгеновский снимок, чтобы убедиться, что минерализация улучшается [90]. Витамин D не имеет значения в диагностике или мониторинге МБК, поскольку было обнаружено, что его уровень в сыворотке одинаков у новорождённых с МБК и у здоровых, поэтому необходимы дополнительные исследования витамина.

В настоящее время нет единого мнения о роли витамина D в развитии МБК, и можно ли ставить знак равенства между рахитом и МБК?

Появление такого заболевания как рахит связано с многочисленными дополнительными факторами и явлениями. Но все-таки большую роль играет именно процесс поступления таких веществ, как фосфор и кальций. Также при наблюдении за нарушением образования самых необходимых элементов в ткани, отмечаются многочисленные проблемы [1,60,93,94,129].

Рахит является заболеванием всего организма со значительным нарушением функций ряда органов и систем [8,57,122,123]. Первые клинические проявления

могут быть обнаружены уже в 4–5 недель у доношенных младенцев, а у недоношенных – к концу 2–3-й недели жизни [57,111,113].

Как правило, в общей классификации объединены следующие отклонения и патологии: рахит у ребёнка и рахитические изменения костной ткани, а также наследственные и врождённые причины, факторы [118,131,167,190]. Что касается рахита, то выделять у него начальный этап неправильно. Это связано с тем, что в это время проявляются различные нетипичные признаки, которые в основном относятся к синдрому вегето-висцеральной дисфункции у детей раннего возраста. Если обратить внимание на семьдесят два процента младенцев с начальным этапом развития рахита, то у них установлен особый (отягощённый перинатальный) анамнез [182]. Примерно у сорока процентов наблюдается пирамидная недостаточность и миотонический синдром.

В современное время можно говорить о большом количестве проведенных исследований, описаний, в которых речь идет об иммуномодулирующей функции витамина D [43–47,72,91,94,95]. Здесь важно обратить внимание на целый ряд различных характеристик и особенностей влияния витамина на организм человека, на звенья врождённого иммунитета [103,104,112,130,168,183,185,190], на состояние адаптивного иммунитета [47,48,49,57,178]. Стоит ознакомиться с доказательством того, что для проявления костных (кальциемических) функций требуются меньшие дозы холекальциферола, чем для внекостных (некальциемических) [56].

В целом можно сделать вывод о том, что необходимо использование эффективных маркеров для костного ремоделирования. И это даёт возможность провести оценку метаболизма в костной ткани и определить возможные риски развития патологии – остеопении.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клиническая характеристика обследованных групп детей

Работа выполнена в период с 2017 по 2021 годы на кафедре педиатрии с курсом ИДПО (зав. кафедрой к.м.н., доцент Р.З. Ахметшин) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерство здравоохранения Российской Федерации (ректор – профессор В.Н. Павлов). Базой исследования явился неонатальный центр ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница» (РДКБ) г. Уфы (главный врач – к.м.н., доцент Р.З. Ахметшин, заместитель главного врача по консультативно-диагностической поликлинике – к.м.н., доцент А.Т. Мустафин) с отделением патологии новорождённых и недоношенных детей.

Недоношенные дети с очень низкой массой тела и экстремально низкой массой тела, родившиеся с применением метода ЭКО и зачатые естественным путём явились объектом исследования. Под нашим наблюдением находились 189 детей в возрасте от 3 месяцев скорректированного возраста до 3 лет, которые были разделены на две группы: дети с ОНМТ (1 группа) и дети с ЭНМТ (2 группа). Каждая группа была разделена на две подгруппы – дети, родившиеся с помощью ЭКО, и дети, родившиеся без применения метода ЭКО.

В основную группу по проведённому наблюдению попали недоношенные дети, зачатые благодаря современному методу ЭКО. Масса тела ребёнка во время рождения была менее полутора килограммов. После рождения дети некоторое время находились в стационаре в отделении неонатального центра. Проводились постоянные динамические наблюдения за здоровьем в течение трёх лет со дня рождения в кабинете катамнеза. В группу для сравнения попали те дети, которые были зачаты естественной беременностью и были недоношенными (до тридцати четырёх недель, вес младенцев составил менее полутора килограммов). Критерии включения: возраст от 3 месяцев скорректированного возраста до 3 лет,

недоношенные дети при сроке гестации 23–34 недели с массой тела при рождении меньше 1500 г, дети, рождённые с применением метода ЭКО, и дети, зачатые естественной беременностью, информированное согласие родителей. Критерии невключения из группы наблюдения: количество плодов более трёх, доношенные дети, недоношенные дети, имеющие тяжёлые пороки развития, отказ родителей от участия в исследовании; «выпадение» из динамического наблюдения до 36-ти месяцев жизни в связи с переездом, сменой адреса проживания, дети старше 3 лет.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

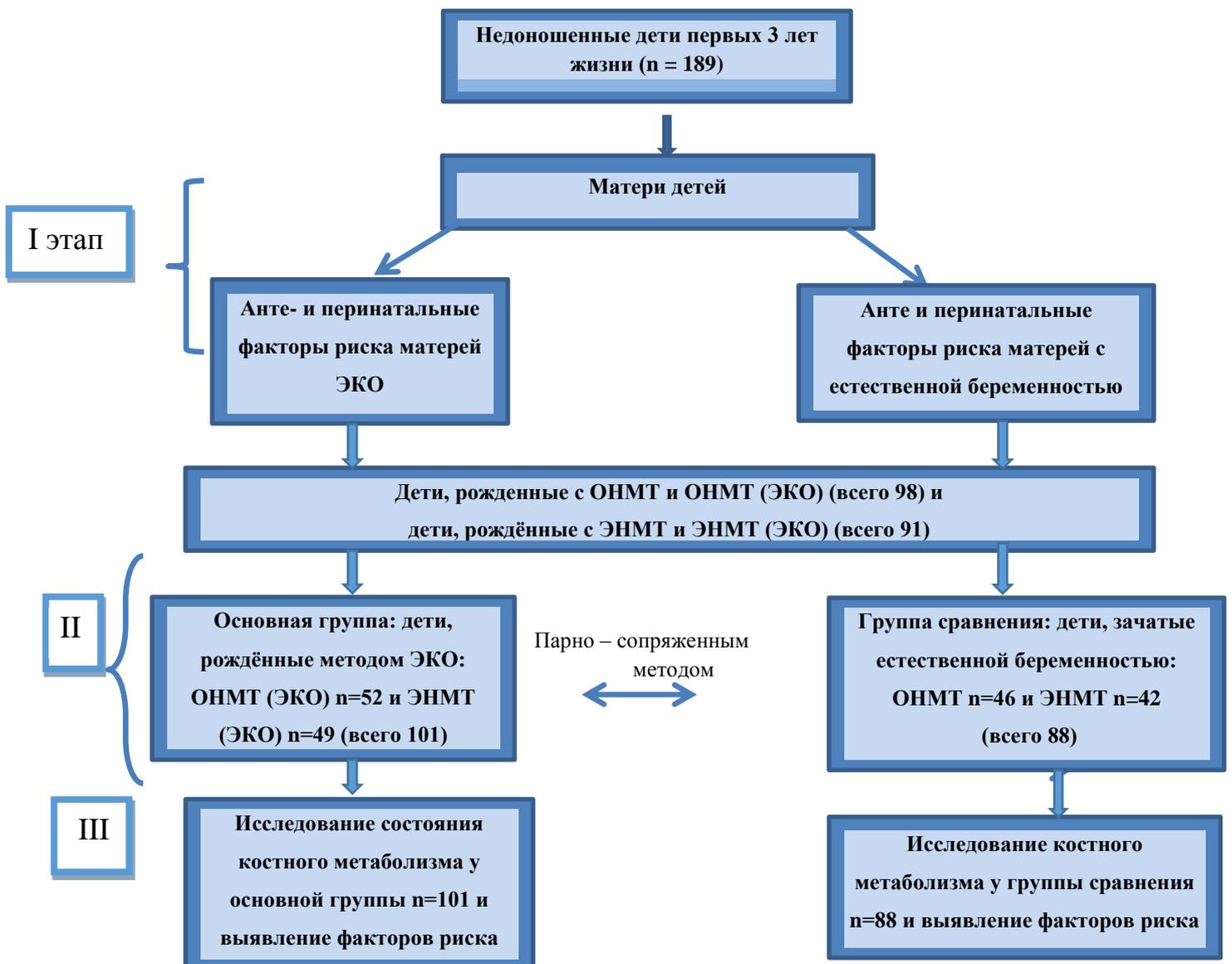


Рисунок 1– Дизайн исследования

Исследование проводилось в несколько этапов (Таблица 1).

Таблица 1– Основные этапы исследования

Этапы	Методы	Объём
1. Анализ литературных источников по исследованию здоровья детей, родившихся после ЭКО.	Библиометрический	88 отечественных и 103 иностранных литературных источников.
2. Изучение социального и биологического анамнеза матерей после ЭКО и выделение факторов риска.	Методы: социологический, статистический, анкетирования.	Основная группа – мамы детей с беременностью ЭКО (101 женщина). Группа сравнения – мамы детей с естественной беременностью (88 женщин).
3. Изучение состояния здоровья недоношенных детей первых 3 лет жизни, родившихся после ЭКО.	Методы: сплошной, проспективный, клинико-статистический, социологический Подбор группы сравнения парно-сопряженным методом.	Выделены две группы. 1. Дети, рожденные с ОНМТ и ОНМТ (ЭКО) и дети с ЭНМТ и ЭНМТ (ЭКО). 2. Основная - группа детей ЭКО (ОНМТ и ЭНМТ); группа сравнения – дети, зачатые естественной беременностью (ОНМТ и ЭНМТ).
4. Исследование костного метаболизма у недоношенных детей (лабораторное, ультразвуковая денситометрия и генетическое исследования).	Одномоментное	Основная группа (ЭКО) – n=101 и группа сравнения n=88

Все методы оценки физического, психомоторного развития, показателей здоровья осуществлялись с помощью методик, рассчитанных на здоровых доношенных детей (центильные таблицы, динамика появления новых моторных и познавательных навыков и др.). Для того чтобы сравнить младенцев, был использован специальный процесс перерасчёта на ПКВ (ПКВ = возраст в неделях после рождения плюс количество недель беременности). Можно обратить внимание на такой термин, как скорректированный возраст. Его лучше применять для удобства восприятия ситуации. Он рассчитывается следующим образом:

отмечается постконцептуальный возраст за минусом сорока недель. Чтобы справиться с поставленными задачами в анализ включалось 189 детей. В первую очередь, во время наблюдения за основной группой ЭКО осуществлялось разделение на две подгруппы (Таблица 2). В первой подгруппе находились дети, которые появились благодаря методу ЭКО с массой тела от полутора до одного килограмма (ОНМТ). Во второй подгруппе рассмотрены дети с массой тела (ЭНМТ): менее одного килограмма. Таким образом, внимание было посвящено каждой группе детей с разными особенностями развития. В группу сравнения вошли дети, зачатые естественной беременностью, с аналогичной массой тела с ОНМТ ($n_3=46$) и ЭНМТ ($n_4=42$).

Таблица 2–Распределение детей по группам наблюдения и массе тела, абс

Контингент детей	Основная группа		Группа сравнения	
	подгруппа 1 ОНМТ (ЭКО)	подгруппа 2 ЭНМТ (ЭКО)	подгруппа 3 (ОНМТ)	подгруппа 4 (ЭНМТ)
Количество детей	52	49	46	42
девочек	36	27	31	23
мальчиков	16	22	15	19
всего	101		88	

Клинические наблюдения проводились лично. В работе были главным образом использованы следующие сведения: анамнез, который был отмечен в медицинской документации (карты пациента, история родов). В специальную разработанную карту наблюдения за детьми первых трёх лет жизни вносились конкретные сведения о матери. Состояние здоровье матери внимательно изучалось для получения правильных данных: состояние беременности женщины, особенности протекания родов и так далее. Обследование детей осуществлялось в кабинете катамнеза ГБУЗ РДКБ. Для получения правильного, достоверного результата, кроме оценки физического развития по таблицам INTERGROWTH-21

и центильным методом, были проведены современные лабораторные, инструментальные, биохимические методы анализа [107].

Таблица 3–Опросник для определения физической активности у недоношенных детей на первом году (для матерей), адаптированный для исследованных групп. Разработан нами на основании опросника для определения признаков гиподинамии [3].

Вспомните физическую нагрузку (активность) ребёнка и ответьте на вопросы анкеты.

№ вопроса	Вопрос	Ответ	Баллы
1	Сколько раз в неделю Вы занимаетесь с ребёнком интенсивной физической нагрузкой? (массаж, фитбол, плавание)	_____ дней	= число баллов
2	Сколько обычно длится у ребёнка интенсивная физическая нагрузка?	А) до 10 минут Б) 10–20 минут В) 20–40 минут Г) 40–60 минут Д) 1 час и более	0 1 3 5 7
3	Сколько раз в неделю Вы занимаетесь с ребёнком неинтенсивной физической нагрузкой?	_____ дней	= число баллов
4	Какова обычная продолжительность неинтенсивной физической нагрузки в течение дня у ребёнка?	А) до 20 минут Б) 20–40 минут В) 40–60 минут Г) 60–90 минут Д) 1,5 часа и более	0 1 3 5 7
5	Сколько дней в неделю Вы с ребёнком занимаетесь плаванием?	_____ дней	= число баллов
6	Какова обычная продолжительность Ваших с ребёнком физических упражнений течение дня?	А) до 20 минут Б) 20–40 минут В) 40–60 минут Г) 60–90 минут Д) 5 часов и более	0 1 3 5 7

Продолжение таблицы 3

№ вопроса	Вопрос	Ответ	Баллы
7	Сколько обычно часов Вы проводите с ребёнком в сидячем положении?	А) 8 часов и более Б) 7–8 часов В) 6–7 часов Г) 5–6 часов Д) 4–5 часов Е) 3–4 часа Ж) 1–3 часа З) менее 1 часа	0 1 2 3 4 5 6 7

Определите сумму баллов. О низкой физической активности свидетельствует сумма менее 21 балла. Однако для оптимальной физической активности сумма баллов должна быть на 7 баллов и более превышать указанную границу.

Для определения уровня кальцидиола (25(OH)D) сыворотки крови применялся метод конкурентного хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) на аппарате Liason Dia Sorin Pleutschland GmbH, Германия; фосфорно-кальциевый обмен (уровень кальция и фосфора в крови) на газоанализаторе фирмы «RADIOMETER» с набором реактивов «RADIOMETER». В качестве маркеров костеобразования у детей исследовано содержание С-концевых телопептидов коллагена I типа, ЩФ, паратиреоидный гормон и кальцитонин в сыворотке крови. Активность ЩФ в крови исследовали оптимизированным стандартным методом (тест-набор фирмы «Human», Германия). Верхняя граница нормы ЩФ составляет 644,0 МЕ/л. Исследование паратиреоидного гормона и кальцитонина в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (Набор GenWay hPTH-EASIA). Результаты лабораторных исследований интерпретировали в соответствии с референсными значениями исследуемых показателей кальций-фосфорного обмена в сыворотке крови у детей раннего возраста, прилагаемых к аппаратам тест-систем, с нормативами, представленными в литературе [32] (Таблица 4).

Таблица 4–Референсные значения показателей минерального обмена в сыворотке крови у здоровых детей раннего возраста

Показатели	Референсные значения	
	ООО «НЦ ЭФИС», г. Москва	ООО «НПФ Хеликс», г. Екатеринбург
Са _{общ.} крови, ммоль/л	10 дней–2 года: 1,9–2,6; 2–11 лет: 2,2–2,7	0–10 дней: 1,90–2,60 10 дней–2 года: 2,25–2,75; 2–11 лет: 2,20–2,70
ЩФ _{общ.} , МЕ/л	6 дней–6 мес.: <449 7 мес.–1 год: <462 1–3 года: <281	1–10 лет: 142–335
25(ОН)D, нг/мл	40–60, дефицит <20	30–70
Фосфор крови, ммоль/л	1–12 мес.: девочки: 1,2–2,1 мальчики: 1,15–2,15 1–3 г. 1,1–1,95 мальчики: 1,0–1,95	1–30 дней: девочки: 1,4–2,5; мальчики: 1,25–2,25 1–12 мес.: девочки: 1,2–2,1 мальчики: 1,15–2,15 1–3 года: девочки: 1,1–1,95 мальчики: 1,0–1,95

Референсные значения биохимического анализа в сыворотке крови представлены в таблице 5.

Таблица 5–Референсные значения биохимического анализа в сыворотке крови у здоровых детей раннего возраста

Показатели	Норма
Паратгормон	16–62 пг/мл
Кальцитонин	до 79 пг/мл
С-концевые телопептиды коллагена I типа	0,9–4,0 нг/мл

Интерпретация показателей проводилась в соответствии с рекомендациями Кишкуна А.А. [32]. Детям проводилась эхокардиография (ЭхоКГ), исследование головного мозга – нейросонография (НСГ). Через большой родничок проводился процесс сканирования, процедура выполнялась строго с соблюдением всех правил и требований. Для того, чтобы провести аксиальное сканирование, выбрали для исследования отделы височной части головы. Рентгенография потребовалась для проверки состояния лёгких у малыша. Осмотру подверглись органы брюшной полости с помощью УЗИ. В некоторых конкретных случаях обращались к компьютерной томографии (КТ) головного мозга. Исследование было выполнено во сне на томографе (Япония). Всем детям проведён аудиоскрининг (AccuScreen, Madsen).

В целях проведения количественного УЗИ в отношении прочности костной ткани использовался специальный аппарат-остеоденситометр (Израиль) с отдельной программой Sunlight Omnisense Pediatric, предназначенной для работы с маленькими детьми. Для того чтобы получить правильные результаты, требуется сначала указать информацию о ребёнке: масса, рост, недостаток приёма кальция, диета в течение последнего года, история остеопороза и переломов в семье. Обращают внимание даже на наличие или отсутствие физической активности в самом маленьком возрасте. Такие сведения помогают в проведении современной диагностики.

В случае, если речь идет о снижении прочности – SOS менее 10%, клиническое значимое снижение прочности кости – при SOS менее 3%. С помощью современной программы аппарата был рассчитан Z-критерий (Z-score), который описывает прочность костей детей по отношению к средневозрастной норме детей того же пола и возраста (в единицах SD- стандартного отклонения). Таким образом, было диагностировано уменьшение прочности кости, когда показатель критерия Z-score меньше минус 1SD. Результаты по Z-score сопоставлялись с базой данных прибора, по SOS - с российскими центильными таблицами SOS для детей раннего возраста, разработанными Крутиковой Н.Ю. [38,39]. При этом методе исследования в соответствии с прилагаемой

инструкцией применялся специальный датчик аппарата, который располагали между пяткой и коленным суставом. Продолжительность измерения одного участка скелета составляла 1 минуту.

С помощью современной ретинальной камеры дети были осмотрены офтальмологом (камера производства США). Далее назначалась офтальмоскопия с применением соответствующего аппарата (производства Германии). Кроме того, детей отправляли на консультации к узким специалистам: неврологу, хирургу, кардиологу, ортопеду, кардиохирургу, пульмонологу, нейрохирургу и другим специалистам многопрофильной клиники. Производился профессиональный медицинский осмотр младенцев ежемесячно до полугода, после этого в девять месяцев, а затем и в год скорректированного возраста. Далее регулярность следующая: один раз в три месяца и так до трёх лет включительно. Во время этого трехлетнего возраста для детей было подобрано специальное исследование их особенностей развития. Состояние здоровья могли оценить по тому, как ребёнок развивается как в психологическом, так и в физическом плане: оценивались показатели физического, соматического и психомоторного развития. По принятым в медицине методикам проводилась оценка уровня заболеваемости с учётом показателя резистентности – индекса резистентности (число перенесённых острых респираторных заболеваний к числу месяцев наблюдения). Если показатель резистентности составил больше 0,33, то ребёнка относили к часто болеющим [73].

Для оценки последующего развития детей основной группы и группы сравнения проводился их осмотр в декретируемые сроки: до 6 месяцев ежемесячно, затем до года каждые 3 месяца, после года один раз в квартал. Если осмотр невозможен по некоторым причинам, то проводились опрос родителей и анализ медицинской документации ребёнка. На основании этих данных прослеживалась динамика физического и психомоторного развития детей четырёх групп.

Для оценки физического развития ребёнка были оценены масса тела, длина тела ребёнка, окружности головы и груди с использованием Международных

стандартов постнатального роста недоношенных детей (INTERGROWTH-21) [107,174]. Для измерения роста использовались специальные ростомеры (горизонтальный и вертикальный) в зависимости от возраста ребёнка. Учитывался морфофункциональный статус (МФС), который оценивался по индексу масса/длина тела. Статус был гармоничным в том случае, когда индекс масса/длина ребенка был в промежутке 25–75 %. Если результаты были менее или более указанных параметров, тогда можно говорить о дисгармоничном и резко дисгармоничном развитии [35].

Далее проводилась оценка психомоторного развития ребенка с использованием специальной шкалы под названием КАТ/КЛАМС, разработанной учеными Американской академии педиатрии [36]. Достоверность – это одно из преимуществ данного метода, по этой методике отдельно оцениваются формирование навыков решения наглядных САТ (КАТ), речевых задач CLAMS (КЛАМС) и макромоторика GM. Важно сделать акцент и на возрастных особенностях развития выбранных детей: необходимо определить и понять, насколько данные ребёнка соответствуют его возрасту. С помощью уравнения подсчёта коэффициента развития КР ($КР = (\text{возраст развития} / \text{хронологический возраст}) \times 100$) можно найти точный КР ребёнка. Если полученный КР находится на отметке семьдесят пять или более, то это говорит о том, что у ребёнка нет никаких проблем и сложностей в развитии, его развитие соответствует принятым нормам и показателям [36].

Детям было проведено генетическое исследование на кафедре генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» (ФГБОУ ВО БГПУ им. М. Акмуллы) г. Уфа (под руководством профессора, заведующего кафедрой генетики Горбуновой В.Ю.).

В центре внимания были исследованы основные характеристики и особенности специального гена-регулятора метаболизма коллагена – VDR, продуктом которого является рецептор витамина D.

Ген VDR и его продукт

Ген VDR расположен на коротком плече 12 хромосомы (12p12-q14), имеет размер около 80 Кб и содержит 9 экзонов и 8 интронов (Рисунок 2).

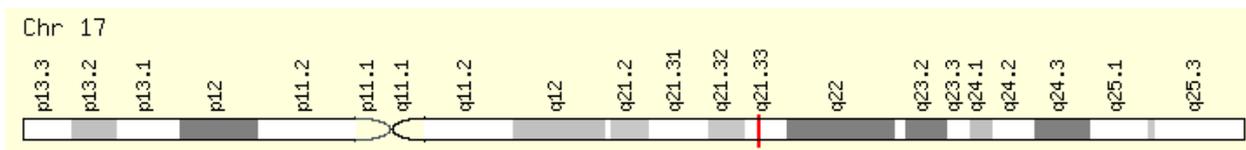


Рисунок 2—Локализация гена VDR (<https://www.genecards.org>)

Потребуется определить в самом гене как кодирующую, так и некодирующую зону. Второй из перечисленных вариант зоны расположен на 5'-конце данного гена и состоит из одного экзона. Он в свою очередь состоит из некоторого количества доменов.

ТАТА-бокс не был отмечен в промоторной области гена. В качестве примера можно привести сайты для получения сведения о различных факторах. К ним относятся Sp1 и Cdx2. Была получена информация о некоторых изменениях и мутациях в гене, которые оказались несовместимыми с жизнью, или могли приводить к редкому витамин-D-резистентному рахиту [6,92].

Первичный продукт трансляции гена рецептора витамина D (PVD) состоит из 467 аминокислот, и в последующем подвергается посттрансляционной модификации — фосфорилированию. PVD является стероидным внутриядерным рецептором, относящимся к группе ДНК-связывающих белков, имеет размер в 50-60 кДа. Сравнение кодирующей ДНК-последовательности PVD с другими ядерными рецепторами показывает, что они имеют много общих областей.

Для того чтобы разобраться в особенностях строения молекулы под названием PVD, потребуется обратить внимание на ее состав. Акцент важно сделать на несколько (3) доменов. Сначала речь идет о гидрофильном домене-S1. Он отличается консервативностью, также у него есть некоторые схожие черты и особенности с оригинальными ядерными рецепторами. У этого уникального домена есть 70 различных аминокислот, лизин, аргинин и цистеин. Что касается

второго домена C2, то он не такой консервативный, как первый вариант. Расположен достаточно далеко от первого домена, отделён от C1 шарниром и состоит из 150 аминокислот. В отношении третьего, последнего в представленном списке домена, на данный момент нет актуальной и проверенной информации.

На рисунке 3 можно ознакомиться с актуальными на данный момент полиморфизмами гена VDR.

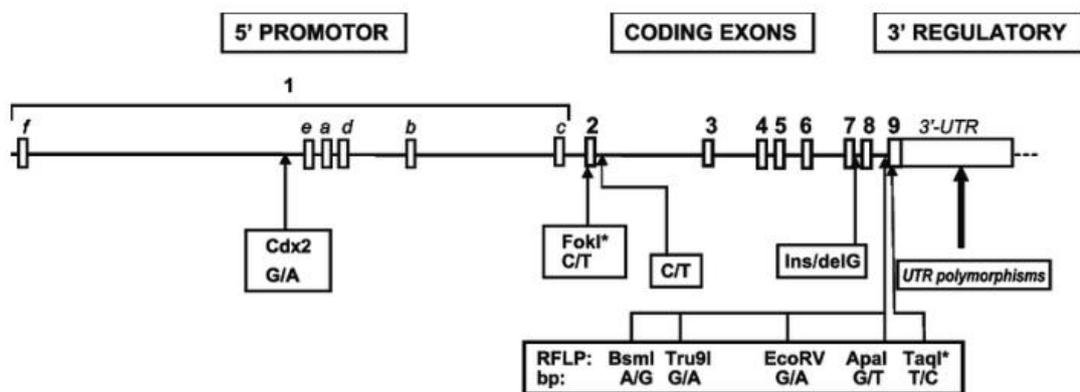


Рисунок 3—Локализация полиморфизмов FokI и BsmI гена VDR
полиморфизма rs1544410 гена VDR

Чтобы провести анализ, который показывает данные по усвоению витамина D, стоит обратить внимание на специальный полиморфный сайт. Речь идет о таком гене, как BsmI (rs1544410) [42].

Большое значение играет такое понятие как полиморфизм, это замена нуклеотида A>G в старт-кодоне. Благодаря данному процессу выполняется процесс смещения инициаторного кодона на три кодона от начала. Таким образом в результате создаётся не один вариант транскриптов, которые способны кодировать разные белки.

Стоит отметить наличие непротективного аллеля *B (G), который связывают с повышением такого параметрам, как показатель экспрессии гена. Это в свою очередь приводит к тому, что повышается производство конкретного продукта и происходит нормальный процесс образования коллагена.

В центре внимания протективный аллель *b (A) с нормальным уровнем образования рецептора к витамину D [42].

Ген ACTN3 локализован на длинном плече 11 хромосомы (q13.2-q14) и кодирует миофибриллярный белок α -актинин 3, также известный как α -актинин мышц изоформы 3, который участвует в стабилизации сократительного аппарата мышечных волокон [121]. Структурный белок состоит из 901 аминокислот (Рисунок 4).

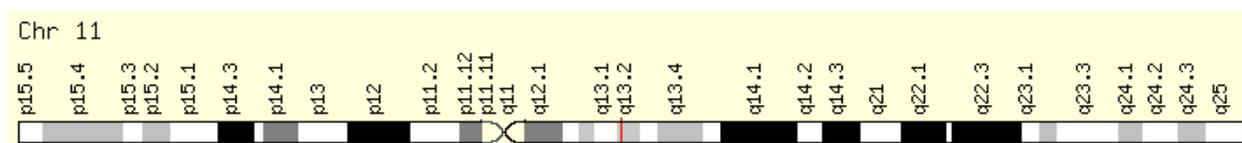


Рисунок 4–Локализация гена АСТ

Каждое мышечное волокно состоит из длинных нитей, названных миофибриллами, которые, в свою очередь, состоят из микрофиламентов. Существует два типа филаментов: актиновые (тонкие нити) и миозиновые (толстые нити), которые расположены параллельно. Мышечное сокращение обусловлено скольжением этих нитей друг по другу. Актиновые филаменты стабилизируются актин-связывающими белками – саркомерными α -актининами.

Основной функцией мышечного аппарата является двигательная. Чтобы мышечный аппарат нормально функционировал, необходимо соблюсти два условия:

- 1) мышечные волокна должны иметь нормальное строение – правильное строение микрофиламентов актина (ген ACTN3) и миозина (ген MYH7) и, как следствие, стабильное сокращение аппарата;
- 2) нервные волокна, подходящие к мышцам, также должны нормально работать.

После передачи нервного импульса из центральных отделов головного мозга он распространяется по соответствующим волокнам и приводит к сокращению необходимых мышц и расслаблению других.

Таким образом, представляется интересным исследование ассоциации полиморфизма гена ACTN3.

Полиморфизм rs1815739 гена ACTN3

В экзоне, в котором локализован полиморфизм, наблюдается однонуклеотидная замена цитозина на тимин в 577-м нуклеotide ($T > C$) кодирующей последовательности, в результате происходит ряд превращений с образованием нефункционального белка протяженностью в 576 аминокислот. В результате мутации – 3 генотипа: X/X (T/T) – гомозиготы по мутантному аллелю, R/X (C/T) – гетерозиготы, R/R (C/C) – гомозиготы по нормальному аллелю.

Аллель *X влияет на строение мышечных волокон, приводя к дефициту α -актина-3, что, в свою очередь, может стать причиной снижения скорости сокращения и спазму.

Аллель *R – протективный, ассоциирован со стабильным образованием α -актина-3.

Ген MYH7 и его продукт

Ген MYH7 расположен на плече 14 хромосомы (14q11.2-q12), разделяется на 38 экзонов и состоит из 22 883 пар нуклеотидных оснований, кодирующих протеин из 1935 аминокислот. Продуктом гена является белок тяжёлой цепи β -миозина. Его функция связана с взаимодействием глобулярной головки мышцы с актином, что приводит к высвобождению энергии и осуществлению процесса сокращения мышцы (Рисунок 5) [121].

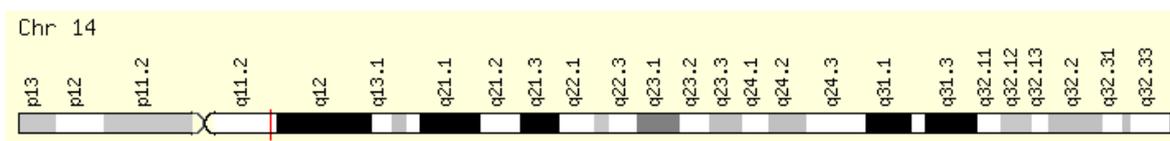


Рисунок 5—Локализация гена MYH7

Ген MYH7 активно экспрессируется в сердечной и скелетных мышцах в позднем эмбриогенезе.

Полиморфизм rs121913624 гена MYH7

Данный полиморфизм характеризуется заменой нуклеотида гуанина на аденин – GGG>GAG, при этом изменяется аминокислотная последовательность цепи (R403Q, Arg403Gln), что является причиной изменения конформации головки миозина и, как следствие, ведет к нарушению взаимодействия с актином и неправильной работе мышц, а именно их сокращению.

Аллель *А – мутантный, приводит к структурным нарушениям миоцитов и изменениям в процессе сокращения.

Аллель *G – протективный, определяет нормально функционирующий белок.

Биохимические и молекулярные методы:

- выделение ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции;
- полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Последовательности праймеров исследуемых генов приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Тип полиморфизма и последовательность праймеров

Тип полиморфизма, локализация	Праймеры (рестриктаза)	Ссылка
Col1A1 rs1800012 (G2046T) 17q21.31-q22.05, 1-ый интрон	Прямой: 5'- ТААСТТСТGGАСТАТТТGCGGACT-3' Обратный: 5'- GTCCAGCCСТСАТCGGGGCC-3' Рестриктаза: <i>BseI</i> (инкубация при 37° С)	Grant, 1996
VDR rs1544410 (<i>BsmI</i>) 12p12-q14, 8-ой интрон	Прямой: 5'-GCATCGTCTCCCCAGGTATG-3' Обратный: 5'-ACCAGCGGAAGAGGTCAAG-3' Рестриктаза: <i>PctI</i> (инкубация при 37° С)	Uitterlinder, 2004
ACTN3 rs1815739 (R577X) 11q13.2-q14, 16-ый экзон	Прямой: 5'-СТGTTGCСТGTGGТАAGTGGG-3' Обратный: 5'-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3' Рестриктаза: <i>DdeI</i> (инкубация при 37° С)	Дружеская, 2006

Продолжение таблицы 6

Тип полиморфизма, локализация	Праймеры (рестриктаза)	Ссылка
МУН7 rs121913624 (R403Q, Arg403Gln) 14q11.2-q12	Прямой: 5'-CAGTCCAGTTCTCACAGACTCC-3' Обратный: 5'-GGCTCCCCTGTTCTATGAG-3' Рестриктаза: MspI (инкубация при 37 ⁰ C)	Askerman, 2013

Для проведения амплификации использовали программы, приведённые для амплификатора типа МС2, запрограммированного на объём 10 или 15 мкл в режиме активного быстрого («fast») регулирования [42] (Таблица 7).

Таблица 7–Условия полимеразно-цепной реакции (ПЦР) для полиморфных вариантов исследуемых генов

Маркер	Температура	Время	Количество повторов
Col1A1 rs1800012 (G2046T) 17q21.31-q22.05, 1-ый интрон	94°C	5 мин.	1
	94°C	30 сек.	40
	62°C	30 сек.	
	72°C	28 сек.	1
	72°C	7 мин.	
Хранение - 10 °С			
VDR rs1544410 (BsmI) 12p12-q14, 8-ой интрон	95 °С	1 мин.	1
	95 °С	10 сек.	35
	60 °С	40 сек.	
	72 °С	10 сек.	1
	72 °С	7 мин.	
Хранение - 10 °С			
ACTN3 rs1815739 (R577X) 11q13.2-q14, 16-ый экзон	95 °С	5 мин.	1
	95 °С	30 сек.	35
	60 °С	30 сек.	
	72 °С	30 сек.	1
	72 °С	5 мин.	
Хранение - 10 °С			

Продолжение таблицы 7

Маркер	Температура	Время	Количество повторов
МҮН7 rs121913624 (R403Q, Arg403Gln) 14q11.2-q12	94 °С	5 мин.	1
	94 °С	40 сек.	32
	60 °С	40 сек.	
	72 °С	50 сек.	
	72 °С	7 мин.	1
Хранение - 10 °С			

В связи с этим возникает необходимость детального изучения взаимодействия аллелей генов COL1A1, VDR, ACTN3 и МҮН7 при нарушениях костного метаболизма.

Этическая экспертиза. Проведённое исследование одобрено локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Протокол №9 от 6.12. 2017 г).

2.2 Методы статистической обработки результатов

В работе применялись все основные возможности, секреты грамотного статистического анализа, все рекомендации и руководства в процессе были учтены [12,86,88]. Для того, чтобы стало удобно и просто подготовить необходимый для работы материал, в целях исследования детей разного возраста, а также матерей, разработали формализованную карту с созданием компьютерной базы данных. Во время качественной обработки данных применялись различные математико-статистические методы. Они помогли решить главные задачи в работе [68,121]. Проверка нормальности распределения количественных признаков проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилкса. В случае соответствия распределения нормальному закону описательная статистика была

представлена средним и стандартным отклонением – $M(SD)$. Для количественных показателей, распределение которых было отлично от нормального, приведены медиана и интерквартильный размах – $Med (Q1; Q3)$ [12,19,83,86,88].

Сравнение двух групп по количественному показателю проводилось критерием Стьюдента (в случае нормального распределения) и критерием Манна-Уитни (при отклонении от нормального распределения). Сравнение трех и более групп по количественному признаку проводилось с помощью однофакторного дисперсионного анализа (в случае нормально распределённого признака) и критерия Краскела-Уоллиса (при отклонении от нормального распределения), апостериорные сравнения проводились критерием Данна. Анализ влияния одновременно двух факторов на количественный показатель проводился с помощью многофакторного ANOVA, проводилась проверка соответствия остатков нормальному распределению (с помощью критерия Шапиро-Уилкса), и проверялась однородность дисперсии остатков (с помощью критерия Ливиня) [68,88].

Для качественных признаков находили абсолютные и относительные (в %) частоты. Сравнения двух групп по качественным показателям проводили в ходе анализа таблиц сопряжённости критерием Хи-Квадрат или критерием Фишера (при наличии частот $\leq 5\%$) [13]. При сравнении более двух категорий применялась поправка Холма-Бонферрони.

Для оценки силы взаимосвязи показателя с бинарным исходом были рассчитаны отношения шансов и их 95% доверительный интервал – ОШ[95%ДИ]. Для расчета отношения шансов для количественных показателей применялась однофакторная логистическая регрессия, в этом случае приводится отношение шансов при изменении показателя на единицу измерения (на 100 граммов для массы).

Для построения модели применялась многофакторная логистическая регрессия, метод отбора переменных – пошаговое исключение [17]. Приводятся коэффициенты разработанной модели и их 95% доверительный интервал. Для оценки качества модели рассчитывался R^2 Нейджелкерка, площадь под ROC

кривой (AUC), точность классификации, чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов. Оценка качества проводилась на обучающем и тестовом множестве, для оценок, полученных на обучающем множестве, приводится 95% доверительный интервал. Для построения номограммы применялся пакет `gms` в статистической среде R.

Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Все расчёты проводились в SPSS v.24 и статистической среде R (v.3.6, лицензия GNU GPL2).

В целях проведения статистического анализа генетико-эпидемиологических исследований были применены современные решения и специальные программы [42,121,133].

Были проанализированы и проведены сравнения конкретных групп, в которых присутствует несколько представленных моделей наследования (рецессивная, доминантная, кодоминантная, сверхдоминантная и лог-аддитивная). Каждая из этих моделей отражает различные варианты сравнения генотипов. Биологический смысл каждой из этих моделей наследования заключается в том, что для изменения риска достаточно либо присутствие одного, либо двух аллелей, либо каждый генотип может изменять риск независимо от остальных. Программа «SNPstats» вычисляет значение информационного критерия Акаике для каждого конкретного генного полиморфизма.

Специальные, профессиональные генетические изучения постоянно отличаются многочисленными сравнениями, нужен грамотный способ, позволяющий своевременно внести изменения на разные сравнения при проведении расчёта возможности ухода гипотезы (нулевая p). Исследователи говорят о том, что лучше всего применять в этом направлении средний показатель наличия отклонений, представленных в ложной форме [133].

Для полного проведения расчёта указанных выше q -значений потребуется взять p -значение по наиболее вероятной выбранной для каждого генного полиморфизма модели наследования (с наименьшим информационным критерием Акаике), в таблицах представляются характеристики выборки и описываются все проанализированные генные полиморфизмы [13,42,123].

Таблица сопряжённости 2x2

Данный метод позволяет вычислить критерий χ^2 для таблицы сопряжённости 2x2 и достигнутый уровень значимости (с поправкой Йейтса на непрерывность). Кроме того, производится оценка таких статистик связи, как отношение шансов (ОШ), относительный риск (RR), чувствительность (Se), специфичность (Sp), прогностичность положительного результата (PVP) и отрицательного результата (PVN), а также границ 95 %-ных доверительных интервалов (ДИ) для них. В данном случае можно отметить незначительный показатель погрешности.

С помощью непараметрической программы GMDR межгенные взаимодействия анализировали с использованием метода моделирования ген – генных и ген – средовых взаимодействий. В этой программе с наиболее высокой точностью можно предсказать человеку наличие или отсутствие взаимосвязи с определённым признаком с помощью многократного перекрёстного пересчёта первичных данных [121].

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Анте- и перинатальные факторы риска остеопении недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ

Нами проведен анализ акушерско-гинекологического и соматического анамнеза матерей обследуемых групп новорождённых, а также особенности социального статуса. На первом этапе оценили биологические и соматические факторы риска развития остеопении новорождённых у матерей, родивших детей с ОНМТ и ЭНМТ (Таблица 8).

Таблица 8 – Биологические и соматические факторы матерей

Факторы	Группа ОНМТ (ЭКО и не ЭКО) n=98 абс (%)	Группа сравнения ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) n=91 абс (%)	P
Биологические факторы			
1. Порядковый номер настоящей беременности			
Первая - вторая	16 (16,3)	11 (12,1)	p=0,40
третья	62 (63,2)	44 (48,3)	p=0,08
четвертая	20 (20,4)	36 (39,5)	p=0,01
2. Течение настоящей беременности			
Ранний токсикоз	91 (92,8)	91 (100,0)	p=0,01*
Артериальная гипертензия	46 (46,9)	53 (58,2)	p=0,13
Анемии	48 (48,9)	76 (83,5)	p<0,001
Угроза прерывания	72 (73,4)	88 (96,7)	p<0,001
Нефропатия	88 (89,7)	78 (85,7)	p=0,39*
Отеки	62 (63,2)	88 (96,7)	p<0,001*
Хроническая фетоплацентарная недостаточность (ХФН)	54 (55,1)	78 (85,7)	p<0,001
Хроническая гипоксия плода (ХГП)	54 (55,1)	78 (85,7)	p<0,001

Продолжение таблицы 8

Факторы	Группа ОНМТ (ЭКО и не ЭКО) n=98 абс (%)	Группа сравнения ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) n=91 абс (%)	P
3. Родоразрешение			
Через естественные родовые пути	11 (11,2)	4 (4,4)	p=0,11
Путем операции «кесарево сечение»	87 (88,7)	87 (95,6)	
Соматические факторы			
Хронический бронхит	25 (25,5)	22 (24,1)	p=0,83
Гастрит	19 (19,4)	27 (29,6)	p=0,10
Холецистит	6 (6,1)	8 (8,7)	p=0,48
Пиелонефрит	11 (11,2)	17 (18,6)	p=0,15
Гипертоническая болезнь	64 (65,3)	77 (84,6)	p=0,002
Нарушение системы гемостаза	9 (9,1)	11 (12,1)	p=0,52
Ожирение	68 (69,3)	74 (75,5)	p=0,06
Варикозная болезнь нижних конечностей	62 (63,2)	72 (79,1)	p=0,02
Примечания			
1 P – статистическая значимость между показателями матерей детей с ОНМТ (ЭКО и не ЭКО) и матерей с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО).			
2 *Применялся точный критерий Фишера			

При оценке биологических и соматических факторов матерей детей, рождённых с ОНМТ (ЭКО и не ЭКО) и детей с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) выявлены статистически значимые различия между матерями групп детей: четвертая беременность, а также ранний токсикоз, анемии, угроза прерывания беременности, отёки, хроническая фетоплацентарная недостаточность, хроническая гипоксия плода, гипертоническая болезнь, варикозная болезнь нижних конечностей встречалась чаще у матерей детей, рождённых с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО). Также провели анализ социальных факторов у 101 мамы недоношенных детей с применением метода ЭКО (основная группа), и у 88

матерей с естественной беременностью, дети которых родились с массой тела менее 1500 г (Таблица 9, Рисунок 6).

Таблица 9 Социальный фактор матерей основной (ЭКО) группы и группы сравнения

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101			p ¹	Группа сравнения (не ЭКО) n=88			p ²	p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49		Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42		
Возраст матери									
от 26 до 30 лет	35 (34,7)	17 (32,7)	18 (36,7)	p=0,88	76 (86,4)	37 (80,4)	39 (92,8)	p=0,24	p<0,001
от 31 до 35 лет	48 (47,5)	25 (48,0)	23 (46,9)		8 (9,1)	6 (13,0)	2 (4,7)		p<0,001
от 35 до 40 лет	18 (17,8)	10 (19,2)	8 (16,3)		4 (4,5)	3 (6,5)	1 (2,4)		p=0,006*
Образование матери									
Среднее специальное	15 (14,9)	7 (13,4)	8 (16,3)	p=0,58	50 (56,8)	24 (51,2)	26 (61,9)	p=0,50	p<0,001
Незаконченное высшее	6 (5,9)	2 (3,8)	4 (8,1)		4 (4,5)	3 (6,5)	1 (2,4)		p=0,75*
Высшее	80 (79,2)	43 (82,7)	37 (75,5)		34 (38,6)	19 (41,3)	15 (35,7)		p<0,001
Вредные привычки матери									
Курение	18 (17,8)	8 (15,4)	10 (20,4)	p=0,51	3 (3,4)	2 (4,3)	1 (2,4)	p=1,00*	p=0,002*
Профессиональные вредности									
Работа с вредными условиями	44 (43,6)	24 (46,1)	20 (40,8)	p=0,59	3 (3,4)	2 (4,3)	1 (2,4)	p=1,00*	p<0,001*
Возраст при вступлении в настоящий брак									
После 30 лет	37 (36,6)	19 (36,5)	18 (36,7)	p=0,98	7 (8)	5 (10,8)	2 (4,7)	p=0,44*	p<0,001
Мотивация материнства									
Случайная	0 (0)	0 (0)	0 (0)	p=1,00*	23 (26,1)	9 (19,5)	14 (33,3)	p=0,14	p<0,001*
Желанная	101 (100)	52 (100)	49 (100)		65 (73,9)	37 (80,4)	28 (66,6)		
Примечания									
1 p ¹ – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО)									
2 p ² – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (не ЭКО) и ЭНМТ (не ЭКО)									
3 p ³ – статистическая значимость различий между группами ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) и не ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ)									
4 * Применялся точный критерий Фишера									

Определено, что матери детей основной группы (ЭКО) в отличие от матерей группы сравнения относились к возрастной группе от 31 до 35 лет и старше (48% и 46,9% соответственно 13% и 4,7 %, $p < 0,001$). Женщины из основной группы чаще, чем в группе сравнения, имели высшее образование (82,7% и 75,5% соответственно 41,3% и 35,7%, $p < 0,001$). Обращает на себя внимание тот факт, что вредные привычки в виде курения имели (15,4% и 20,4%, $p < 0,002$) матери основной группы, несмотря на то, что настоящая беременность была планируемой и желанной. У матерей из основной группы с большей частотой встречались такие профессиональные вредности, как работа с вредными условиями (46,1% и 40,8% соответственно 4,3% и 2,4%, $p < 0,001$). Беременность у всех матерей детей основной группы была планируемой, желанной (100,0% и 100,0 % и 80,4% и 66,6%, $p < 0,001$).

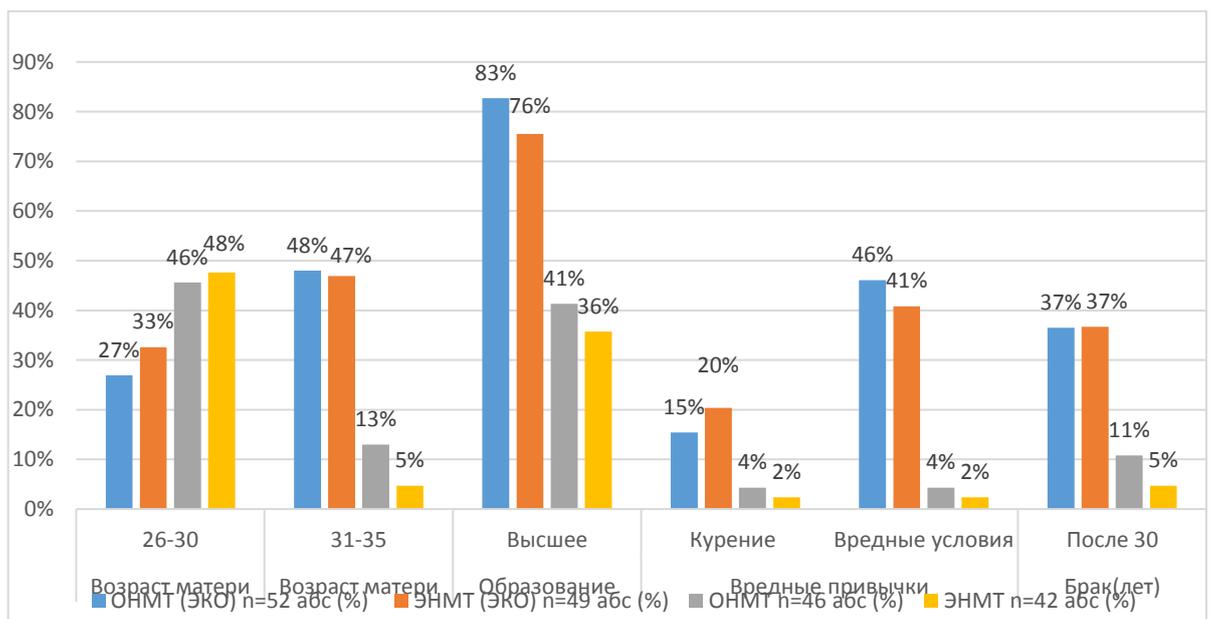


Рисунок 6–Социальный фактор матерей

Социальный фактор матерей детей, рождённых с помощью ЭКО, приведён в таблице 10.

Таблица 10–Социальный фактор матерей детей, рождённых с помощью ЭКО

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				p
	ОНМТ (ЭКО) n=52		ЭНМТ (ЭКО) n=49		
	абс	(%)	абс	(%)	
Отсутствие приёма витамина D во время беременности	9	17,30	6	12,24	p=0,47
Матери, проживающие в городе	32	61,53	36	73,46	p=0,20

По проведённому анкетированию матерей было выявлено, что риск развития остеопении (без статистической значимости) преобладал у детей, матери которых проживали в городе (ОНМТ (ЭКО)–61,53 % и ЭНМТ (ЭКО)–73,46%) и не принимали витамин D во время беременности (ОНМТ (ЭКО)–17,30 % и ЭНМТ (ЭКО)–12,24%).

Биологические перинатальные факторы риска остеопении показаны на рисунке 7.

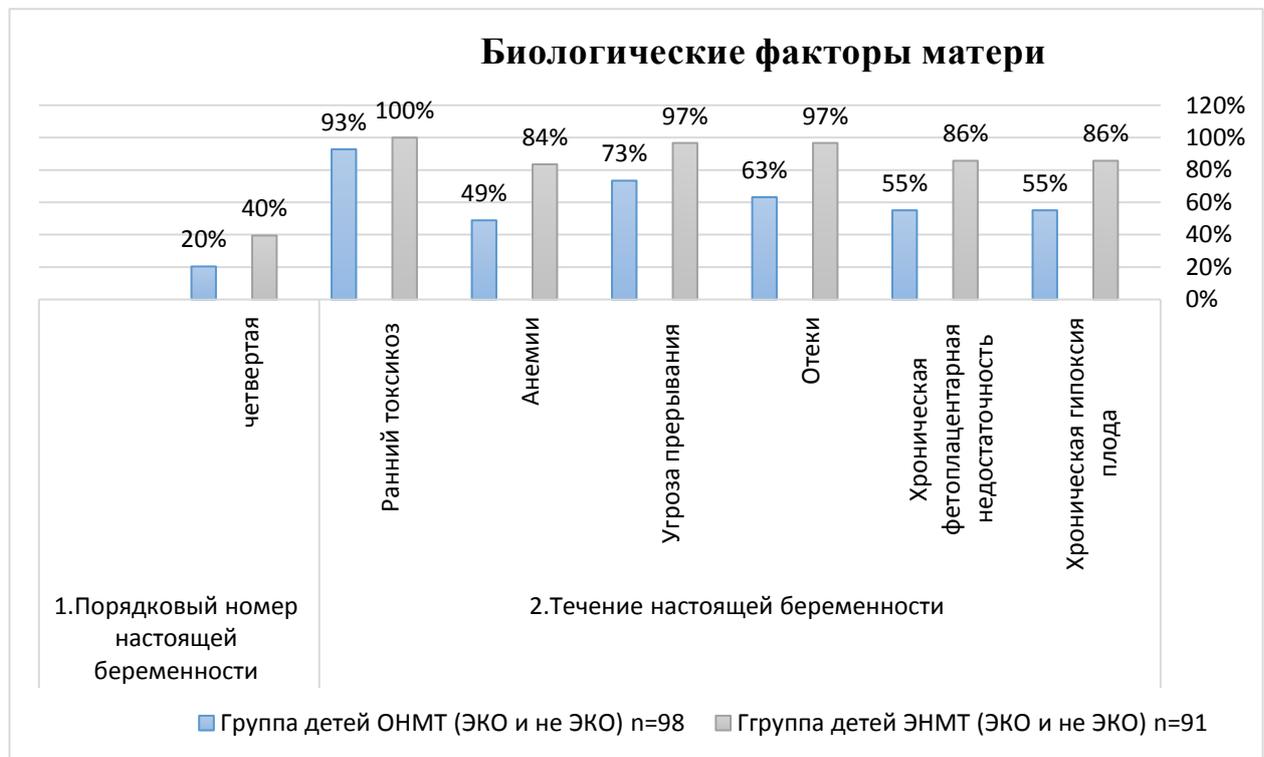


Рисунок 7– Биологические перинатальные факторы риска остеопении (%)

Был проведён акушерский и гинекологический анамнез матерей в таблице 11.

Таблица 11– Акушерский и гинекологический анамнез матерей

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				Группа сравнения (не ЭКО) n=88				p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49	p ¹	Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42	p ²	
Само-произвольные выкидыши	22 (21,8)	13 (25)	9 (18,4)	p=0,41	1 (1,1)	1 (2,2)	0 (0)	p=1,00*	p<0,001*
Медицинские аборты	40 (39,6)	21 (40,4)	19 (38,8)	p=0,86	13 (14,8)	7 (15,2)	6 (14,3)	p=0,90	p<0,001*
Погибшие беременности	7 (6,9)	4 (7,7)	3 (6,1)	p=1,00*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	p=1,00*	p=0,02*
Эрозия шейки матки	15 (14,9)	7 (13,5)	8 (16,3)	p=0,69	3 (3,4)	2 (4,3)	1 (2,4)	p=1,00*	p=0,01*
Нарушения менструального цикла	11 (10,9)	7 (13,5)	4 (8,2)	p=0,53*	2 (2,3)	1 (2,2)	1 (2,4)	p=1,00*	p=0,02*
Хронический аднексит	10 (9,9)	5 (9,6)	5 (10,2)	p=1,00*	4 (4,5)	3 (6,5)	1 (2,4)	p=0,62*	p=0,18*
Сальпинго-офарит	12 (11,9)	7 (13,5)	5 (10,2)	p=0,76*	1 (1,1)	1 (2,2)	0 (0)	p=1,00*	p=0,003*
Эндометриоз	29 (28,7)	16 (30,8)	13 (26,5)	p=0,63	2 (2,3)	1 (2,2)	1 (2,4)	p=1,00*	p<0,001*
Инфекции, передающиеся половым путем	26 (25,7)	14 (26,9)	12 (24,5)	p=0,77	8 (9,1)	3 (6,5)	5 (11,9)	p=0,47*	p=0,003
Спаечный процесс малого таза	41 (40,6)	22 (42,3)	19 (38,8)	p=0,71	0 (0)	0 (0)	0 (0)	p=1,00*	p<0,001*
Примечания									
1 p ¹ – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО)									
2 p ² – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (не ЭКО) и ЭНМТ (не ЭКО)									
3 p ³ – статистическая значимость различий между группами ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) и не ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ)									
4 * Применялся точный критерий Фишера									

У матерей детей основной группы, по сравнению с группой сравнения, чаще диагностировались самопроизвольные выкидыши (25,0% и 18,4% соответственно 2,2% и 0%, p<0,001); предшествующие медицинские аборты (40,4% и 38,8% соответственно 15,2% и 14,3%, p<0,001); погибшие беременности встречались

только в основной группе (7,7% и 6,1%, $p=0,02$), эрозия шейки матки (13,5% и 16,3% соответственно 4,3% и 2,4%, $p=0,01$; нарушения менструального цикла (13,5% и 8,2% соответственно 2,2% и 2,4%, $p=0,02$); сальпингоофарит (13,5% и 10,2% соответственно 2,2% и 0%, $p=0,003$); эндометриоз (30,8% и 26,5% соответственно 2,2% и 2,4%, $p<0,001$); инфекции, передающиеся половым путем (26,9% и 24,5%, соответственно 6,5% и 11,9%, $p=0,003$) и спаечный процесс малого таза (42,3% и 38,8% соответственно 0, $p<0,001$).

На рисунке 8 показаны инфекционно-воспалительные заболевания матерей, выявленные во время беременности.

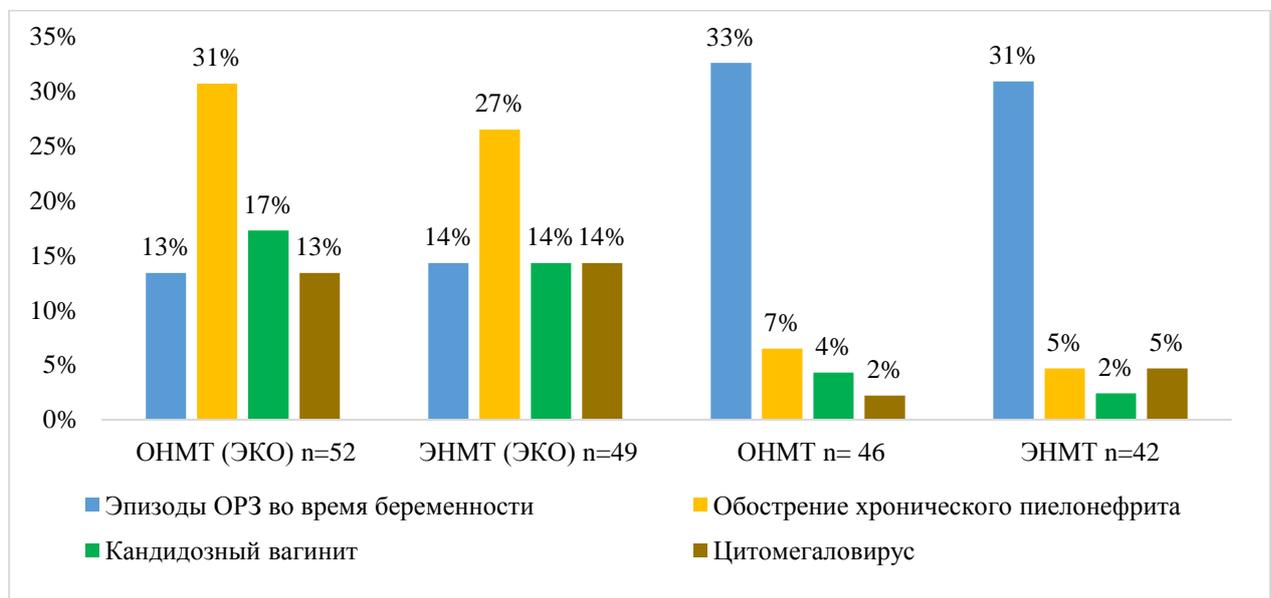


Рисунок 8–Инфекционно-воспалительные заболевания матерей, выявленные во время беременности

Пролеченные во время беременности инфекции у матерей основной группы): обострение хронического пиелонефрита (30,7% и 26,5% соответственно 6,5% и 4,7%, $p<0,001$), кандидозный вагинит (17,3% и 14,3% соответственно 4,3% и 2,4%, $p=0,004$) и цитомегаловирус (13,4% и 14,3% соответственно 2,2% и 4,7%, $p=0,012$).

Нами был проведён анализ репродуктивной функции матерей детей, родившихся с помощью ЭКО (Таблица 12).

Таблица 12–Характеристика репродуктивной функции матерей

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				p
	ОНМТ (ЭКО) n=52		ЭНМТ (ЭКО) n=49		
	абс	(%)	абс	(%)	
Бесплодие					p=0,60
Первичное	26	50,0	22	45,0	
Вторичное	26	50,0	27	55,0	
Длительность бесплодия, лет					p=0,61
до 5	9	17,3	7	14,2	
от 5 до 10	29	55,7	32	65,3	
более 10 лет	14	26,9	10	20,4	
Количество попыток ЭКО					p=0,98
1	27	51,9	28	57,1	
2	19	36,5	16	32,6	
3	3	5,7	2	4,1	
4	2	3,8	2	4,1	
5	1	1,9	1	2,0	
Этиология бесплодия					p=0,98
Эндометриоз	16	30,7	13	26,5	
Трубно-перитонеальное	19	36,5	16	32,6	
Обусловленное отсутствием овуляции (эндокринное)	6	11,5	7	14,3	
Синдром поликистозных яичников	3	5,7	4	8,1	
Обусловленное мужским фактором	1	1,9	1	2,0	
Аномалия развития матки	1	1,9	1	2,0	
Неясной этиологии	3	5,7	2	4,1	
Протокол ЭКО					p=0,89
Короткий	9	17,3	8	16,3	
Длинный	43	82,6	41	83,6	
Качество эмбрионов					p=0,76
Отличное качество эмбрионов (Тип А)	39	75,0	38	77,5	
Хорошее качество эмбрионов (Тип В)	13	25,0	11	22,4	
Примечание. P – статистическая значимость между показателями матерей детей с ОНМТ (ЭКО) и матерей с ЭНМТ (ЭКО)					

Установленный патологический процесс в основном был связан с тем, что у огромного количества женщин отмечался эндометриоз (30,7% и 26,5%) и трубно-перитонеальный фактор (36,5% и 32,6%). Также приблизительно у десяти процентов женщин было установлено отсутствие овуляции. Что касается

длительности бесплодия, который заключался в продолжительности данной патологии, то данные оказались такими: у половины матерей детей основной группы длительность бесплодия составляла от 5 до 10 лет (55,7% и 65,3%), у каждой четвертой – более 10 лет (26,9% и 20,4%), Именно по этой причине женщины определили для себя единственный правильный и возможный способ рождения ребёнка – применение ЭКО. В данном случае применили длительный протокол проведения стимуляции и овуляции. В целом стоит отметить положительные результаты. В итоге большое количество женщин смогли забеременеть практически сразу с первой попытки (51,9% и 57,1). Но некоторым потребовалось несколько попыток – примерно десяти процентам. Самое главное, что качество эмбриона оказалось отличным.

Следовательно, по результатам наших исследований антенатальные факторы риска матерей в нарушении костного метаболизма (остеопении) у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО: четвёртая беременность, ранний токсикоз, анемии, угроза прерывания и отёки во время беременности, хроническая фетоплацентарная недостаточность (ХФН), хроническая гипоксия плода (ХГП), гипертоническая болезнь и варикозная болезнь нижних конечностей; у матерей (ЭКО): возраст матери от 31 года и старше, курение во время беременности и работа с вредными условиями труда.

Таким образом, у матерей, родивших недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, установлены многочисленные нарушения здоровья, которые могут быть не только причиной рождения недоношенного ребёнка, но и являются факторами риска развития остеопении у новорождённых.

3.2 Особенности заболеваемости недоношенных детей первых трёх лет жизни (соматическая патология)

Под нашим наблюдением находились 189 недоношенных детей, рождённых с ОНМТ и ЭНМТ: группа детей, рождённых с ОНМТ (ЭКО и не ЭКО), n=98 и дети, рождённые с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО), n=91. В таблице 13 представлены заболевания, зарегистрированные у детей с массой тела меньше 1500 г, в период нахождения в стационаре.

Оценка по шкале Апгар при рождении на первой минуте жизни у детей группы ОНМТ составила 3,9(0,2) баллов, а у детей группы ЭНМТ оказалась хотя и весьма близко, но значимо ($p<0,0001$) меньше – 3,7(0,2) балла. Та же тенденция сохранялась на пятой минуте жизни – 5,4(0,2) и 5,3(0,2) балла соответственно ($p<0,001$).

Таблица 13– Структура заболеваемости детей с ОНМТ и ЭНМТ в неонатальном периоде

Патология	Группа ОНМТ n=98, абс (%)	Группа ЭНМТ n=91, абс (%)	P
Респираторный дистресс-синдром	87 (88,77)	89 (97,80)	p=0,02*
Бронхолёгочная дисплазия	18 (18,36)	23(25,27)	p=0,25
Пневмония	86 (87,75)	89 (97,80)	p=0,01*
Бактериальный сепсис новорождённых	12 (12,24)	14 (15,38)	p=0,53
Энтероколит	13 (13,26)	19 (20,87)	p=0,16
Менингит	1 (1,02)	0 (0)	p=1,00*
Миокардит	2 (2,04)	0 (0)	p=0,49*
Ишемия мозга 1 степени	48 (48,97)	42 (46,15)	p=0,70
Ишемия мозга 2 степени	38 (38,77)	33 (36,26)	p=0,72
Ишемия мозга 3 степени	12 (12,24)	16 (17,58)	p=0,30
ВЖК 1 степени	11 (11,22)	9 (9,89)	p=0,76

Продолжение таблицы 13

Патология	Группа ОНМТ n=98, абс (%)	Группа ЭНМТ n=91, абс (%)	P
ВЖК 2 степени	12 (12,24)	15 (16,48)	p=0,40
ВЖК 3 степени	8 (8,16)	6 (6,59)	p=0,68
Перивентрикулярная лейкомаляция	4 (4,08)	3 (3,29)	p=1,00*
Ретинопатия недоношенных 1-2 степени	78 (79,59)	69 (75,82)	p=0,53
Анемия тяжёлой степени	22 (22,44)	29 (31,8)	p =0,15
Открытый артериальный проток (ОАП) гемодинамически незначимый	92 (93,87)	90 (98,90)	p =0,12*
Лёгочная гипертензия	2 (2,04)	2 (2,19)	p=1,00*
Открытое овальное окно (ООО)	98 (100)	91 (100)	p=1,00*
Врождённый порок сердца (ВПС)	7 (7,14)	8 (8,79)	p=0,67
Желтуха недоношенных	63 (64,28)	66 (72,52)	p=0,22
Гемангиома	22 (22,44)	24 (26,37)	p=0,52
Пахово-мошоночная грыжа	33 (33,67)	42 (46,15)	p=0,08
Примечания 1 P– статистическая значимость между показателями детей с ОНМТ (ЭКО и не ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО). 2 * применялся точный критерий Фишера			

У новорождённых детей (100%), рождённых с ОНМТ и с ЭНМТ, выявлено сочетание заболеваний органов дыхания, нервной системы и малых аномалий развития сердца (ООО, ОАП). Респираторный дистресс – синдром (РДС), встречался статистически значимо чаще у недоношенных детей, рождённых с ЭНМТ (p=0,02), также, как и пневмония (p=0,01), что является закономерным и обусловлено выраженной незрелостью лёгких и, в частности, незрелостью системы сурфактанта.

ООО зарегистрировано у 100% детей двух групп. ОАП гемодинамически незначим и встречался у детей, рождённых с ОНМТ и с ЭНМТ (93,8% и 98,9%,

$p = 0,12$). Приблизительно более шестидесяти процентов детей страдали от такого заболевания как желтуха (у 64,2% детей, рождённых с ОНМТ и 72,5% у детей с ЭНМТ ($p=0,22$)). У недоношенного ребёнка система дыхания недостаточно развита на момент рождения, поэтому и наблюдается высокая частота заболеваний органов дыхания.

Учитывая важную роль анамнеза матери в рождении недоношенного ребёнка и в развитии остеопении, мы провели сравнительный анализ не только детей с ОНМТ и ЭНМТ, но и выделили группу детей, рождённых с помощью вспомогательных репродуктивных технологий.

Недоношенные дети, рождённые с применением метода ЭКО ($n=101$), с массой тела при рождении менее 1500 г. вошли в основную группу наблюдения; группу сравнения составили недоношенные дети с аналогичной массой тела, зачатые естественной беременностью ($n=88$). Наблюдение проводилось в возрасте от 3 месяцев скорректированного возраста до 3 лет. Кроме того, дополнительно дети основной группы были разделены на две подгруппы в зависимости от массы тела при рождении: первая подгруппа (52 ребёнка) – дети с массой тела от 1500 г до 1000 г (ОНМТ), вторая (49) – дети с массой тела меньше 1000 г (ЭНМТ). Группа сравнения – дети, зачатые естественной беременностью, с аналогичной массой тела с ОНМТ (46) и ЭНМТ (42). Гестационный возраст новорождённых с ОНМТ (ЭКО) был 29,5(1,86) недель, у младенцев с ЭНМТ (ЭКО) – 26,7(1,47) недель ($p<0,001$), в группе сравнения – у новорождённых с ОНМТ – 29,6(1,90) недель, у младенцев с ЭНМТ – 26,7(1,48) недель ($p<0,001$).

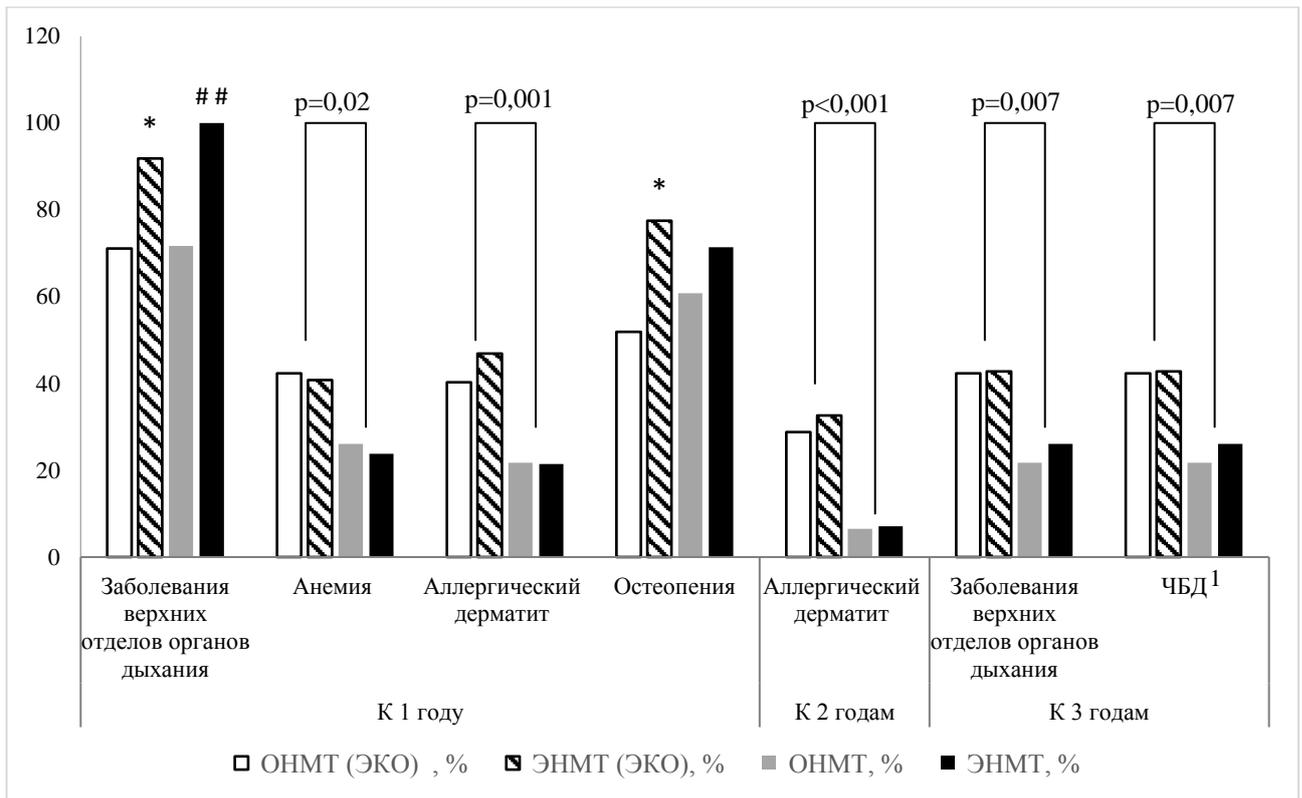
3.3 Анализ соматической патологии недоношенных детей первых трёх лет жизни

Соматическая патология у исследуемых детей в год скорректированного возраста представлена на рисунке 9. У детей, рождённых с применением метода ЭКО анемия ($p=0,02$) и аллергический дерматит по сравнению с детьми ($p=0,001$), зачатыми естественной беременностью. К 2 годам в основной группе, по

сравнению с группой сравнения, превалировал аллергический дерматит ($p < 0,001$). К 3 годам – респираторные заболевания ($p = 0,007$). Частота заболеваний верхних дыхательных путей была статистически значимо выше в группе детей с ЭНМТ: как среди детей, рожденных от ЭКО – 91,8% против 71,1% ($p = 0,01$), так и среди детей, зачатых естественной беременностью – 100% против 71,7% ($p < 0,001$).

При анализе респираторных заболеваний в течение первого года скорректированного возраста выявлено, что 65,4% детей с ОНМТ (ЭКО), 69,6% детей с ЭНМТ (ЭКО) и 2,9% детей группы сравнения были отнесены к часто болеющим детям. Частота «часто болеющих недоношенных детей» по заболеванию верхних отделов органов дыхания (риниты, бронхиты) к году и 2 годам статистически значимо не отличалась между группами. К 3 годам частота «часто болеющих» преобладала в основной группе (42,5% против 23,8%, $p = 0,007$).

Клинические проявления остеопении преобладали у детей, рождённых с ЭНМТ и ЭНМТ (ЭКО), статистически значимые различия выявлены также в основной группе ЭНМТ (ЭКО) и ОНМТ (ЭКО) (77,5% против 51,9%, $p = 0,006$), что связано с большей потребностью данной категории младенцев в кальции, фосфоре, витамине D.



Примечания

1 1P ЧБД – часто болеющие дети по заболеванию верхних отделов органов дыхания;

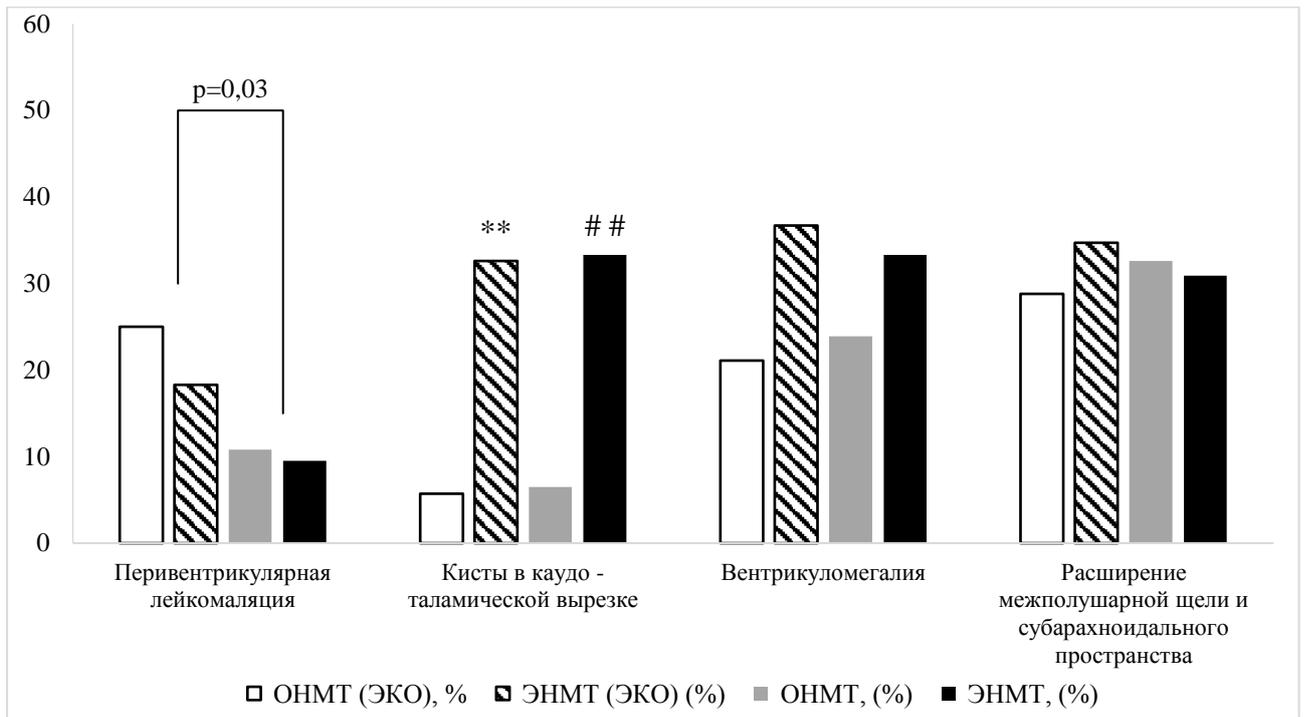
2 p – статистическая значимость различий между группой ЭКО (ЭНМТ+ОНМТ) и группой не ЭКО (ЭНМТ+ОНМТ);

3 * – $p < 0,05$ в группе ЭНМТ (ЭКО) по сравнению с группой ОНМТ (ЭКО);

4 ## – $p < 0,001$ в группе ЭНМТ (не ЭКО) по сравнению с группой ОНМТ (не ЭКО)

Рисунок 9–Соматическая патология недоношенных детей первых трёх лет жизни

Характер патологических изменений на НСГ у недоношенных детей представлен на рисунке 10.



Примечания

1 p – статистическая значимость различий между группой ЭКО (ЭНМТ+ОНМТ) и группой не ЭКО (ЭНМТ+ОНМТ);

2 ** – $p < 0,001$ в группе ЭНМТ (ЭКО) по сравнению с группой ОНМТ (ЭКО);

3 ## – $p < 0,001$ в группе ЭНМТ (не ЭКО) по сравнению с группой ОНМТ (не ЭКО).

Рисунок 10–Виды патологии, обнаруженные на НСГ у недоношенных детей (%)

Таким образом, можно сделать вывод, что у некоторых детей отмечался ряд серьезных заболеваний. У детей с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) по сравнению с детьми с ОНМТ (ЭКО и не ЭКО) чаще встречались кисты в каудо-таламической вырезке: 32,6% против 5,7% в группе ЭКО ($p < 0,001$) и 33,3% против 6,5% в группе не ЭКО ($p < 0,001$). Перивентрикулярная лейкомаляция чаще встречалась в группе детей ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) по сравнению с детьми, зачатыми естественной беременностью: 21,7% (25% - ОНМТ, 18,3% - ЭНМТ) против 10,2% (10,8% - ОНМТ, 9,5% - ЭНМТ), различия статистически значимы ($p = 0,03$).

В отношении неврологических болезней в течение первого года скоррегированного возраста есть отклонение от нормы в 100 % случаев у детей с ОНМТ и ЭНМТ, но преобладало у детей, рождённых с применением метода ЭКО.

Анализ структуры неврологической патологии (Таблица 14), позволил выявить задержку этапов развития в основной и группе сравнения на протяжении

3 лет жизни, проявления выражались в задержке речи, в выработке навыков, в психо-эмоциональной нестабильности. Преобладала патология у детей группы ЭКО (ЭНМТ+ОНМТ): 50,5% против 33,0% ($p=0,02$) у детей первого года жизни, 38,6% против 20,5% ($p=0,007$) у детей второго года жизни, 23,8% против 6,8% у детей третьего года жизни ($p=0,001$). Статистически значимых отличий офтальмологических, хирургических и кардиологических заболеваний не выявлено.

Таблица 14–Неврологическая патология недоношенных детей первых трёх лет жизни

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				Группа сравнения (не ЭКО) n=88				p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49	p ¹	Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42	p ²	
Первого года									
Различные формы гидроцефалии	20 (19,8)	9 (17,3)	11 (22,4)	p=0,52	20 (22,7)	8 (17,4)	12 (28,6)	p=0,21	p=0,62
Задержка этапов развития	51 (50,5)	29 (55,8)	22 (44,9)	p=0,27	29 (33,0)	17 (37)	12 (28,6)	p=0,40	p=0,02
Расстройство вегетативной автономной нервной системы	29 (28,7)	14 (26,9)	15 (30,6)	p=0,68	28 (31,8)	12 (26,1)	16 (38,1)	p=0,23	p=0,64
Детские церебральные параличи	5 (5)	3 (5,8)	2 (4,1)	p=1,00*	6 (6,8)	3 (6,5)	3 (7,1)	p=1,00*	p=0,76*
Другие паралитические синдромы	33 (32,7)	15 (28,8)	18 (36,7)	p=0,39	33 (37,5)	16 (34,8)	17 (40,5)	p=0,58	p=0,49
Различные формы гидроцефалии	3 (3)	2 (3,8)	1 (2)	p=1,00*	3 (3,4)	1 (2,2)	2 (4,8)	p=0,60*	p=1,00*
Второго года									
Задержка этапов развития	39 (38,6)	21 (40,4)	18 (36,7)	p=0,71	18 (20,5)	8 (17,4)	10 (23,8)	p=0,46	p=0,007
Расстройство вегетативной автономной нервной системы	13 (12,9)	7 (13,5)	6 (12,2)	p=0,86	12 (13,6)	7 (15,2)	5 (11,9)	p=0,76*	p=0,88

Продолжение таблицы 14

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				Группа сравнения (не ЭКО) n=88				p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49	p ¹	Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42	p ²	
Детские церебральные параличи	5 (5)	3 (5,8)	2 (4,1)	p=1,00*	6 (6,8)	3 (6,5)	3 (7,1)	p=1,00*	p=0,76*
Другие параличические синдромы	17 (16,8)	8 (15,4)	9 (18,4)	p=0,68	12 (13,6)	7 (15,2)	5 (11,9)	p=0,76*	p=0,54
Различные формы гидроцефалии	3 (3)	2 (3,8)	1 (2)	p=1,00*	3 (3,4)	1 (2,2)	2 (4,8)	p=0,60*	p=1,00*
Третьего года									
Задержка этапов развития	24 (23,8)	14 (26,9)	10 (20,4)	p=0,44	6 (6,8)	3 (6,5)	3 (7,1)	p=1,00*	p=0,001
Расстройство вегетативной автономной нервной системы	7 (6,9)	3 (5,8)	4 (8,2)	p=0,71*	6 (6,8)	2 (4,3)	4 (9,5)	p=0,42*	p=0,98
Детские церебральные параличи	5 (5)	3 (5,8)	2 (4,1)	p=1,00*	6 (6,8)	3 (6,5)	3 (7,1)	p=1,00*	p=0,76*
Другие параличические синдромы	11 (10,9)	6 (11,5)	5 (10,2)	p=1,00*	13 (14,8)	7 (15,2)	6 (14,3)	p=0,90	p=0,42
Примечания									
1 p ¹ – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО)									
2 p ² – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (не ЭКО) и ЭНМТ (не ЭКО)									
3 p ³ – статистическая значимость различий между группами ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) и не ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ)									
4 * Применялся точный критерий Фишера									

Проведён анализ инвалидности в изучаемых группах. В структуре инвалидности (Рисунки 11,12) между группами статистически значимых показателей не выявлено. К году скоррегированного возраста инвалидизирующее заболевание нервной системы – детский церебральный паралич (ДЦП) выявлено у 7 (13,4%) детей, родившихся с ОНМТ (ЭКО), у 5 (10,2%) детей, родившихся с ЭНМТ (ЭКО), у 6 (13,0%) детей с ОНМТ и у 7 (16,6%) детей с ЭНМТ, зачатых естественным путём, без статистически значимых отличий (p=0,560).

Лидирующее место в структуре инвалидности детей с ОНМТ и ЭНМТ занимает ДЦП, что согласуется с литературными данными [100]. У 5,1% недоношенных детей были зарегистрированы ретинопатия недоношенных (РН) 5 степени и частичная атрофия диска зрительного нерва (ЧАДЗН), свидетельствующие о непоправимой утрате зрения. ЧАДЗН зарегистрирована только у детей, рождённых с применением метода ЭКО: с ОНМТ – 1 (1,9%) и с ЭНМТ – 1 (2,0%) ($p=0,186$).

Структура дыхательной патологии: бронхолёгочная дисплазия (БЛД) имели 2 (3,8%) детей с ОНМТ (ЭКО), 2 (4,1%) детей с ЭНМТ (ЭКО), а также дети, зачатые естественной беременностью: с ОНМТ – 1 (2,1%) и с ЭНМТ – 2 (4,7%) без статистически значимых различий ($p=0,842$). Выявлена тяжелая инвалидизирующая патология – нейросенсорная тугоухость (глухота) у 1 (1,9%) ребёнка с ОНМТ (ЭКО) ($p=0,351$). В структуре кардиологической патологии ОАП преобладал у детей, рождённых методом ЭКО (ОНМТ – 1 (1,9%) и ЭНМТ (ЭКО) – 1 (2,0%) ($p=0,186$); дефект межжелудочковой перегородки (ДМЖП) у детей с ОНМТ – 1 (2,1%) ($p=0,285$). В структуре хирургической патологии в основной и группе сравнения статистически значимых различий не выявлено.

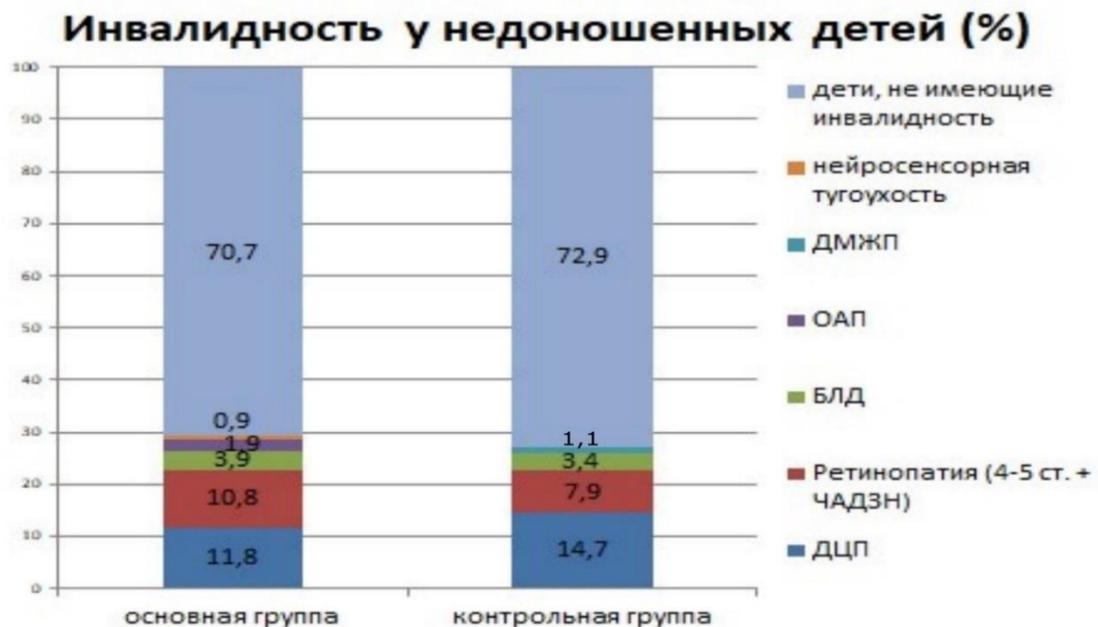


Рисунок 11–Инвалидность у недоношенных детей по группам (%)

Инвалидность общая у недоношенных детей (%)



Рисунок 12– Общая инвалидность у недоношенных детей (%)

В структуре общей инвалидности на первом месте ДЦП–26,5%, патология зрения в виде ретинопатии 4–5ст + ЧАДЗН–18,7%; БЛД-7,3%; ВПС (ОАП, ДМЖП) – 3% и нейросенсорная тугоухость – 0,9%; дети, не имеющие инвалидность – 43,6%.

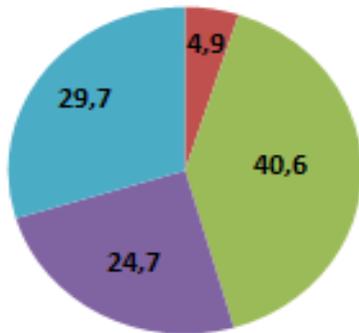
На рисунке 13 (а,б,в) и в таблице 15 представлены данные комплексной оценки состояния здоровья детей основной и группы сравнения, проведён сравнительный анализ групп здоровья у обследованных детей (ОНМТ и ЭНМТ). III группу здоровья (40,6%) имело подавляющее число детей основной группы в 1 год преимущественно за счёт последствий перинатального поражения центральной нервной системы (ПП ЦНС), задержки этапов развития, перивентрикулярной лейкомаляции, аллергического дерматита. В 2 года распределение детей по группам здоровья: II группу здоровья имели больше дети, зачатые естественной беременностью (42% против 20,8%; $p=0,006$), III группу имели больше дети, рождённые после ЭКО (35,6% против 14,8%; $p=0,005$). В 3

года у детей основной группы преобладала III группа здоровья, по сравнению группой сравнения ($p=0,05$).

Таблица 15–Распределение детей по группам здоровья

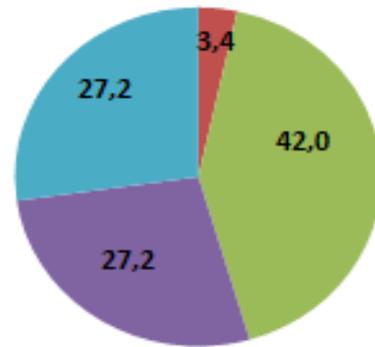
Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				Группа сравнения (не ЭКО) n=88				p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49	p ¹	Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42	p ²	
Первого года									
I	0	0	0	p=0,98	0	0	0	p=0,61	p=0,91
II	5 (5)	3 (5,7)	2 (4,1)		3 (3,4)	2 (4,3)	1 (2,4)		
III	41 (40,6)	21 (40,3)	20 (40,8)		37 (42)	22 (47,8)	15 (35,7)		
IV	25 (24,8)	13 (25,0)	12 (24,4)		24 (27,3)	11 (23,9)	13 (30,9)		
V	30 (29,7)	15 (28,8)	15 (30,6)		24 (27,3)	11 (23,9)	13 (30,9)		
Второго года									
I	5 (5)	3 (5,7)	2 (4,1)	p=0,98	8 (9,1)	4 (8,7)	4 (9,5)	p=0,94	p=1,00*
II	21 (20,8)	10 (19,2)	11 (22,4)		37 (42)	21 (45,6)	16 (38,1)		p=0,006
III	36 (35,6)	19 (36,5)	17 (34,6)		13 (14,8)	7 (15,3)	6 (14,3)		p=0,005
IV	9 (8,9)	5 (9,6)	4 (8,1)		6 (6,8)	3 (6,5)	3 (7,1)		p=1,00
V	30 (29,7)	15 (28,8)	15 (30,6)		24 (27,3)	11 (23,9)	13 (30,9)		p=1,00
Третьего года									
I	12 (11,9)	6 (11,5)	6 (12,2)	p=0,99	13 (14,8)	7 (15,2)	6 (14,2)	p=0,94	p=1,00
II	21 (20,8)	12 (23,0)	9 (18,3)		33 (37,5)	19 (41,3)	14 (33,3)		p=0,05
III	32 (31,7)	16 (30,7)	16 (32,6)		14 (15,9)	7 (15,2)	7 (16,6)		p=0,05
IV	6 (5,9)	3 (5,7)	3 (6,2)		4 (4,5)	2 (4,3)	2 (4,7)		p=1,00*
V	30 (29,7)	15 (28,8)	15 (30,6)		24 (27,3)	11 (23,9)	13 (30,9)		p=1,00
Примечания									
1 p1 – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО)									
2 p2 – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (не ЭКО) и ЭНМТ (не ЭКО)									
3 p3 – статистическая значимость различий между группами ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) и не ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ)									
4 * Применялся точный критерий Фишера									

основная группа (%)



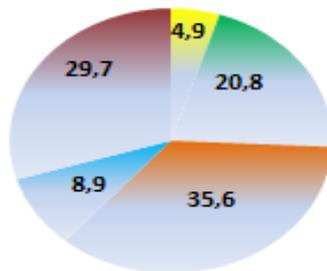
■ I группа ■ II группа ■ III группа
■ IV группа ■ V группа

Группа сравнения(%)



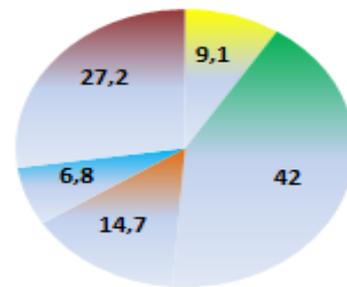
■ I группа ■ II группа ■ III группа
■ IV группа ■ V группа

основная группа (%)



■ I группа ■ II группа ■ III группа
■ IV группа ■ V группа

Группа сравнения(%)



■ I группа ■ II группа ■ III группа
■ IV группа ■ V группа

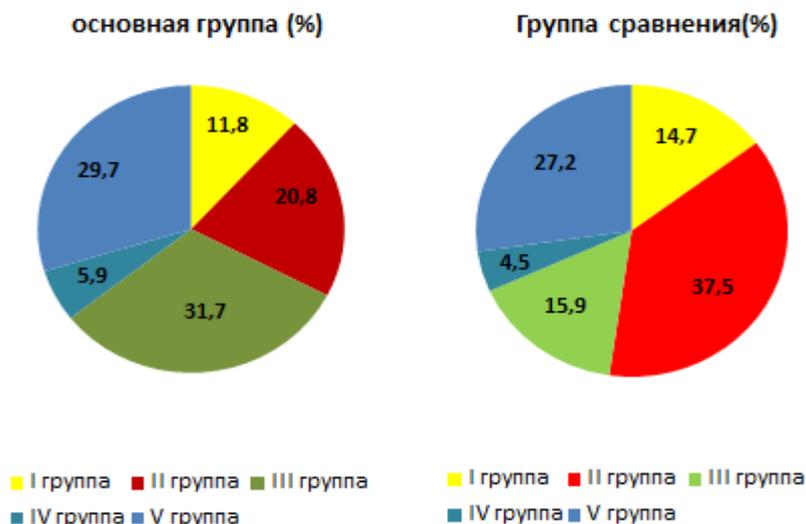


Рисунок 13 – Распределение детей по группам здоровья
а) первого года, б) второго года, в) третьего года жизни

Важную роль в формировании остеопении у детей (ОНМТ и ЭНМТ) играет такой фактор риска, как физическая активность. Методом анкетирования было выявлено, что у детей (ОНМТ и ЭНМТ), рождённых с применением метода ЭКО, преобладала более выраженная гиподинамия, чем у недоношенных детей, зачатых естественной беременностью (таблица 16).

Таблица 16- Физическая активность детей (методом анкетирования)

Физическая активность	Основная группа (ЭКО) n=101				Группа сравнения (не ЭКО) n=88				p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49	p ¹	Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42	p ²	
Низкая	86 (85,2)	42 (80,7)	44 (89,7)	p=0,27*	19 (21,4)	12 (26,1)	7 (16,6)	p=0,28	p<0,001
Средняя	15 (14,8)	10 (19,3)	5 (10,2)		69 (78,6)	34 (73,9)	35 (83,4)		
Примечания									
1 p ¹ – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО)									
2 p ² – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (не ЭКО) и ЭНМТ (не ЭКО)									
3 p ³ – статистическая значимость различий между группами ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) и не ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ)									
4 * – применялся точный тест Фишера									

Снижение показателей физической активности недоношенных детей мамы объясняют психологическим страхом, постоянно носят ребёнка на руках, не давая ему самостоятельно двигаться. Лечебная физкультура проводилась в домашних условиях нерегулярно. Физическая нагрузка у детей (ОНМТ и ЭНМТ) по этим показателям была снижена. Нами также проведено определение физической активности у недоношенных детей первого года жизни скорректированного возраста (для матерей по анкетам адаптирована для наших детей). О гиподинамии свидетельствует сумма менее 21 балла, однако для оптимальной физической активности сумма баллов должна быть на 7 баллов и более превышать указанную границу.

Распространённость гиподинамии среди детей, родившихся с ЭНМТ (ЭКО) и ОНМТ (ЭКО), была выше. Снижение коэффициента речевого развития, ишемия мозга 2 степени, РДС, склонностью к частым более 5 эпизодов в год респираторным патологиям, анемии, аллергический дерматит рассматриваются в составе комплекса факторов риска развития остеопении недоношенных детей.

3.4 Взаимосвязь показателей фосфорно-кальциевого обмена, кальций-регулирующих гормонов, витамина D с остеопенией

В современное время педиатрия ставит перед собой задачи, связанные с проведением профессиональной диагностики некоторых нарушений, связанных с костным метаболизмом. Особенно это проявляется у ребёнка в первое время его жизни. Здесь стоит обратить внимание на возникновение патологии костной системы, которая может быть как приобретённой, так и врождённой [24,128]. Для того чтобы внимательно изучить некоторые явные изменения у детей, стоит обратить внимание и ознакомиться с данными, представленными в таблице 17.

Таблица 17–Частота выявления различных форм изменений костно-суставной системы у новорождённых детей

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				Группа сравнения (не ЭКО) n=88				p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49	p ¹	Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42	p ²	
Изменения тазобедренных суставов									
Физиологическая незрелость	101 (100,0)	52 (100,0)	49 (100,0)	p=1,00	88 (100,0)	46 (100,0)	42 (100,0)	p=1,00	p=1,00
Врождённый вывих	1 (1)	1 (1,9)	0	p=1,00	1 (1,1)	1 (2,1)	0	p=1,00	p=1,00
Изменения костей черепа									
Кефалогематома	2 (2)	0	2 (4,1)	p=0,23	1 (1,1)	1 (2,4)	0	p=1,00	p=1,00
Изменения костей скелета									
Врождённая косолапость	2 (2)	1 (1,9)	1 (2,0)	p=1,00	1 (1,1)	0	1 (2,4)	p=0,47	p=1,00
Воронкообразная деформация грудной клетки	3 (3)	2 (3,8)	1 (2,0)	p=1,00	1 (1,1)	1 (2,1)	0	p=1,00	p=0,62
Примечание: для всех сравнений применялся точный критерий Фишера									

Выявлены патологические и пограничные изменения тазобедренных суставов в виде задержки созревания (более 35% дисплазии). Врождённый вывих встречался с одинаковой частотой у детей с ОНМТ (ОНМТ (ЭКО)–1,9% и ОНМТ 2,1%). Изменения костей черепа и скелета расценивались как проявления физиологической незрелости костной системы.

Были исследованы биохимические показатели фосфорно-кальциевого обмена и его гормональной регуляции у детей. Уровень общего кальция, фосфора, активность щелочной фосфатазы показаны в таблице 18.

Для того, чтобы у ребёнка были оптимальные показатели кальция, фосфора, лучше всего во время беременности постоянно принимать специальные, дополнительные препараты с оптимальным содержанием микронутриентов. Они дают возможность поддержать организм маленького человека. Уровень щелочной фосфатазы и неорганического фосфора статистически между группами не различался ($p > 0,05$). Рассмотрим подробно каждый показатель.

Таблица 18–Результаты биохимического исследования сыворотки крови у недоношенных детей

Показатели	Основная группа (ЭКО) n=101		Группа сравнения (n=88)		p ¹
	ОНМТ (ЭКО) n=52	ЭНМТ (ЭКО) n=49	ОНМТ n= 46	ЭНМТ n=42	
Кальций, ммоль/л	2,36 (2,2; 2,4)	2,22 (2,1; 2,4)	2,36 (2,2; 2,4)	2,24 (2,1; 2,4)	p<0,001
Неорганический фосфор, ммоль/л	1,65 (0,15)	1,63 (0,18)	1,64 (0,15)	1,64 (0,18)	p=0,92
ЩФ, МЕ/л	346,61 (109,21)	353,76 (113,08)	376,04 (141,45)	362,92 (119,77)	p=0,65
Паратгормон, пг/мл	16,5 (15,5; 21,6)	22,5 (17; 24,5)	16,5 (15,5; 22)	22,5 (16,1; 24,5)	p=0,004
Кальцитонин. пг/мл	4,2 (2,8; 4,6)	2,9 (2,5; 4,2)	4,1 (2,8; 4,4)	3 (2,5; 4,4)	p=0,01
Витамин D в год, нг/мл	28 (27,5; 32)	26 (22; 28)	28 (26; 32)	27 (22; 30)	p=0,01
Витамин D в 2 года, нг/мл	42 (37,5; 46)	42 (34; 45)	42,5 (38; 46)	40 (34,2; 45)	p=0,08
С-концевые телопептиды, нг/мл.	0,77 (0,75; 0,82)	0,72 (0,67; 0,76)	0,77 (0,75; 0,81)	0,77 (0,74;0,88)	p=0,001
Примечания					
1 Для количественных показателей, распределение которых соответствует нормальному закону (представлены как M(SD)), применялся однофакторный ANOVA.					
2 Для количественных показателей, распределение которых отлично от нормального (представлены как Med(Q1; Q3)), применялся критерий Краскела-Уоллиса.					
3 апостериорные сравнения проводились критерием Данна					

Уровень содержания кальция в группах недоношенных детей значимо зависит от групповой принадлежности $\eta^2=3\%$, $p<0,001$. На рисунке 14 видно, что в группах детей, рожденных с ОНМТ и ОНМТ (ЭКО) он достаточно близок и соответственно значимо не различается (2,36 (2,2; 2,4) ммоль/л и 2,36 (2,2; 2,4) ммоль/л; $p=0,78$). То же самое в группах детей, рожденных с ЭНМТ и ЭНМТ (ЭКО) (2,22(2,1; 2,4) ммоль/л и 2,24(2,1; 2,4) ммоль/л; $p=0,45$). Уровень кальция в группе детей, рожденных с ОНМТ статистически не значимо ($p=0,16$) отличается от детей, рожденных с ЭНМТ. В группе детей с ОНМТ (ЭКО) уровень кальция был статистически значимо выше, чем в группе детей с ЭНМТ (ЭКО) ($p=0,01$).

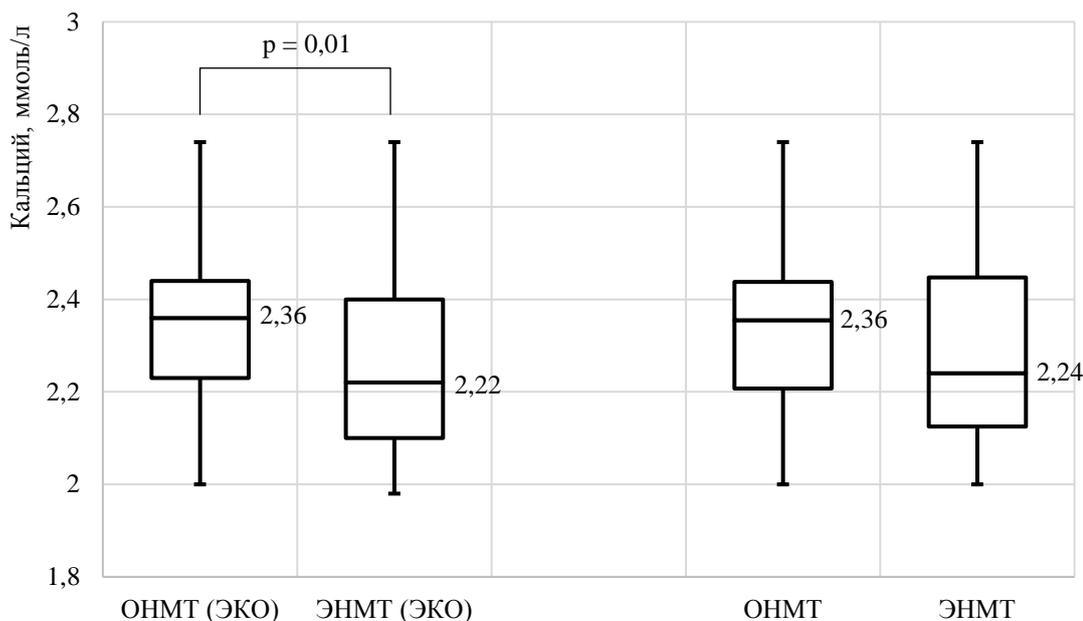


Рисунок 14—Уровень содержания кальция у групп недоношенных детей, Med(Q1; Q3), min. max

Уровень неорганического фосфора в группах недоношенных детей не различался ($F=0,15$, $p=0,92$) и сведен к общему среднему уровню 1,64 (0,18) ммоль/л.

Показатель щелочной фосфатазы в группах недоношенных детей значимо не различался ($F=0,54$, $p>0,65$) и сведен к общему среднему уровню 359,6 (121,1) МЕ/л.

Содержание паратгормона и кальцитонина повышалось внутри групп в зависимости от ЭНМТ и от ОНМТ, а между основной и группой сравнения (ЭКО и не ЭКО) оставалось без статистически значимых различий (Рисунок 15,16).

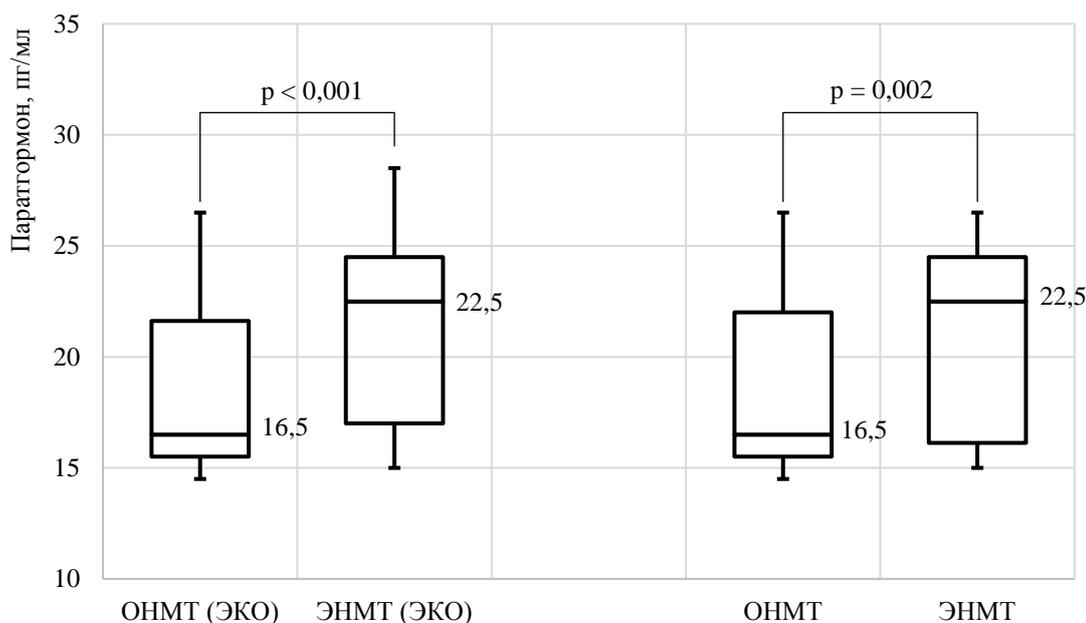


Рисунок 15—Уровень содержания паратгормона в пг/мл

Зависимость уровня содержания паратгормона от групповой принадлежности детей более существенная – $\eta^2=13\%$, $p=0,004$. На рисунке 15 видно, что в группах детей, рождённых с ОНМТ и ОНМТ (ЭКО) он достаточно близок и значимо не различается (16,5(15,5; 21,6) пг/мл и 16,5(15,5; 22,0) пг/мл; $p=0,69$). То же самое имеет место и в группах детей с ЭНМТ и ЭНМТ (ЭКО) (22,5(17,0; 24,5) пг/мл и 22,5(16,1; 24,5) пг/мл; $p=0,66$). При этом в обеих группах детей с ЭНМТ средний уровень содержания паратгормона значимо ($p<0,001$ – ЭКО и $p=0,002$ – не ЭКО) выше, чем в группах детей с ОНМТ.

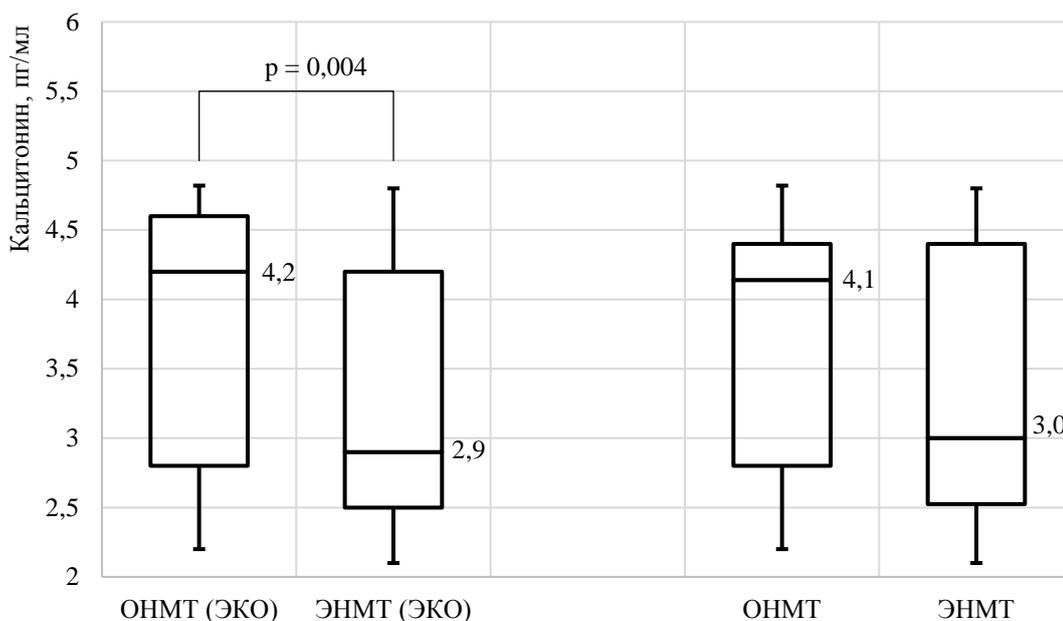


Рисунок 16—Уровень содержания кальцитонина у групп недоношенных детей

Уровень содержания кальцитонина в разных группах недоношенных детей значительно различался - $\eta^2=5\%$, $p=0,01$. На рисунке 16 видно, что в группах ОНМТ и ОНМТ (ЭКО) он достаточно близок и значимо не различается (4,1(2,8;4,4) пг/мл и 4,2 (2,8;4,6) пг/мл; $p=0,50$). То же самое имеет место и в группах детей с ЭНМТ и ЭНМТ (ЭКО) (3 (2,5; 4,4) пг/мл и 2,9 (2,5;4,2) пг/мл; $p=0,80$). В группе детей не ЭКО не выявлено статистически значимых различий между детьми с ОНМТ и ЭНМТ ($p=0,07$), в то же время содержание кальцитонина в группе детей с ОНМТ (ЭКО) было статистически значимо выше, чем в группе ЭНМТ (ЭКО) ($p=0,004$).

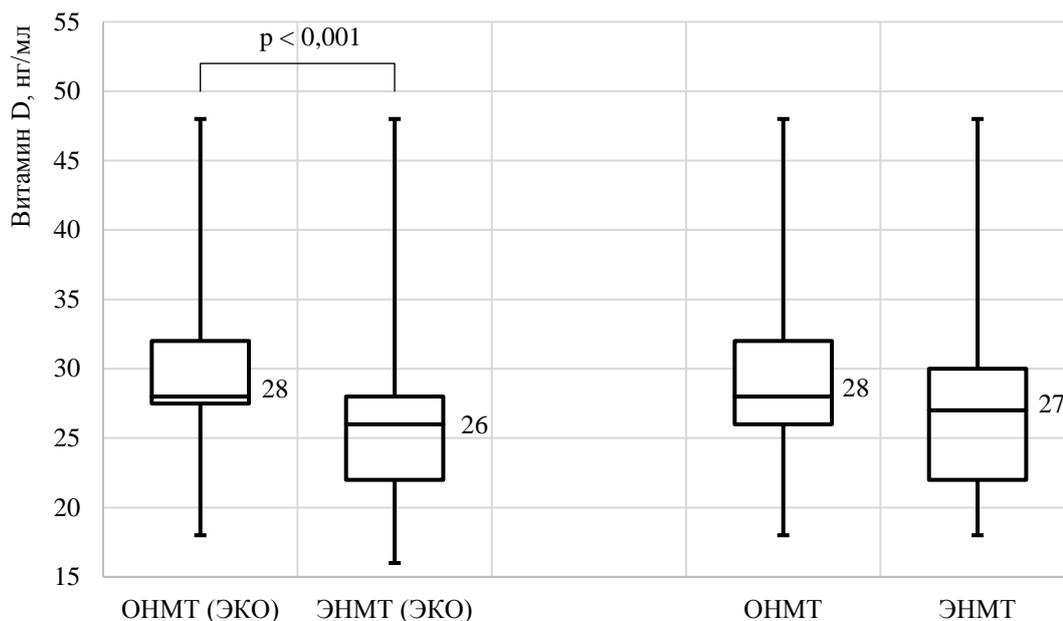


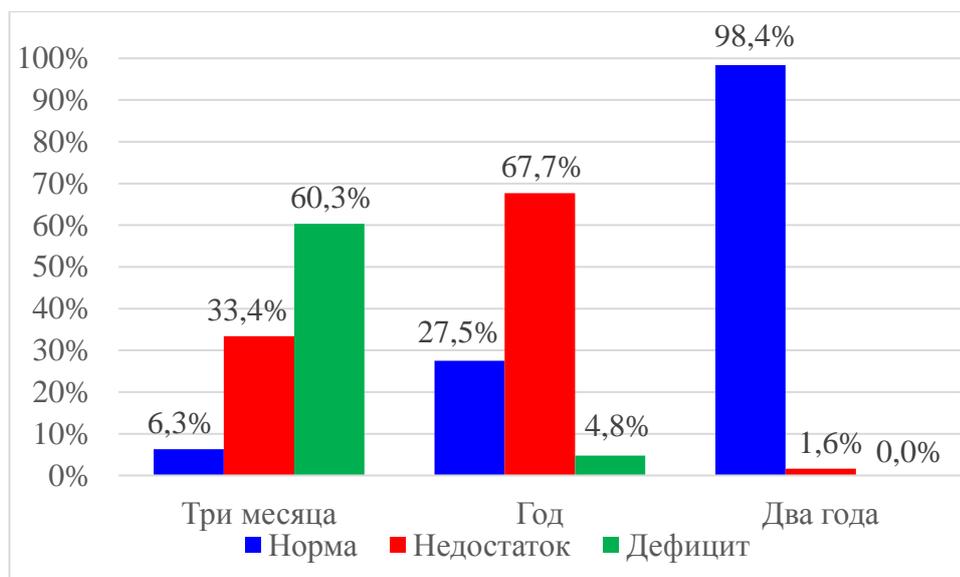
Рисунок 17–Уровень содержания витамина D у групп недоношенных детей к году скоррегированного возраста

Уровень содержания витамина D в год значительно различается по группам детей, хотя зависимость достаточно слабая – $\eta^2=8\%$, $p=0,01$. На рисунке 17 видно, что в группах детей с ОНМТ и ОНМТ (ЭКО) средний уровень витамина D практически одинаков (28(27,5; 32) нг/л и 28(26; 32) нг/л) и, соответственно, значительно не различается ($p=0,42$). То же самое имеет место в группах детей с ЭНМТ и ЭНМТ (ЭКО) (26(22; 28) нг/л и 27(22; 30) нг/л; $p=0,36$). В группе детей не ЭКО не выявлено статистически значимых различий содержания витамина D в год между ОНМТ и ЭНМТ ($p=0,07$), в то время содержание витамина D в группе ОНМТ (ЭКО) было статистически значимо выше, чем в группе ЭНМТ (ЭКО) ($p<0,001$).

Уровень содержания витамина D в два года по группам детей значительно не различается – $p=0,08$. Это позволяет свести его к общему среднему уровню 42(36;45) нг/л.

Для получения обобщенной картины мы, сообразно отклонению от возрастной нормы, произвели в каждой возрастной категории недоношенных детей деление на три категории – «норма», «недостаток», «дефицит» с

расчётом относительной частоты их встречаемости. Результаты приведены на рисунке 18.



Примечания

- 1 По оси абсцисс – этапы наблюдения.
- 2 По оси ординат – доля данной категории в % от общего числа детей (получали профилактическую дозировку согласно национальной программе).

Рисунок 18–Показатели уровня содержания витамина D у недоношенных детей (ОНМТ и ЭНМТ)

На рисунке 18 мы видим, как менялся уровень витамина D в зависимости от возраста недоношенных детей. В 3 месяца скорректированного возраста дефицит наблюдался у 60,3% недоношенных детей, недостаток у 33,4%, нормальное содержание уровня витамина D только у 6,3% детей. К году скорректированного возраста дефицит витамина D–4,8%, недостаток–67,7%, нормальное содержание–27,5. К 2 годам дефицит не выявлялся, недостаточность витамина D в крови 1,6%, нормальное содержание 98,4%.

Такой уровень снижения витамина D в возрасте 3 месяцев и к году скорректированного возраста говорит об интенсивности роста и недостаточности витамина D в этот период. К году недоношенный ребёнок вырастает в длину и его рост становится 70–80 см (рост увеличивается на 40–50 см), масса тела увеличивается к году в шесть – восемь раз, поэтому недоношенные дети нуждаются в приёме данного витамина в зависимости от выявленного дефицита.

Уровень содержания С-концевых телопептидов коллагена I типа представлено на рисунке 19.

Уровень содержания С-концевых телопептидов по группам недоношенных детей значимо, но относительно слабо различается – $\eta^2=9\%$, $p=0,001$. Как видно на рисунке 19, в группе детей, рожденных с ЭНМТ (ЭКО) он значимо ниже, чем в трех остальных – $0,72(0,67; 0,76)$ нг/мл против $0,77(0,75;0,81)$ нг/мл в группе ОНМТ ($p=0,001$), против $0,77(0,75;0,82)$ нг/мл в группе ОНМТ (ЭКО) ($p<0,001$) и против $0,77(0,74;0,88)$ нг/мл в группе ЭНМТ ($p<0,001$). Однако сам показатель во всех сравниваемых группах был ниже возрастной нормы ($0,9–4,0$ нг/мл), что свидетельствует о резком замедлении процессов роста костной ткани и костного ремоделирования у недоношенных детей.

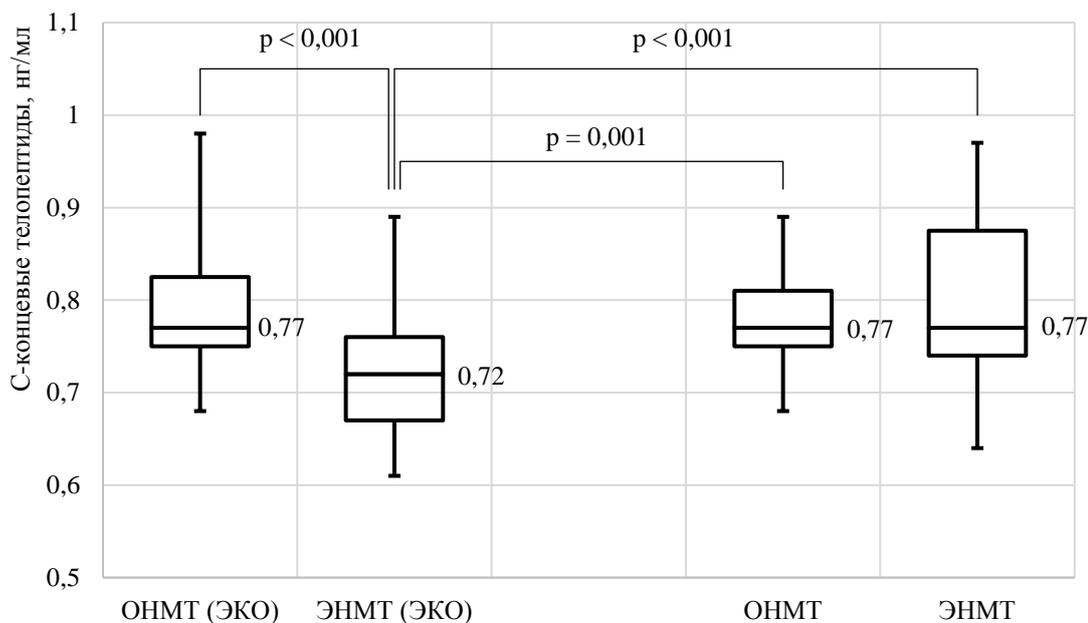


Рисунок 19—Уровень содержания С-концевых телопептидов коллагена I типа у групп недоношенных детей

Следовательно, в группе детей, рождённых с ОНМТ (ЭКО) уровень кальция был статистически значимо выше, чем в группе детей с ЭНМТ (ЭКО) ($p=0,01$). У детей, рождённых с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) средний уровень содержания паратгормона значимо выше, чем в группах детей с ОНМТ (ЭКО и не ЭКО). В группе детей, рождённых с ОНМТ(ЭКО) содержание кальцитонина было статистически значимо выше, чем в группе детей с ЭНМТ (ЭКО). Содержание

витамина D в группе ОНМТ (ЭКО) было статистически значимо выше, чем в группе ЭНМТ (ЭКО) ($p < 0,001$). В группе детей с ЭНМТ (ЭКО) С-концевые телопептиды коллагена I типа значимо ниже, чем у детей с ЭНМТ, ОНМТ и ОНМТ (ЭКО). Статистически значимых различий по уровню фосфора и ЩФ не выявлено.

К году скорректированного возраста дефицит витамина D в четырёх группах составил 4,8%, недостаток – 67,7%, нормальное содержание – 27,5%. Назначать витамин D необходимо от уровня данного показателя в крови.

3.5 Роль генетических факторов в нарушении костного метаболизма у недоношенных детей, в том числе, рождённых с применением метода экстракорпорального оплодотворения

Нами были проведены для выявления генетических факторов риска остеопении анализы распределения частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs1800012 гена COL1A1, rs1544410 гена VDR, rs2228570 гена VDR, rs1815739 гена ACTN3 и rs121913624 гена MYH7, вносящих вклад в развитие мышечной ткани. Анализы распределения частот генотипов и аллелей проведены при помощи метода 2×2 и программы «SNPstats» [12,42,121,133].

Анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1800012 гена COL1A1.

Результаты анализа распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1800012 гена с помощью таблицы сопряженности 2×2 с поправкой Йейтса представлены в таблице 19.

Таблица 19–Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1800012 гена COL1A1

Генотип/аллель	Группа сравнения (n=88)		Основная группа (ЭКО) (n=101)		p(x ²)
	n	p ⁱ +s ⁱ	n	p ⁱ +s ⁱ	
T/T	7	0,07±0,02	26	0,12±0,03	0,003 (8,13)
G/T	45	0,53±0,05	42	0,48±0,05	0,7 (0,09)
G/G	36	0,4±0,05	33	0,4±0,05	0,14 (2,2)
*T	59	0,34±0,03	94	0,46±0,03	0,006 (7,15)
*G	117	0,66±0,03	108	0,54±0,03	0,006 (7,15)

В результате сравнительного анализа распределения частот генотипов и аллелей по гену COL1A1 было выявлено статистически значимое различие в исследуемых выборках по частоте гомозиготного генотипа T/T ($\chi^2=8,13$, $p=0,003$). В группе недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, частота данного генотипа составляла 12%, что выше, чем в группе недоношенных детей, зачатых естественным путём (7%). Также в основной группе статистически значимо выше частота мутантного аллеля *T – 46%, чем в группе сравнения – 34%. При этом, в группе сравнения детей выше частота протективного аллеля *G – 66%, а в группе детей, рождённых с применением метода ЭКО – 54% ($\chi^2=7,15$, $p=0,006$).

Полученные результаты говорят о том, что повышение уровня белка коллагена I типа, обусловленное мутантным аллелем *T, привело к нарушению правильного соотношения субъединиц в молекуле коллагена, ухудшению его прочностных свойств и, как следствие, к снижению прочности и гибкости соединительной ткани.

Анализ полиморфных вариантов в программе позволяет оценить вклад каждого отдельного аллеля в развитие заболевания.

Протективное влияние генотипа и аллеля определяется при отношении шансов (ОШ) и при значении доверительного интервала (ДИ) меньше 1. Рисковое влияние генотипа и аллеля определяется при отношении шансов больше 1. SNP-

анализ полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 проводился с помощью программы «SNPstats» (Таблица 20).

Таблица 20–SNP–анализ полиморфного варианта rs1800012 гена COL1A1

Модель	Генотип	Группа сравнения (n=88)	Основная группа (ЭКО) (n=101)	ОШ (95% ДИ)	p	AIC
Кодоминантная	G/G	41 (39,8%)	35 (28,5%)	1,00	0,018	309,5
	G/T	53 (51,5%)	62 (50,4%)	1,37 (0,77-2,45)		
	T/T	9(8,7%)	26 (21,1%)	3,38 (1,40-8,18)		
Доминантная	G/G	41 (39,8%)	35 (28,5%)	1,00	0,072	312,3
	G/T – T/T	62 (60,2%)	88 (71,5%)	1,66 (0,95-2,90)		
Рецессивная	G/G – G/T	94 (91,3%)	97 (78,9%)	1,00	0,0087	308,6
	T/T	9 (8,7%)	26 (21,1%)	2,80 (1,25–6,29)		
Сверхдоминантная	G/G – T/T	50 (48,5%)	61 (49,6%)	1,00	0,88	315,5
	G/T	53 (51,5%)	62 (50,4%)	0,96 (0,57-1,62)		
Лог-аддитивная	-	-	-	1,70 (1,14-2,54)	0,0082	308,5

SNP-анализ полиморфного варианта rs1800012 гена COL1A1 показал три статистически значимых модели взаимодействия аллелей: кодоминантную, рецессивную и лог-аддитивную, каждая из которых свидетельствует о рисковом влиянии мутантного генотипа T/T и аллеля *T на развитие соединительной ткани. Однако, в соответствии с критериями отбора модели по наименьшему AIC и $p < 0,05$, наиболее подходящей в данном случае является лог-аддитивная модель взаимодействия ($p = 0,0082$, $AIC = 308,5$), которая свидетельствует о том, что наличие двух мутантных аллелей *T увеличивает риск развития нарушения соединительной ткани в два раза по сравнению с одним аллелем *T.

В таблице 21 представлен анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs 1544410 гена VDR с помощью таблицы сопряженности 2x2 с поправкой Йейтса на непрерывность.

Таблица 21–Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1544410 гена VDR

Генотип/аллель	Группа сравнения (n=88)		Основная группа (ЭКО) (n=101)		p(x ²)
	n	p ⁱ +s ⁱ	n	p ⁱ +s ⁱ	
В/В	18	0,17±0,03	33	0,35±0,04	0,004(7,83)
В/b	32	0,46±0,05	28	0,31±0,04	0,023 (5,4)
b/b	38	0,37±0,05	40	0,34±0,04	0,772 (0,085)
*В	68	0,4±0,03	94	0,50±0,03	0,04 (4,22)
*b	108	0,6±0,03	108	0,50±0,03	0,04 (4,22)

Как показывают данные проведенного анализа, частота аллеля *b в группе сравнения составляла 60% при 50% в группе недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО. Гетерозиготный генотип В/b встречался в группе недоношенных детей, рождённых естественным путем, с частотой 46%, а в группе детей, рождённых с применением метода ЭКО, с частотой 31%, это связано с протективной функцией аллеля *b, который характеризуется нормальным уровнем образования рецептора к витамину D, что приводит к умеренной работе последнего и не влияет на синтез изоформ коллагена в соединительной ткани.

Что касается основной группы, то в данном случае речь идёт о высоких показателях частоты мутантного аллеля *В (50%, $x^2=4,22$, $p=0,04$; в группе сравнения 40%) и гомозиготного по мутантному аллелю генотипа В/В ($x^2=7,83$, $p=0,006$; частота встречаемости 35%; в группе сравнения частота встречаемости 17%).

SNP-анализ полиморфного варианта rs1544410 гена VDR

Анализ полиморфного варианта rs1544410 гена VDR был проведён с помощью программы «SNPstas». Результаты анализа представлены в таблице 22.

Таблица 22–SNP-анализ полиморфного варианта rs1544410 гена VDR

Модель	Генотип	Группа сравнения	Основная группа (ЭКО)	ОШ (95% ДИ)	p	AIC
Кодоминантная	b/b	38 (36, 9%)	42 (34,1%)	1,00	0,0044	306,7
	B/b	47(45,6%)	37 (30,1%)	0,71 (0,39-1,32)		
	B/B	18 (17,5%)	44 (35,8%)	2,21 (1,10-4,46)		
Доминантная	b/b	38 (36,9%)	42 (34,1%)	1,00	0,67	315,3
	B/b– B/B	65 (63,1%)	81 (65,8%)	1,13 (0,65-1,95)		
Рецессивная	b/b– B/b	85 (82,5%)	79 (64,2%)	1,00	0,0018	305,8
	B/B	18 (17,5%)	44 (35,8%)	2,63 (1,40-4,93)		
Сверхдоминантная	b/b– B/B	56 (54,4%)	86 (69,9%)	1,00	0,016	309,7
	B/b	47 (45,6%)	37 (30,1%)	0,51 (0,30-0,89)		
Лог-аддитивная	-	-	-	1,41 (1,00-1,97)	0,045	311,5

Анализируя данные таблицы, мы выявили статистически значимые модели взаимодействия: рецессивную ($p=0,0018$, $AIC=305,8$, $ОШ=2,63$, $ДИ=1,40-4,93$) и кодоминантную ($p=0,0044$, $AIC=306,7$, $ОШ=2,21$, $ДИ=1,10-4,46$).

По показателям кодоминантной модели взаимодействия мы видим, что генотип B/B увеличивает риск возникновения патологии соединительной ткани независимо от остальных генотипов. Также статистически значимой моделью взаимодействия признана рецессивная по наименьшему критерию Акаике (AIC). Согласно этой модели для проявления заболевания требуются оба варианта непротективных аллелей, т.е. мутантный гомозиготный генотип B/B.

Анализ распределения генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1815739 гена ACTN3

Результаты анализа распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1815739 гена ACTN3 с помощью таблицы сопряженности 2x2 с поправкой Йейтса на непрерывность представлены в таблице 23.

Таблица 23–Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1815739 гена ACTN3

Генотип/аллель	Группа сравнения (n=88)		Основная группа (ЭКО) (n=101)		p(x ²)
	n	p ⁱ +s ⁱ	n	p ⁱ +s ⁱ	
R/R	32	0,34±0,04	35	0,37±0,04	0,749 (0,103)
R/X	53	0,63±0,04	61	0,58±0,04	0,493 (0,472)
X/X	3	0,03±0,01	5	0,05±0,02	0,312 (1,023)
*R	119	0,66±0,03	131	0,66±0,03	0,937 (0,006)
*X	59	0,34±0,03	71	0,34±0,03	0,937 (0,006)

Анализ распределения частот генотипов и аллелей не показал статистически значимых значений по мутантному генотипу X/X (x²=1,023, p=0,312,), в группе сравнения детей данный генотип встречался с частотой 3%, а в основной группе детей – у 5% индивидов. Распределение протективного генотипа R/R также не показало статистически значимых различий среди обследуемых групп недоношенных детей (x²=0,103, p=0,749,), в группе сравнения данный генотип встречался с частотой 35%, а в основной группе у 45% индивидов.

SNP-анализ полиморфного варианта rs1815739 гена ACTN3

Результаты SNP-анализа полиморфного варианта rs1815739 гена ACTN3, проведенного с помощью программы «SNPstas», представлены в таблице 24.

Таблица 24–SNP-анализ полиморфного варианта rs1815739 гена ACTN3

Модель	Генотип	Группа сравнения	Основная группа (ЭКО)	ОШ (95% ДИ)	p	AIC
Кодоминантная	R/R	35 (34%)	46 (37,4%)	1,00	0,46	316
	R/X	65(63,1%)	70 (56,9%)	0,82 (0,47-1,43)		
	X/X	3 (2,9%)	7 (5,7%)	1,78 (0,47-7,36)		
Доминантная	R/R	35 (34%)	46 (37,4%)	1,00	0,59	315,2
	R/X– X/X	68 (66%)	77 (62,6%)	0,86 (0,50-1,49)		
Рецессивная	R/R – R/X	100 (97,1%)	116 (94,3%)	1,00	0,3	314,5
	X/X	3 (2,9%)	7 (5,7%)	2,01 (0,51–7,99)		
Сверхдоминантная	R/R – X/X	38 (36,9%)	53 (43,1%)	1,00	0,34	314,6
	R/X	65 (63,1%)	70 (56,9%)	0,77 (0,45-1,32)		
Лог-аддитивная	-	-	-	0,98 (0,61-1,57)	0,93	315,5

Из приведённых данных видно, что исследуемые группы не различались по частоте генотипов и аллелей полиморфного варианта rs1815739 гена ACTN3. Учитывая биологическую значимость и множественность эффектов этого полиморфного варианта, нельзя ожидать существования сильной связи между имеющимся мутантным аллелем и серьёзными осложнениями, т.к. на правильную работу мышц (на что и влияет анализируемый вариант) оказывают влияние многие другие факторы. В связи с этим для дальнейшего изучения данного SNP стоит рассмотреть его во взаимодействии с другими аллелями.

Анализ сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов COL1A1, VDR

Для выявления взаимодействия продуктов генов COL1A1, VDR у недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, был проведён анализ сочетаний генотипов полиморфных вариантов данных генов.

Было проанализировано 9 из 9 возможных сочетаний попарного сравнения генотипов генов COL1A1(rs1800012 и VDR (rs1544410, BsmI) в обследуемых группах. Результаты анализа представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Распределение частот сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов COL1A1 (rs1800012) и VDR (rs1544410, BsmI)

Группа сравнения (n=88)				Основная группа (ЭКО) (n=101)				p(x ²)
COL1A1	VDR(BsmI)	n	p ⁱ	COL1A1	VDR(BsmI)	n	p ⁱ	
				1				
G/G	b/b	19	0,46	G/G	b/b	10	0,41	0,021 (5,33)
G/G	B/b	16	0,39	G/G	B/b	13	0,54	0,19 (1,72)
G/G	B/B	6	0,15	G/G	B/B	14	0,05	0,14 (2,14)
G/T	b/b	11	0,34	G/T	b/b	18	0,38	0,81 (0,05)
G/T	B/b	14	0,46	G/T	B/b	10	0,28	0,06 (3,39)
G/T	B/B	10	0,2	G/T	B/B	11	0,34	0,1 (2,57)
T/T	b/b	4	0,2	T/T	b/b	9	0,36	0,06 (3,5)
T/T	B/b	7	0,7	T/T	B/b	8	0,32	0,9 (0,008)
T/T	B/B	1	0,1	T/T	B/B	8	0,32	0,03 (4,49)

Сравнительный анализ распределения частот сочетаний генотипов полиморфного варианта COL1A1(rs1800012) и VDR (rs1544410, BsmI) показал статистически значимое различие в исследуемых выборках по наличию у индивидов гомозиготных генотипов по мутантным аллелям *Т и *В ($x^2=4,49$, $p=0,03$). Такое сочетание генотипов встречалось в выборке недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, с частотой 32%, а в группе недоношенных детей, зачатых естественным путём, – только 10%.

Полученный результат демонстрирует влияние повышенной экспрессии белка коллагена, обусловленного мутантным аллелем *Т, и более активной экспрессией гена VDR, обусловленного мутантным аллелем *В. В результате увеличивается риск нарушений строения и развития детей основной группы (группы ЭКО) вследствие более активного ингибирования нормального синтеза коллагена.

В группе сравнения статистически значимо выше частота гомозиготных по протективным аллелям генотипов G/G и b/b ($\chi^2=5,33$, $p=0,021$), что коррелирует с нормальной экспрессией коллагена, обусловленной аллелем *G, и правильной регуляцией синтеза изоформ коллагена, характеризующаяся аллелем *b гена VDR, что предупреждает развитие нарушений соединительной ткани.

Таким образом, выявлено статистически значимое повышение частоты гомозиготного генотипа T/T ($\chi^2=8,13$, $p=0,0053$) и непротективного аллеля *T ($\chi^2=7,15$, $p=0,0083$) полиморфного варианта rs1800012 гена COL1A1 в группе недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО. Мутантный аллель *T ассоциирован с нарушением правильного соотношения субъединиц в молекуле коллагена, приводящим к ухудшению его прочностных свойств и, как следствие, к снижению прочности и гибкости соединительной ткани. Выявлена лог-аддитивная модель взаимодействия аллелей, показывающая, что два мутантных аллеля *T увеличивают риск развития нарушений в соединительной ткани всего организма в два раза по сравнению с наличием одного аллеля в генотипе.

Получены статистически значимые различия в исследуемых группах по полиморфному варианту rs1544410 гена VDR. В основной группе значительно чаще встречался гомозиготный генотип B/B ($p=0,005$, $\chi^2=7,83$) и непротективный аллель *B ($\chi^2=4,22$, $p=0,04$), который характеризуется более активной экспрессией гена, что привело к увеличению образования коллагена. Согласно рецессивной модели взаимодействия аллелей для проявления заболевания требуются оба варианта непротективных аллелей, т.е. мутантный гомозиготный генотип B/B., но с процедурой метода ЭКО выявленные генетические различия не связаны, эти сочетания аллелей генов наследуются от родителей.

Таким образом, риск полиморфизма варианта rs1544410 гена VDR нарушения костного метаболизма достоверно выявлен у 35% недоношенных детей основной группы, а по полиморфному варианту rs1800012 гена COL1A1 – у 54% детей.

3.6 Анализ состояния прочности костей по результатам скрининга ультразвуковой денситометрии у недоношенных детей

У 189 недоношенных детей обследуемой группы было проведено исследование прочности костей. Что касается возрастных характеристик, то в данном случае речь шла о детях приблизительно трёхлетнего возраста. В случае, если речь идет о снижении прочности – SOS менее 10%, клиническое значимое снижение прочности кости – при SOS менее 3%. С помощью современной программы аппарата был рассчитан Z-критерий (Z-score), который описывает прочность костей детей по отношению к средневозрастной норме детей того же пола и возраста (в единицах SD- стандартного отклонения). Таким образом, было диагностировано уменьшение прочности кости, когда показатель критерия Z-score меньше минус 1SD. Результаты по Z-score сопоставлялись с базой данных прибора, по SOS - с российскими центильными таблицами SOS для детей раннего возраста, разработанными Крутиковой Н.Ю. [39,177]. При этом методе исследования в соответствии с прилагаемой инструкцией применялся специальный датчик аппарата, который располагали между пяткой и коленным суставом. Продолжительность измерения одного участка скелета составляла 1 минуту. Снижение скорости звука менее 5 перцентиля (Z-score ниже -2 SD) расценивалось как патология (Таблица 26).

Таблица 26–Прочность кости по Z-score у недоношенных детей

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				Группа сравнения (не ЭКО) n=88				p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49	p ¹	Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42	p ²	
Норма ($> -1SD$)	39 (38,6)	25 (48,1)	14 (28,5)	p=0,08	58 (65,9)	32 (69,5)	26 (61,9)	p=0,74	p<0,001
Снижение ($< -1SD$)	49 (48,5)	23 (44,2)	26 (53,0)		21 (23,8)	10 (21,8)	11 (26,2)		p<0,001
Снижение ($< -2SD$)	13 (12,8)	4 (7,8)	9 (18,4)		9 (10,2)	4 (8,7)	5 (11,9)		p=0,57
Примечания									
1 p ¹ – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО)									
2 p ² – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (не ЭКО) и ЭНМТ (не ЭКО)									
3 p ³ – статистическая значимость различий между группами ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) и не ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ)									

Сопоставив показатели разных групп детей, мы выявили, что у большинства детей (ОНМТ и ЭНМТ), зачатых естественной беременностью, были нормальные значения SOS по сравнению с детьми, рождёнными с применением метода ЭКО (65,9% против 38,6%) ($p < 0,001$). Наблюдалось снижение прочности кости ($SOS < 10 \text{ ‰}$ и $> 3 \text{ ‰}$) у 48,5% детей группы ЭКО и у 23,8% группы не ЭКО ($p < 0,001$). Снижение прочности кости ($SOS < 3 \text{ ‰}$) наблюдалось у 12,8% детей группы ЭКО и 10,2% группы не ЭКО ($p = 0,57$).

Таблица 27–Показатели костной прочности Z-score у обследованных детей (SD)

Показатели	Основная группа (ЭКО) n=101		Группа сравнения (не ЭКО) (n=88)	
	ОНМТ (ЭКО) n=52	ЭНМТ (ЭКО) n=49	ОНМТ n= 46	ЭНМТ n=42
M(SD)	-0,4(0,9)	-0,7(1,0)	-0,1(0,9)	-0,6(0,9)
Min/ max	-3,2 /2,6	-3,6/ 1,8	-3,0/2,6	-3,6/2,4

Сравнивая показатели костной прочности (Таблица 27) с литературными данными [38,39,40], мы видим, что показатель Z-score характерен для доношенных детей в возрасте ближе к 1,5–2 годам (нашим детям 3 года), что ещё раз характеризует снижение костной прочности у недоношенных детей, рождённых с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) и ОНМТ (ЭКО и не ЭКО). Во время развития ребёнка происходит поэтапное нарастание прочности костей [38]. Показатели средних значений SOS представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Среднее значение SOS у недоношенных детей, м/с

Показатели	Основная группа (ЭКО) n=101		Группа сравнения (не ЭКО) (n=88)	
	ОНМТ (ЭКО) n=52	ЭНМТ (ЭКО) n=49	ОНМТ n= 46	ЭНМТ n=42
M(SD)	3020(55,8)	3008(50,8)	3010(50,3)	3012(38,4)
Min/ max	2976/3100	2887/3050	2989/3152	2986/3055

Дальнейший анализ проводился при сопоставлении индивидуальных значений SOS большеберцовой кости с центильными таблицами средневозрастных показателей SOS [39] и выявил снижение прочности кости (SOS). Выявлено снижение (SOS <10 ‰ и > 3‰) 48,5% у недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, в отличие от детей, зачатых естественной беременностью 23,8% (p<0,001).

3.7 Особенности вскармливания недоношенных детей

Проведён анализ вскармливания недоношенных детей в течение первого года жизни, результаты представлены в таблице 29. Следует подчеркнуть, что установлены важные отличия вида вскармливания детей, в зависимости от рождения с помощью ВРТ или при естественном зачатии. Дети основной группы (ЭКО) находились на искусственном и смешанном вскармливании, а дети группы сравнения – на грудном вскармливании.

Таблица 29–Вскармливание недоношенных детей на первом году жизни

Факторы	Основная группа (ЭКО) n=101				Группа сравнения (не ЭКО) n=88				p ³ (ЭКО/ не ЭКО)
	Всего	ОНМТ n=52	ЭНМТ n=49	p ¹	Всего	ОНМТ n=46	ЭНМТ n=42	p ²	
Грудное	9 (8,9)	3 (5,7)	6 (12,2)	p=0,35	32 (36,4)	15 (32,6)	17 (40,4)	p=0,70	p<0,001
Искусствен- ное	62 (61,4)	35 (67,4)	27 (55,1)		26 (29,5)	15 (32,6)	11 (26,3)		p<0,001
Смешанное	30 (29,7)	14 (26,9)	16 (32,7)		30 (34,1)	16 (34,8)	14 (33,3)		p=0,52
Примечания									
1 p1 – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО)									
2 p2 – статистическая значимость различий между группами ОНМТ (не ЭКО) и ЭНМТ (не ЭКО)									
3 p3 – статистическая значимость различий между группами ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) и не ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ)									
4 Применялся точный критерий Фишера									

Многие исследователи приходят к выводу, что именно грудное молоко считается правильным питанием для любого ребёнка, особенно недоношенного. В

нём должен быть обогатитель грудного молока (ОГМ) в том случае, если вес младенца составит менее одного килограмма восьмисот граммов. Именно ОГМ вносят в питание младенца белок высокого качества, витамины и минеральные вещества, которые так важны и необходимы для быстрого, полноценного развития. В этом возрасте младенцу требуется большое количество полезных минералов, витаминов для полноценного развития всех функций жизненно важных органов. Если речь идет о недоношенном младенце весом менее полутора килограммов, и он получает грудное молоко, то потребуется достаточно продолжительное его обогащение ОГМ с постепенным его уменьшением: суточная доза ОГМ сначала сокращалась в 2 раза, в дальнейшем — до 1/4 от первоначального количества, сокращение проходило под контролем антропометрических и биохимических показателей ребёнка. Если было невозможно применять ОГМ, тогда требовались особые смеси для недоношенных детей. Смеси с содержанием белка в пределах 2,4–2,9 г/100 мл назначались детям с ОНМТ и ЭНМТ при рождении и использовались до достижения детьми массы тела 1800 г. После выписки ребёнок переводился на вскармливание специализированной смесью с более низким содержанием белка [70,71].

Те дети, которые появились ранее назначенного срока, должны в обязательном порядке получить необходимое количество дополнительных витаминов в назначенной врачом дозировке. Суточный приём витамина D для детей, родившихся раньше срока, составляет 1000 МЕ, начиная с 2-недельного возраста и до 1 года [56].

Ускорение роста является характерной особенностью недоношенного ребёнка в период стабилизации его состояния и купирования основных патологических симптомов, что обозначается термином «догоняющий рост».

Сегодня есть много данных, которые говорят о том, что такое «догоняющий рост» и какими особенностями и преимуществами он обладает. Но пока есть много споров по этому поводу.

Быстрое развитие отмечается в самые первые дни жизни, как только малыша выписывают, и он попадает с круг семьи (наши недоношенные дети исследуемых

групп увеличили длину тела с момента рождения в 1,5 раза), что и определило оптимальность и ценность питания, учитывающего индивидуальные особенности ребёнка и предупреждающего дефицит и избыточное поступление основных макро- и микронутриентов. При этом необходимо проводить тщательный мониторинг показателей физического развития. К моменту выписки из стационара у детей наблюдается макро- и микронутриентный дефицит (наиболее значимый у детей со ЗВУР), а у трети детей – недостаточная длина тела. Именно по этой причине потребуется обратить внимание на контроль гемоглобина, железа и ферритина, учитывать и биохимические показатели сыворотки крови: общий белок, альбумин и мочевины, содержание кальция, фосфора, витамина D, щелочной фосфатазы.

В стационаре все дети получали специализированные смеси, которые содержат достаточное количества белка необходимое для набора массы тела. Детей переводили на стандартные смеси по индивидуальным показателям (в зависимости от показателя массы тела, физического развития и т.д.).

Рацион питания исследуемых недоношенных детей основной группы (ЭКО) часто носил несбалансированный характер в домашних условиях, требовал коррекции по макро- и микронутриентному составу. При этом количество потребляемых молочных смесей рассчитывалось по калорийному методу. Кратность кормления в среднем составляла 8–9 кормлений в сутки с интервалом 2,5–2 часа, по мере роста ребёнка кратность кормления снижалась, интервалы между кормлениями увеличивались.

Проведённый анализ вскармливания недоношенных детей в течение первого года жизни, установил, что дети основной группы (ЭКО) находились на искусственном и смешанном вскармливании, в отличие от детей группы сравнения – на грудном вскармливании, поэтому риск развития остеопении преобладал у детей ЭКО.

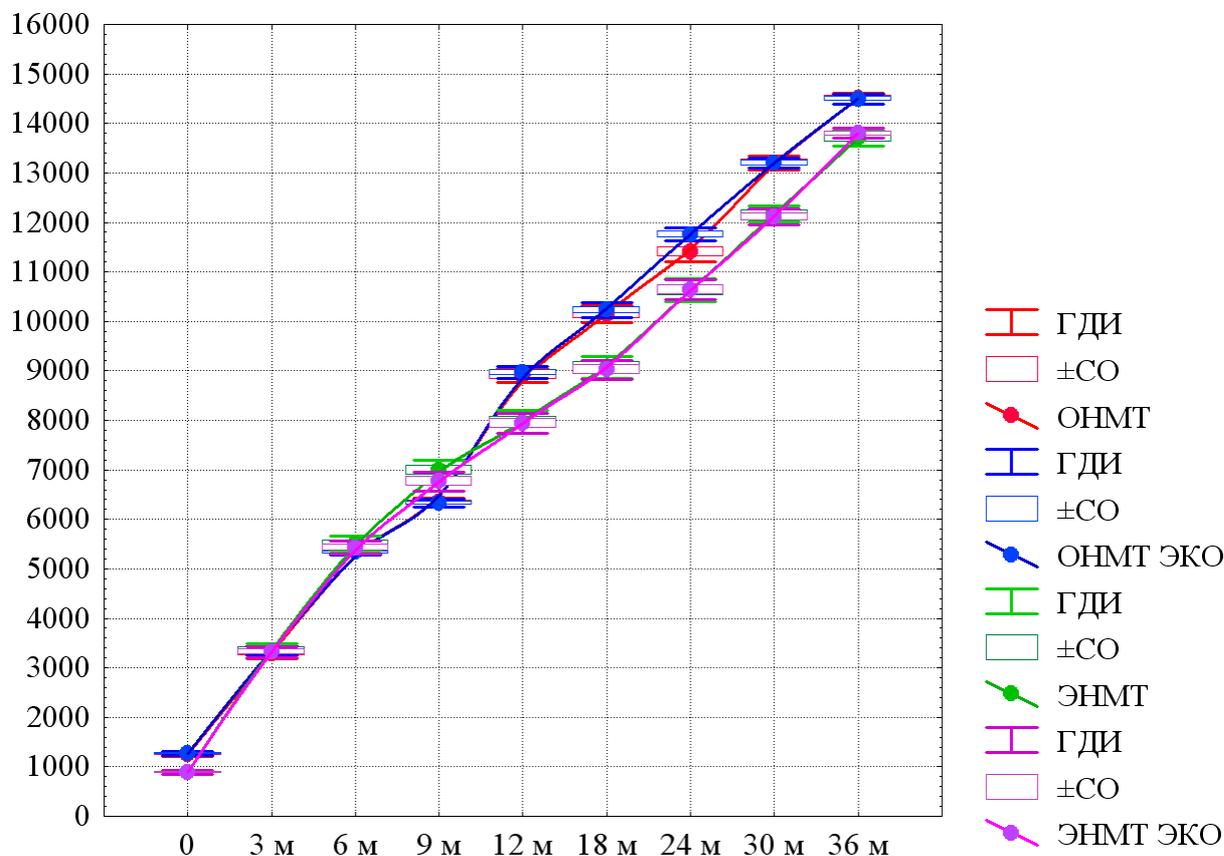
ГЛАВА 4 ФИЗИЧЕСКОЕ И ПСИХОМОТОРНОЕ РАЗВИТИЕ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ВЫСОКИМ РИСКОМ ОСТЕОПЕНИИ ПРИ РОЖДЕНИИ И В ВОЗРАСТЕ ТРЁХ ЛЕТ

4.1 Анализ физического развития

Физическое развитие – это показатель здоровья ребёнка. Есть много полезной информации о таких особенных детях, которые отличаются невысокой массой с самого рождения. Данные об их росте, массе тела, окружности головы и грудной клетки были подвергнуты дисперсионному анализу (ДА) по двухфакторной схеме. Контролируемыми факторами в данном случае являлись принадлежность ребёнка к одной из четырех сформированных нами групп («фактор группы») и возраст, при котором производилось измерение этих четырех характеристик физического развития – «этапы наблюдения». «Фактор группы» включал в себя четыре градации: группа с очень низкой массой тела (ОНМТ), группа с очень низкой массой тела ЭКО (ОНМТ ЭКО), группа с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), группа с экстремально низкой массой тела ЭКО (ЭНМТ ЭКО). «Этапы наблюдения» включали в себя девять градаций, при которых осуществлялось измерение перечисленных выше характеристик физического развития ребенка: «при рождении» и далее в три, шесть, девять, 12, 18, 24, 30 и 36 месяцев после рождения, т.е. от рождения до трёх первых лет жизни.

Результаты дисперсионного анализа показали: масса тела детей на всем протяжении наблюдений находилась в чрезвычайно тесной, практически функциональной зависимости от их возраста – $\eta^2=97\%$, $F=14138$, $p<0,001$. На этом фоне зависимость от «фактора группы» и сочетания обоих факторов оказалась хотя и статистически значимой (из-за большого объёма выборок), но фактически несущественной – $\eta^2=0,4\%$, $F=149$, $p<0,001$ и $\eta^2=0,5\%$, $F=24$, $p<0,001$. Следовательно, средние значения массы тела недоношенных детей в разных группах на всех этапах наблюдения либо совпадают, либо достаточно близки, а

«траектория» их последовательных изменений практически не отличается (Рисунок 20).



Примечания

1 По оси абсцисс – «этапы наблюдения», месяцы после рождения (0 – измерения, полученные при рождении).

2 По оси ординат – масса тела ребёнка в граммах (г).

3 ГДИ и СО – границы доверительного интервала и стандартная ошибка среднего показателя массы тела в группе.

4 Аббревиатуры названий групп расшифрованы выше.

Рисунок 20 – Динамика последовательных изменений средней массы тела в четырёх группах недоношенных детей в течение первых трёх лет жизни

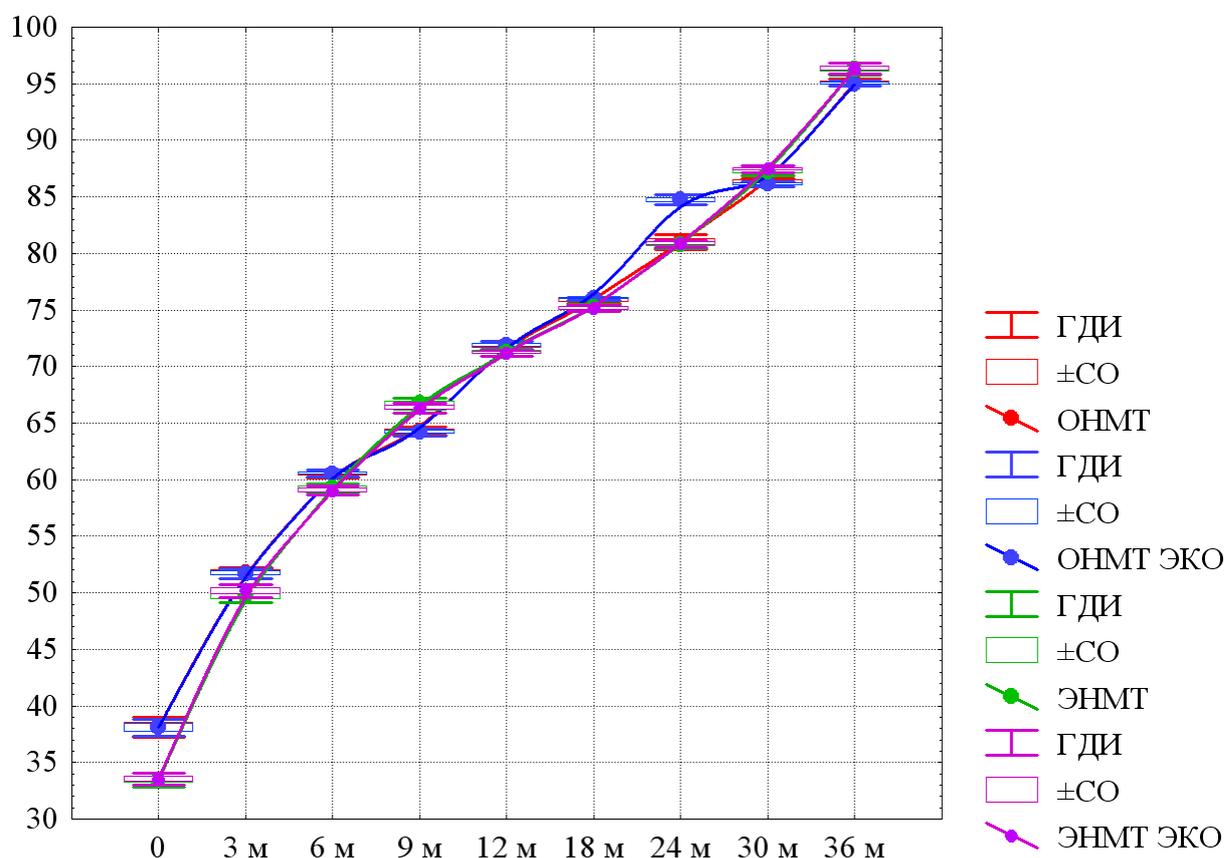
Средняя масса тела в группе детей, рождённых с применением метода ЭКО, и детей, зачатых естественным путём, практически совпадает и значимо не различается: 885,0(129,8) г и 883,3(135,4) г ($p=0,90$). Соответственно, и в группах ОНМТ средние значения массы тела новорождённых детей, рождённых с применением метода ЭКО, и детей, зачатых естественным путём, были также

очень близки и значимо не различались: 1264,3(148,4) г и 1244,9(149,0) г соответственно ($p=0,52$). К трём месяцам и к полугоду скоррегированного возраста средние значения массы тела всех групп, как это хорошо видно, не только увеличиваются, но и сближаются до практического совпадения. В девятимесячном скоррегированном возрасте средняя масса тела в группах детей с ОНМТ и ОНМТ (ЭКО) оказался значимо ниже, чем в группах детей, рождённых с ЭМНТ. При этом в группе ОНМТ (ЭКО) и ОНМТ (не ЭКО) средняя масса тела практически совпадает и значимо не различается: 6330,1(305,5) г и 6341,1(320,7) г ($p=0,86$). В группе ЭНМТ (не ЭКО) средняя масса тела оказалась заметно больше, чем в группе с ЭНМТ (ЭКО) (6992,7(656,2) г против 6765,8(693,0) г, $p=0,11$). Однако в последующие месяцы скоррегированного возраста и годы средняя масса тела детей в группах с ОНМТ, как видно на рисунке 25, постоянно значимо выше, причём как в этой группе, так и в группах ЭНМТ средняя масса детей в группах, рождённых методом ЭКО, и детей, зачатых естественной беременностью, практически совпадает. К трём годам в группе детей с ОНМТ, зачатых естественной беременностью, средняя масса тела составила 14502,4 (398,5) г, а с ОНМТ (ЭКО) 14497,9(376,0) г ($p=0,95$). В группе детей с ЭНМТ, зачатых естественной беременностью, к этому времени средняя масса тела составила 13703,3(565,0) г, а детей с ЭНМТ (ЭКО) 13802,0(398,5) г ($p=0,31$). Данные показатели укладываются в возрастную норму с ABOUT INTERGROWTH-21st.

Таким образом, несмотря на статистически значимые различия массы тела в неонатальном периоде, к трём годам масса тела детей, рождённых с помощью ЭКО, не отличалась от массы тела детей, рождённых без ВРТ, показатели в обеих группах соответствовали нормальным показателям согласно международным стандартам.

Длина тела детей на всех этапах наблюдения зависела от возраста ($\eta^2=99\%$, $F=28623$, $p<0,001$). Следовательно, средние значения длины тела детей, как и масса тела, в разных группах детей на всех этапах наблюдения также либо совпадают, либо достаточно близки, а «траектории» их последовательных изменений практически не отличаются.

Как видно на рисунке 21, длина тела недоношенных детей (ОНМТ и ЭНМТ) в каждой группе за всё время наблюдений возрастает примерно в три-четыре раза. При этом в группах детей, рождённых с ЭНМТ, как и в случае с массой тела, средняя длина тела детей, рождённых с применением метода ЭКО, и детей, зачатых естественным путём, практически совпадает и значимо не различается: 33,4(1,9) см и 33,5(2,0) см соответственно ($p=0,88$). В группах детей, рождённых с ОНМТ, и в группах детей, рождённых с применением метода ЭКО, и детей, зачатых естественным путём, величины длины тела близки и значимо не различаются: 38,1(2,9) см и 38,1(2,8) см ($p=0,94$). Эти соотношения в той или иной мере сохраняются до полугода включительно. В девять месяцев скоррегированного возраста это соотношение меняется, и средние значения длины тела у детей с ЭНМТ оказываются значимо больше, чем у детей с ОНМТ, причем разница в группах детей, рождённых с применением метода ЭКО, и детей, зачатых естественным путём, незначима – 66,7(1,5) см и 66,3(1,6) см соответственно ($p=0,94$).



Примечания

1 По оси ординат – длина тела детей в сантиметрах (см).

2 По оси абсцисс – «этапы наблюдения», месяцы после рождения (0 – измерения, полученные при рождении).

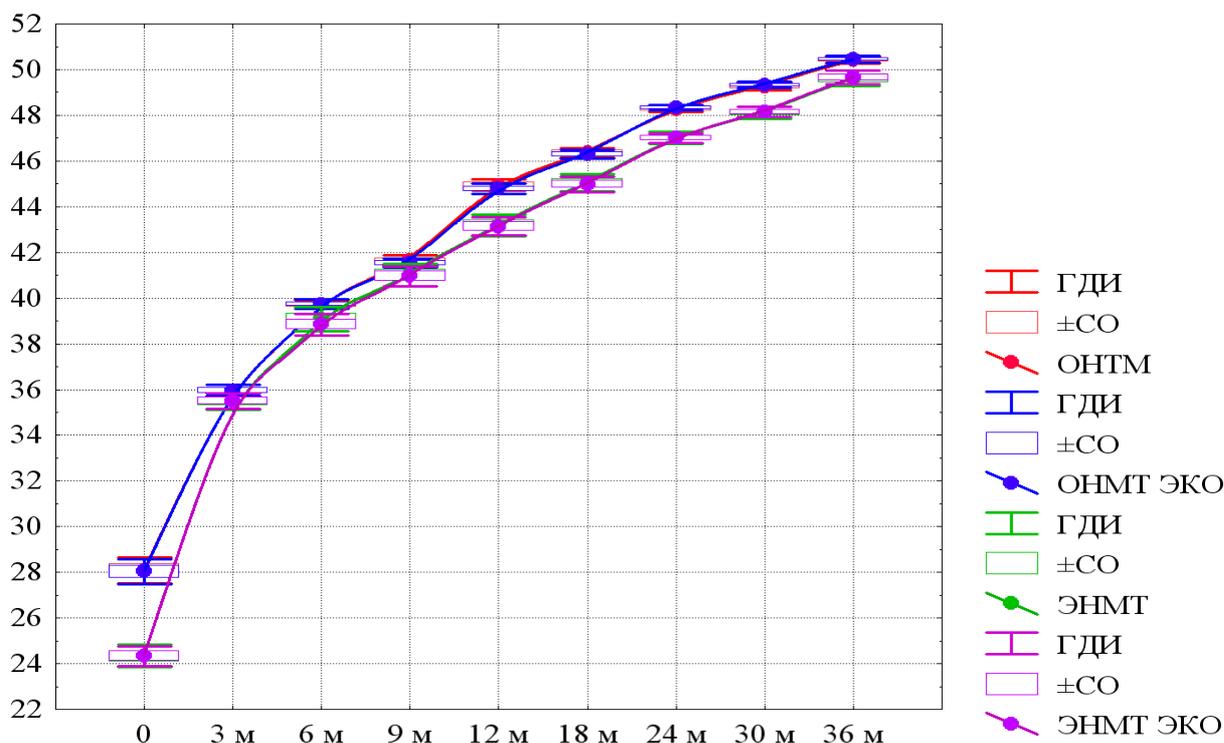
3 ГДИ и СО – границы доверительного интервала и стандартная ошибка среднего показателя длины тела в группе.

Рисунок 21–Динамика последовательных изменений средней длины тела в четырёх группах недоношенных детей в течение первых трёх лет жизни

В год скорректированного возраста и полтора года средние значения длины тела во всех группах снова выравниваются и практически совпадают. Однако, как видно на рисунке 21, в два года в группе детей, рождённых с ОНМТ (ЭКО), средняя длина тела становится существенно и значимо выше, чем во всех остальных группах – 84,7(1,6) см против 80,9(2,2) см (ОНМТ), 80,8(1,2) см (ЭНМТ) и 80,8(1,1) см (ЭНМТ ЭКО). К завершению сроков наблюдения в три года средняя длина тела у недоношенных детей в группах с ЭНМТ (ЭКО) и у детей, зачатых естественным путём, (96,3(1,6) см и 96,3(1,7) см соответственно, $p=0,95$) оказалась пусть и незначительно, но статистически значимо больше, чем в группах детей с ОНМТ (95,0(0,9) см и 95,1(0,9) см соответственно, $p=0,74$). Данные показатели укладываются возрастную норму ABOUT INTERGROWTH-21st.

Такая же зависимость от возраста имела место и для окружности головы недоношенных детей – $\eta^2=98\%$, $F=8232$, $p<0,001$ (Рисунок 22). При этом, как и в описанных выше случаях, существенной разницы средних уровней и характера изменений этого параметра детей с ОНМТ или ЭНМТ не выявлено – $\eta^2=0,8\%$, $F=188$, $p<0,001$ и $\eta^2=0,4\%$, $F=12$, $p<0,001$ для влияния «фактора группы» и сочетания обоих факторов. Средний показатель окружности головы при рождении у детей, рождённых с ОНМТ и с ЭНМТ с применением метода ЭКО, и детей, зачатых естественным путём, практически совпадали и значимо не различались: 28,0(1,0) см и 28,1(2,0) см соответственно ($p>0,89$) против: 24,3(1,5) см и 24,3(1,6) см соответственно ($p=0,95$). При этом, как видно, средний показатель головы у детей с ОНМТ оказался значимо выше.

С трёх до девяти месяцев скорректированного возраста на фоне роста окружности головы соотношение сохраняется. При этом, несмотря на заметное сближение средних значений этого параметра в группах у детей с ОНМТ, эти значения всё-таки оказывались статистически значимо выше ($p=0,01$). В последующие месяцы некоторое превышение средних показателей окружности головы в группах детей, рождённых с ОНМТ, становится более заметным. К трём годам средний показатель окружности головы у детей, рождённых с ОНМТ, составил: 50,5(0,5) см (не ЭКО) и 50,4(0,5) см (ЭКО) соответственно ($p=0,81$), а у детей, рождённых с ЭНМТ – 49,6(1,1) см (не ЭКО) и 49,6(1,0) см (ЭКО) соответственно ($p=0,85$).

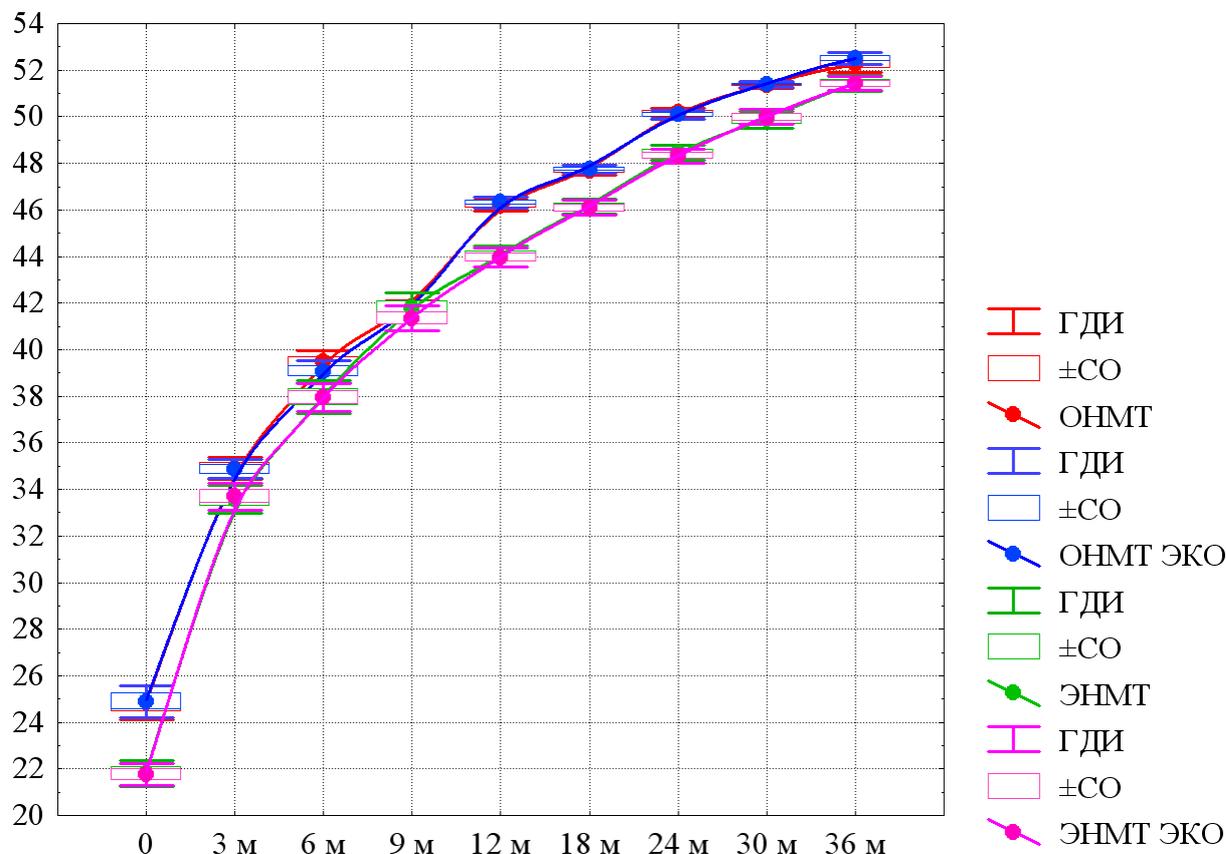


Примечания

- 1 По оси ординат – показатель окружности головы в сантиметрах (см)
- 2 По оси абсцисс – «этапы наблюдения», месяцы после рождения (0 – измерения, полученные при рождении)
- 3 ГДИ и СО – границы доверительного интервала и стандартная ошибка среднего значения показателя окружности головы в группе.

Рисунок 22–Динамика последовательных изменений показателей средней окружности головы в четырёх группах недоношенных детей в течение первых трёх лет жизни

Достаточно похожие возрастные показатели детей имели место и для окружности грудной клетки (Рисунок 23).



Примечания

- 1 По оси ординат – показатель окружность груди в сантиметрах (см)
- 2 По оси абсцисс – «этапы наблюдения», месяцы после рождения (0 – измерения, полученные при рождении)
- 3 ГДИ и СО – границы доверительного интервала и стандартная ошибка среднего значения показателей окружности груди в группе

Рисунок 23–Динамика последовательных изменений показателей средней окружности груди в четырёх группах недоношенных детей в течение первых трёх лет жизни

Зависимость окружности груди от возраста ($\eta^2=96\%$, $F=7322$, $p<0,001$), как и в описанных выше случаях, сочеталась с отсутствием существенной разницы средних показателей и характера изменений этого параметра, связанных у детей с ОНМТ и детей с ЭНМТ, рождённых с применением метода ЭКО – $\eta^2=0,7\%$, $F=154$, $p<0,001$ и $\eta^2=0,1\%$, $F=5$, $p<0,001$. В группах детей, рождённых с ОНМТ и ОНМТ (ЭКО), и детей, рождённых с ЭНМТ и ЭНМТ (ЭКО), средний показатель окружности груди при рождении не отличался: 24,9(2,5) см и 24,8(2,5) см

соответственно ($p=0,85$) против: 21,7(1,7) см и 21,8(1,8) см соответственно ($p=0,90$). При этом средний показатель окружности груди у детей, рождённых с ОНМТ, оказался значимо выше. Это соотношение, пусть и в менее выраженной степени, сохраняется до девяти месяцев скорректированного возраста, а в девять месяцев скорректированного возраста все четыре средних значения данного параметра резко сближаются вплоть до практического совпадения: 41,8(0,9) см (ОНМТ), 41,6(1,3) см (ОНМТ ЭКО), 41,7(2,1) см (ЭНМТ) и 41,3(1,9) см (ОНМТ ЭКО). Различия между этими значениями незначимы при уровне значимости от $p=0,14$ до $p=0,88$. В последующие сроки средние показатели окружности груди у детей, рождённых с ОНМТ, вновь становятся статистически значимо выше и к трём годам составляют: 52,3(1,2) см (ОНМТ), 52,5(0,9) см (ОНМТ ЭКО), $p=0,23$ и 51,4(1,1) см (ЭНМТ) и 51,4(1,0) см (ОНМТ ЭКО), $p=0,92$. На основе антропометрического исследования был сделан вывод, что показатели массы и длины тела в четырех группах недоношенных детей оказались статистически незначимы.

Нами также изучен морфофункциональный статус детей в возрасте от 3-х до 12-ти месяцев скорректированного возраста и 18-ти, 24, 30-ти и 36-ти месяцев. До полугода у обследуемых групп недоношенных детей скорректированного возраста преобладает (за счёт дефицита массы тела) показатель дисгармоничного и резко дисгармоничного развития и составляет около 50% и является статистически незначимым ($p=0,25$). К полугоду это соотношение меняется. В группах детей с ОНМТ частота встречаемости дисгармоничного развития возросла примерно в полтора раза – до 30% в группе детей с ОНМТ и 34,5 детей с ОНМТ (ЭКО), хотя прирост оказался незначимым ($p=0,22$ и $p=0,69$). К трём годам показатель дисгармоничного развития в группах детей, рождённых с ОНМТ, достиг примерно 4%, в группе детей с ЭНМТ 2,5%, а в группе детей с ЭНМТ (ЭКО) 0%.

Следовательно, гармоничное физическое развитие детей имеет место во всех четырёх группах, но до полутора лет доля гармоничного развития носит относительно стабильный характер на фоне существенного перераспределения показателей дисгармоничного и резко дисгармоничного развития.

Дети, рождённые с ЭНМТ, имели более низкие показатели по сравнению с детьми, рождёнными с ОНМТ, различий между основной и группой сравнения детей к 3 годам по физическому развитию не выявлено, т.е. физическое развитие статистически значимо различалось только внутри группы.

4.2 Анализ психомоторного развития детей в зависимости от массы тела при рождении с использованием шкалы КАТ/КЛАМС

Средний коэффициент речевого развития у всех подгрупп детей с ОНМТ и ЭНМТ был статистически значимо ниже во все сроки наблюдения (Рисунок 24), при сравнении основной и группы сравнения статистически значимых различий не установлено.

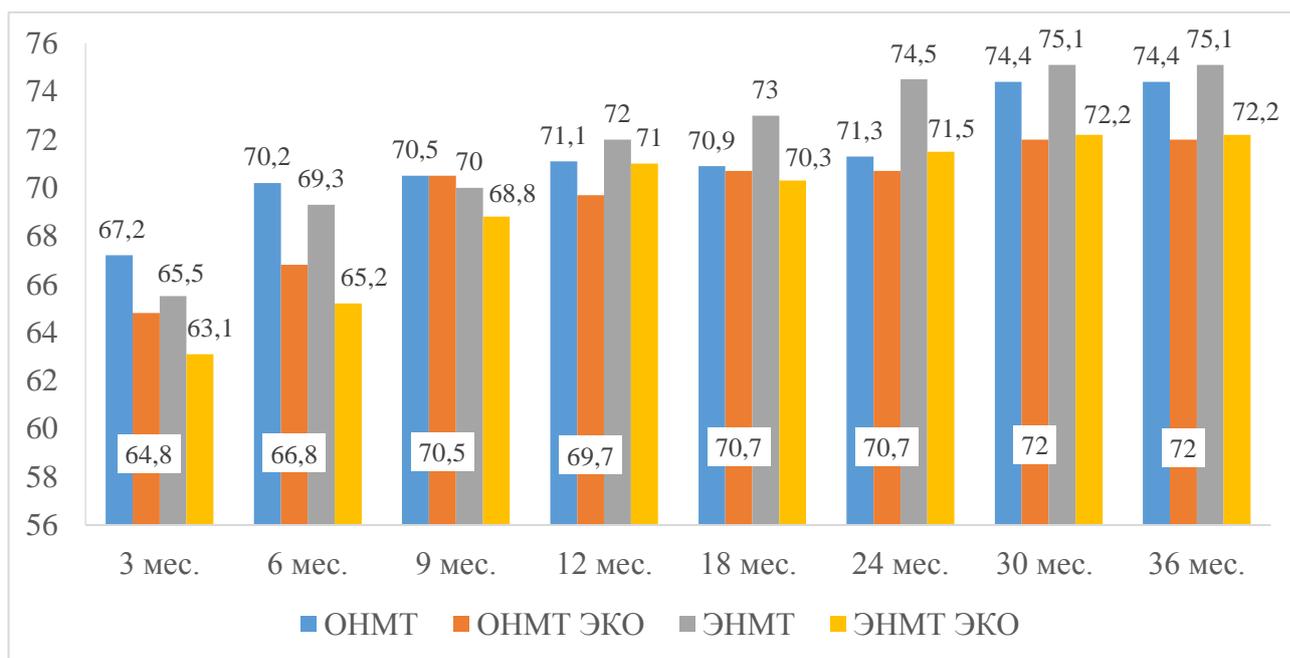


Рисунок 24—Динамика среднего коэффициента речевого развития недоношенных детей по шкале КАТ/КЛАМС в течение первых 3 лет жизни

Стоит уточнить, что со временем у многих недоношенных детей средний коэффициент речевого развития речи ниже нормы (<75%): у детей с ОНМТ (ЭКО) в год составил 69,69(6,81)%, с ЭНМТ (ЭКО) – 70,9(8,56)%, у детей с ОНМТ, зачатых естественным путём – 71,0(5,28)% и ЭНМТ–71,9(7,85)%.

Как видно из рисунка 29, количество отстающих по речевому развитию детей увеличивается с возрастом, и к году жизни 59,6% детей, рождённых с ОНМТ (ЭКО), с ЭНМТ (ЭКО)–59,1%, с ОНМТ–52,1% и 52,3 % детей с ЭНМТ при рождении имели показатель речевого развития ниже 75%. К 2 годам показатель речевого развития становится нормой (75%) у детей, зачатых естественным путем, у детей же, рождённых с помощью метода ЭКО, показатель речевого развития остается низким (<75%).

Коэффициент познавательного развития у детей с ОНМТ и ЭНМТ в каждой из групп наблюдения был низким (Рисунок 25). К году скоррегированного возраста жизни практически половина недоношенных детей имели отставание в познавательном развитии без статистически значимых различий между подгруппами (57,6% с ОНМТ (ЭКО), 59,1% с ЭНМТ (ЭКО), ОНМТ–56,5% и ЭНМТ-54,7%). К 2 годам и далее до трёх лет коэффициент познавательного развития был в норме (>75).

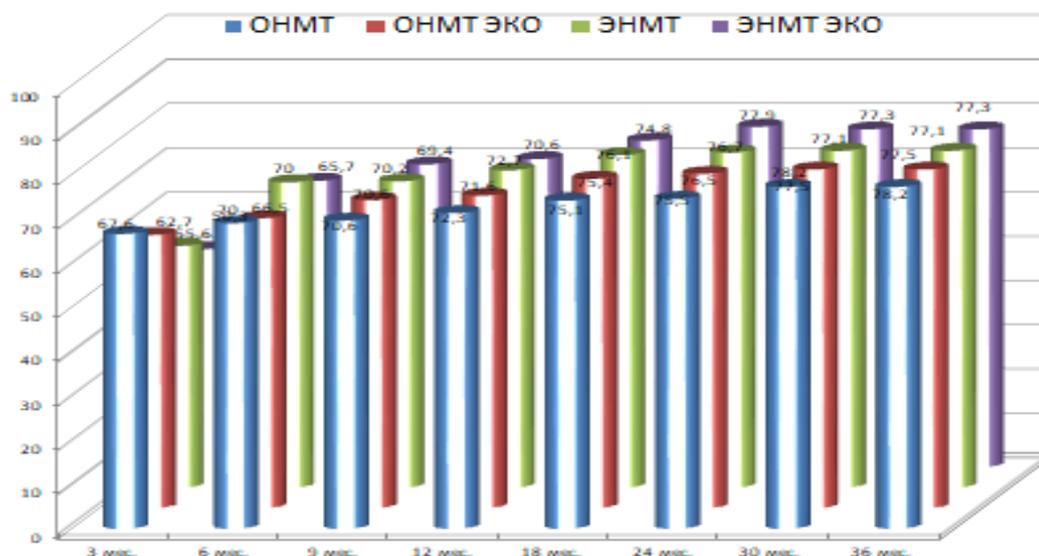


Рисунок 25—Динамика среднего коэффициента познавательного развития недоношенных детей по шкале КАТ/КЛАМС в течение первых 3 лет жизни

Как видно из рисунка 26, все дети (ОНМТ и ЭНМТ) демонстрировали низкие средние коэффициенты моторного развития без статистически значимого различия ($p > 0,05$). К году скоррегированного возраста все дети (ОНМТ и ЭНМТ)

имели отставание в моторном развитии (ОНМТ (ЭКО)–53,8%, ЭНМТ (ЭКО)–51,0%, ОНМТ–47,8% и ЭНМТ–50,0%). К 2 и 3 годам коэффициент моторного развития соответствует норме (>75%) без статистически значимой разницы ($p>0,05$).

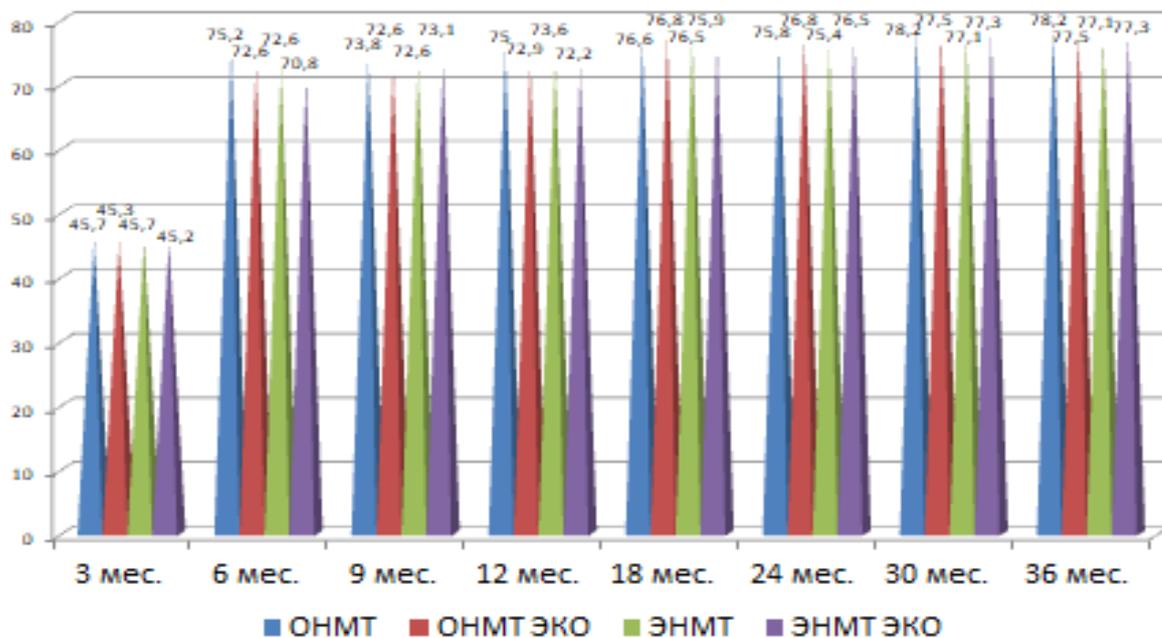


Рисунок 26–Динамика среднего коэффициента моторного развития недоношенных детей по шкале КАТ/КЛАМС в течение первых 3 лет жизни

Таким образом, на основании проведённого анализа выявлено, что дети (ОНМТ и ЭНМТ) к году скорректированного возраста статистически значимо отстают в физическом развитии по показателям массы тела и окружности груди, особенно дети, рождённые с ЭНМТ. У большинства детей с ЭНМТ наблюдается дисгармоничное развитие за счёт дефицита массы тела. К трём годам дети, рождённые с ЭНМТ, опережают детей, рождённых с ОНМТ. По показателям длины тела дети, рождённые с ЭНМТ, отставали от детей с ОНМТ. К году скорректированного возраста длина тела детей, рождённых с ЭНМТ (ЭКО) – 71,1(1,81) см и с ЭНМТ–71,25(1,01) см (норма по центильным таблицам 72–75 см), и к двум годам дети имели длину тела ниже нормы: рождённые с ОНМТ (ЭКО)–81,0(2,16) см и ОНМТ–80,6(2,07) см, ЭНМТ (ЭКО)–80,8(1,08) см и

ЭНМТ–80,8(1,13) см (норма 83–90 см), показатели являются статистически незначимыми ($p>0,05$).

К 3 годам коэффициент познавательного и моторного развития соответствовал возрасту, а коэффициент речевого развития ниже нормы на 1-2 эпикризных срока.

ГЛАВА 5 АЛГОРИТМ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ, РОЖДЁННЫХ МЕТОДОМ ЭКО

Нами был проведен анализ значимости факторов риска нарушений костного метаболизма у детей (ОНМТ ЭКО и ЭНМТ ЭКО) (Рисунок 27).

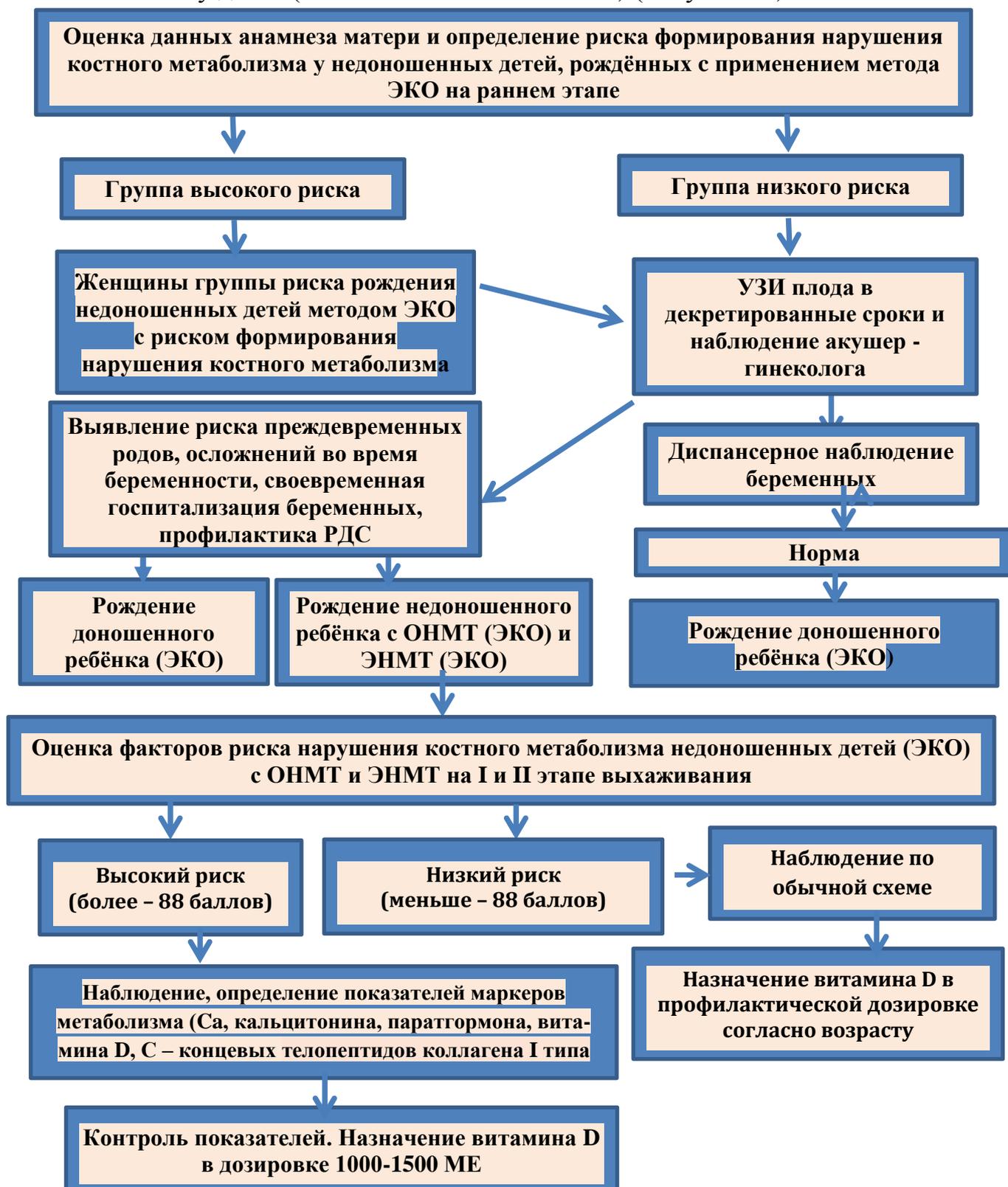


Рисунок 27- Алгоритм наблюдения недоношенных детей с ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО) на пре-и постнатальном этапе с использованием прогностической модели

Всего в группе детей, рожденных с помощью ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ, N=101) недостаточность витамина D в возрасте 1 года скорректированного возраста была выявлена у 60,4% (61 из 101) детей, дефицит у 4,6% (5 из 101), соответствовал норме у 34,6% (35 из 101) детей. К двум годам случаев дефицита этого витамина не было выявлено вообще, а случаи недостатка носили единичный характер – 2 из 101 (1,9%), т.е. уровень витамина D у всех детей практически нормализовался. Следовательно, оценку факторов риска недостатка витамина D строили только для недоношенных детей, рожденных с помощью ЭКО (ОНМТ+ЭНМТ) годовалого возраста и только по параметрам, полученным до этого срока.

Поскольку конечной целью главы предполагалась разработка прогнозирующей модели, исходно, до проведения анализа, вся выборка пациентов была разделена на обучающую, на которой проводилось построение прогнозирующей модели, и тестовую, на которой проводилась проверка качества разработанной модели. Разделение выборки на обучающую и тестовую проводилось случайным образом в соотношении (8:2), в итоге размер обучающей выборки составил 85 детей, тестовой – 16 детей. Сравнительная характеристика выборок по основным параметрам представлена в таблице 30.

Таблица 30 – Сравнительная характеристика обучающей и тестовой выборки

Показатели	Обучающая (N=85)	Тестовая (N=16)	p ¹
ОНМТ	42 (49,4%)	10 (62,5%)	p=0,34
ЭНМТ	43 (50,6%)	6 (37,5%)	
Пол (доля мальчиков)	34 (40%)	4 (25%)	p=0,26*
Проживание (город)	49 (57,6%)	10 (62,5%)	p=0,72
Проживание (село)	36 (42,4%)	6 (37,5%)	
Вскармливание (грудное)	24 (28,2%)	1 (6,3%)	p=0,10
Вскармливание (смесь)	41 (48,2%)	12 (75%)	
Вскармливание (смешанное)	20 (23,5%)	3 (18,8%)	

Продолжение таблицы 30

Показатели	Обучающая (N=85)	Тестовая (N=16)	p ¹
Недостаток витамина D	54 (63,5%)	12 (75%)	p=0,38*
Неделя рождения	28(26; 30)	28,5(26; 30)	p=0,85
Масса тела при рождении, грамм	1000(930; 1279)	1016,5(987,5; 1177,5)	p=0,72
Длина тела при рождении, см.	35(34; 38)	36(35,5; 38)	p=0,28
Окружность головы при рождении, см	26(24; 28)	26(26; 28,2)	p=0,12
Окружность груди при рождении, см	23(21; 25)	24(22; 24)	p=0,53
Масса тела в 6 мес., грамм	5360(5160; 5612)	5300(5180; 5600)	p=0,76
Длина тела в 6 мес., см.	59,7(1,5)	60,4(1,1)	p=0,08
Окружность головы 6 мес., см.	39,5(39; 40,5)	39,2(39; 40)	p=0,47
Окружность груди 6 мес., см.	38(37,5; 39)	39(38,5; 40)	p=0,10
Возраст прорезывания зубов, мес.	9,5(9; 10)	10(9,4; 10)	p=0,30

Примечания

1 Для количественных показателей, распределение которых соответствует нормальному закону, применялся критерий Стьюдента.

2 Для количественных показателей, распределение которых отлично от нормального, применялся критерий Манна-Уитни.

3 Для категориальных переменных применялся критерий Хи-Квадрат, либо критерий Фишера (в случае наличия ячеек с частотами менее 5%).

4 * применялся точный критерий Фишера

Было выявлено, что тестовая и обучающая выборка сопоставимы по всем рассматриваемым параметрам. Далее оценка факторов риска и построение модели проводилось на обучающей выборке, в которой было 85 детей, из них 31 ребенок с нормальным уровнем витамина D и 54 ребенка с недостаточностью витамина D. Факторы, по которым были выявлены различия между группой с недостаточностью витамина D и группой с нормальным его уровнем, приведены в таблице 31.

Таблица 31 – Показатели, различающиеся между группами с недостаточностью и нормой витамина D

Показатели	Норма витамина D (N=31)	Недостаток витамина D (N=54)	p
ОНМТ	22 (71%)	20 (37%)	p=0,003
ЭНМТ	9 (29%)	34 (63%)	
Проживание (город)	13 (41,9%)	36 (66,7%)	p=0,026
Проживание (село)	18 (58,1%)	18 (33,3%)	
Вскармливание (грудное)	17 (54,8%)	7 (13%)	p<0,001
Вскармливание (смесь)	12 (38,7%)	29 (53,7%)	p=0,18
Вскармливание (смешанное)	2 (6,5%)	18 (33,3%)	p=0,013 *
Неделя рождения	29(28; 30)	27(26; 30)	p=0,030
Масса тела при рождении, г	1202(989,5; 1375)	973(910; 1200)	p=0,002
Длина тела при рождении	37,3(3,8)	34,9 (3)	p=0,004
Окружность головы при рождении	27(25; 29)	25(24; 27)	p=0,012
Окружность грудной клетки при рождении	24(22; 25,5)	23(21; 24)	p=0,020
Масса тела в 3 месяца	3480,8 (320,7)	3277,7 (404,6)	p=0,013
Длина тела в 6 месяцев	60(59,5; 61)	59,5(59; 60,5)	p=0,029
Окружность головы в 6 месяцев	40(39,2; 40,5)	39(39; 39,9)	p=0,002
Возраст прорезывания зубов, месяц	9(8; 9,2)	10(9; 10)	p<0,001
Примечания			
1 Для количественных показателей, распределение которых соответствует нормальному закону, применялся критерий Стьюдента.			
2 Для количественных показателей, распределение которых отлично от нормального, применялся критерий Манна-Уитни.			
3 Для категориальных переменных применялся критерий Хи-Квадрат, либо критерий Фишера (в случае наличия ячеек с частотами менее 5%).			
4 * применялся точный критерий Фишера			

Количественная оценка факторов риска недостаточности витамина D была получена с помощью отношения шансов (ОШ), для количественных переменных ОШ были рассчитаны с помощью однофакторной логистической регрессии и показали увеличение шанса недостаточности витамина D при увеличении показателя на единицу измерения (100 граммов для веса) (Рисунок 28).

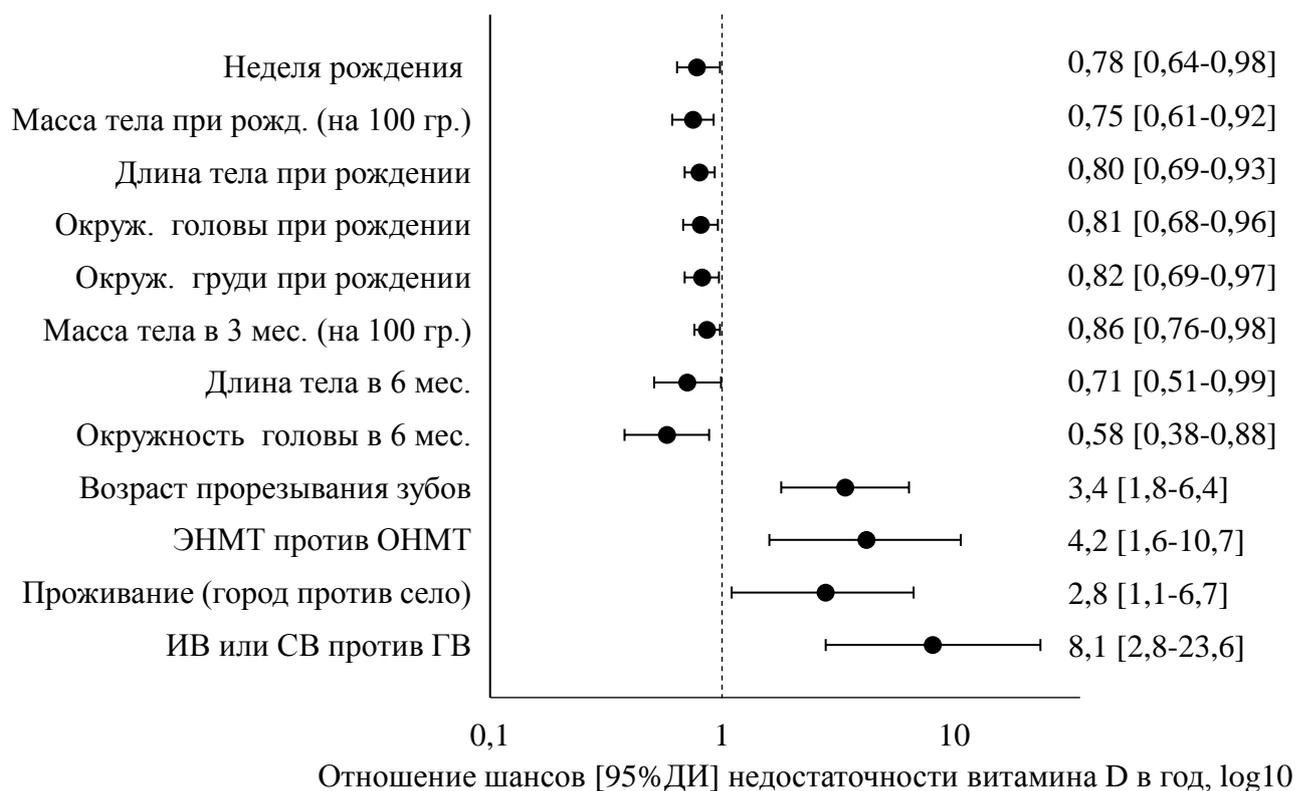


Рисунок 28 – Факторы риска развития недостаточности витамина D в год

Было выявлено, что более ранняя неделя рождения, более низкая масса тела, длина тела, окружность головы и окружность груди при рождении и в 3, 6 месяцев скорректированного возраста являются факторами риска развития недостаточности витамина D. Также было выявлено, что недостаточность витамина D ассоциирована с более поздним возрастом прорезывания зубов, ЭНМТ (против ОНМТ), проживание в городе (против проживания в селе), а также искусственным или смешанным вскармливанием против грудного вскармливания.

На следующем этапе нами была разработана прогностическая модель для определения вероятности выявления недостаточности витамина D в год в зависимости от факторов риска методом бинарной многофакторной логистической регрессии. В качестве кандидатов для включения в модель рассматривались все факторы с выявленной однофакторной взаимосвязью с недостаточностью витамина D, отбор переменных в модель проводился методом

пошагового исключения. Параметры разработанной модели приведены в таблице 32.

Таблица 32 – Параметры модели прогноза недостаточности витамина D (применялась многофакторная логистическая регрессия)

Факторы	Коэффициенты – b[95% ДИ]	Статистика Вальда	p	Отношение шансов – ОШ[95% ДИ]
Окружность головой в 6 мес.	– 0,84 [от –1,6 до – 0,27]	2,6	p=0,009	0,4 [от 0,2 до 0,8]
Возраст прорезывания зубов, мес.	1,28[от 0,6 до 2,12]	3,4	p<0,001	3,6 [от 1,8 до 8,3]
Грудное вскармливание	–1,42 [от –2,7 до –0,22]	2,3	p=0,02	0,2 [от 0,1 до 0,8]

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\% \quad (1)$$

$$z = 22,51 - 0,84 * X_{\text{ОГ6}} + 1,28 * X_{\text{ЗУБ}} - 1,42 * X_{\text{ГВ}}$$

где P – вероятность выявления недостаточности витамина D в год, %,

$X_{\text{ОГ6}}$ – окружность головы в 6 месяцев, см,

$X_{\text{ЗУБ}}$ – возраст прорезывания зубов, мес.,

$X_{\text{ГВ}}$ – грудное вскармливание (0 – искусственное или смешанное вскармливание, 1 – грудное вскармливание)

Полученная регрессионная модель является статистически значимой (LR = 37,4, p<0,001). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель (1) учитывает 49,0% дисперсии вероятности выявления недостатка витамина D. Пороговое значение логистической функции было определено с помощью метода анализа ROC-кривых. Полученная кривая представлена на рисунке 29. Площадь под ROC-кривой составила 0,87 (95% ДИ: от 0,79 до 0,95). Значение логистической функции (1) в точке cut-off составило 50%. При значениях P выше или равных 50% определялся высокий риск недостаточности витамина D у ребёнка в год, а при значениях P<50% – низкий риск.

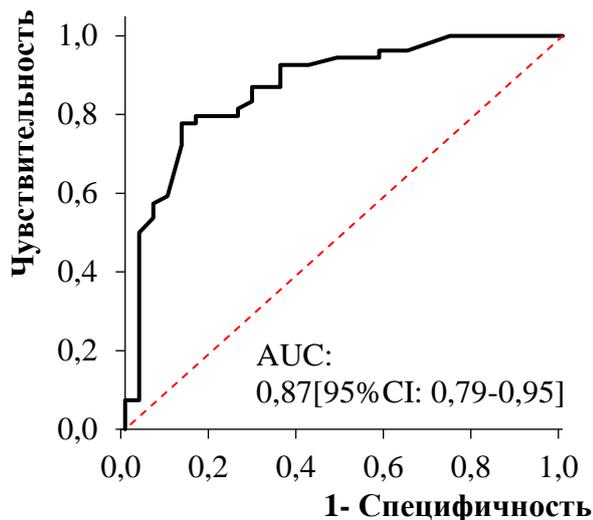


Рисунок 29 – ROC-кривая для модели прогноза недостаточности витамина D

Для применения разработанной модели на практике была разработана номограмма, где сумма баллов 88 соответствует пороговой вероятности в 50% (Рисунок 30).

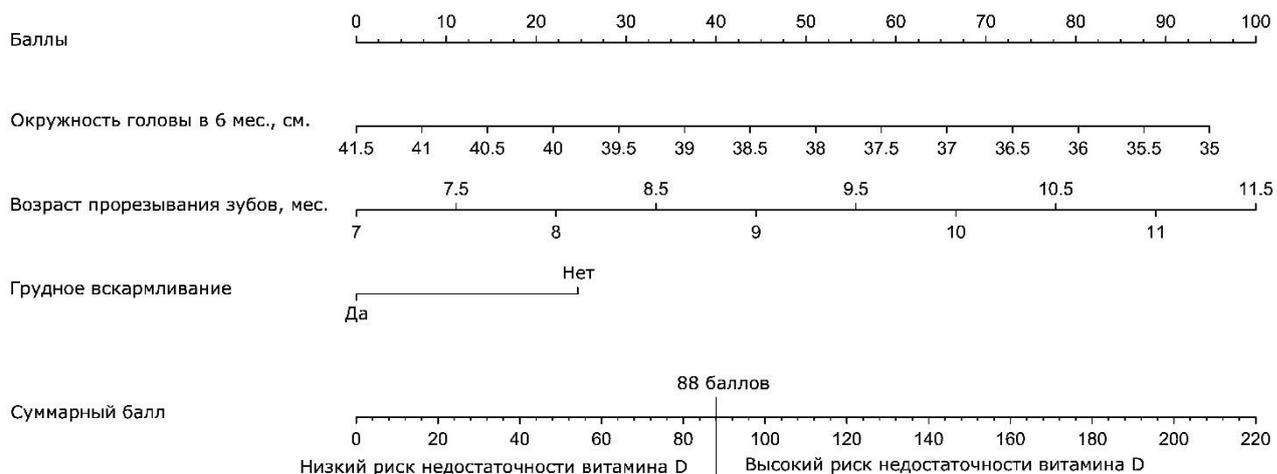


Рисунок 30 – Номограмма прогноза недостаточности витамина D в год у детей ЭКО с ОНМТ и ЭНМТ

На разработанной номограмме каждому фактору риска соответствует свой балл, который определяется по шкале «Балл»: от указанного фактора откладывается перпендикуляр вверх, до пересечения со шкалой «Баллы», точка пересечения – балл, соответствующий данному фактору риска. Найденные баллы по всем факторам суммируются. Риск недостаточности витамина D

соответствующий полученной сумме баллов, определяется по шкале «Суммарный балл», если он выше 88, то у ребенка высокий риск развития недостаточности витамина D в год.

Разработанная прогнозирующая модель была апробирована на тестовом множестве. Показатели качества модели, рассчитанные на обучающем и тестовом множестве, приведены в таблице 33.

Таблица 33 – Показатели качества разработанной модели прогноза недостаточности витамина D, рассчитанные на обучающем и тестовом множестве

Показатели качества	Обучающее множество		Тестовое множество	
	% [95% ДИ]	k/n	%	k/n
Точность классификации	81 [от 71 до 98]%	69/85	87%	14/16
Чувствительность	87 [от 75 до 94]%	47/54	91%	11/12
Специфичность	71 [от 52 до 86]%	22/31	75%	3/4
Прогностическая ценность + результата	84 [от 72 до 92]%	47/56	91%	11/12
Прогностическая ценность - результата	76 [от 56 до 89]%	22/29	75%	3/4

Построенная модель продемонстрировала хорошее качество прогноза (выше 80%) как на обучающей, так и на тестовой выборке и может быть рекомендована для применения на практике.

Пример 1. Ребёнок 8 месяцев, родился с ОНМТ на сроке 28 недель. Зубы начали прорезываться в 7,5 месяцев (+11 баллов), окружность головы в 6 месяцев составляя 39,5 см (\approx + 30 баллов), ребёнок на грудном вскармливании (0 баллов). Сумма баллов составила 41 балл (11 баллов + 30 баллов + 0 баллов), что ниже 88

баллов, следовательно у данного ребёнка низкий риск развития недостаточности витамина D (Рисунок 31).

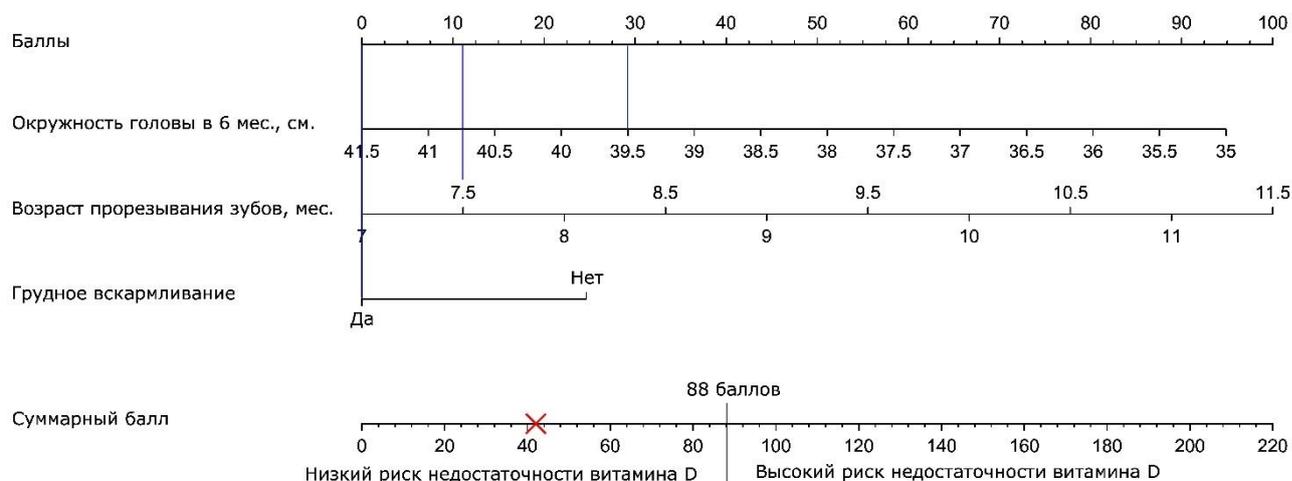


Рисунок 31 – Пример 1 использования на практике разработанной номограммы прогноза недостаточности витамина D

Пример 2. Ребёнок 9 месяцев, прорезывания зубов ещё не началось ($\approx + 45$ баллов). Окружность головы в 6 месяцев составлял 39 см. ($\approx + 35$ баллов), ребенок находится на искусственном вскармливании (+ 25 баллов). Сумма баллов составила 105 балл (45 баллов + 35 баллов + 25 баллов), что выше 88 баллов, следовательно у данного ребёнка высокий риск развития недостаточности витамина D (Рисунок 32).

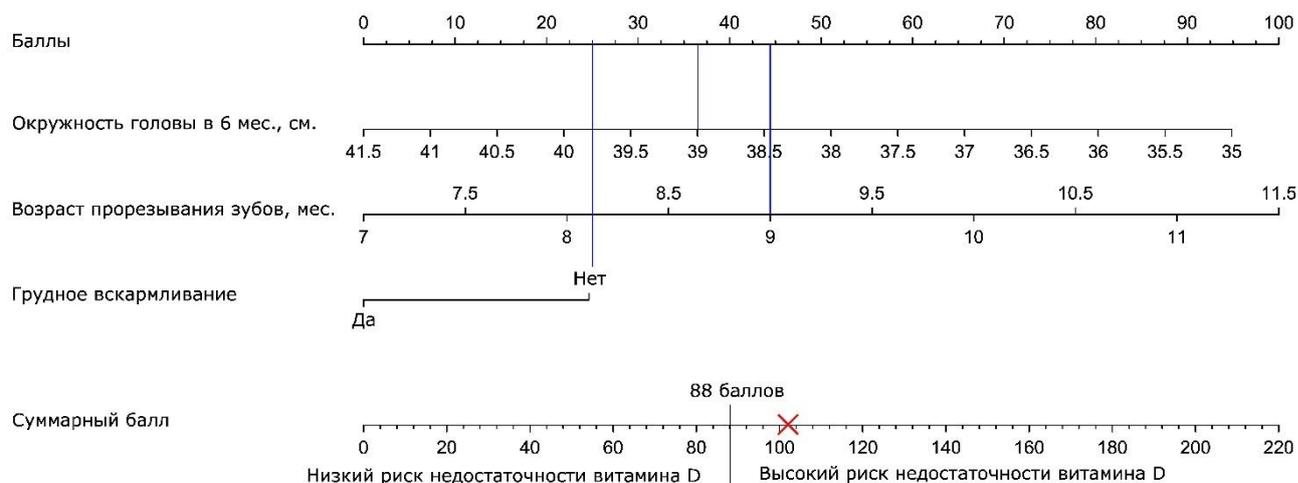


Рисунок 32 – Пример 2 использования на практике разработанной номограммы прогноза недостаточности витамина D

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы существует интерес к проблемам недоношенных детей с ЭНМТ и ОНМТ, появившихся с применением метода ЭКО [5,57]. Различные виды заболеваний костной системы у детей являются одними из наиболее распространённых в детском возрасте, частота их в последние годы имеет тенденцию к нарастанию [9,55,79].

Когда ребёнок рождается, то начинает развиваться, формируется и крепнет его скелет, кости, происходит многократная перестройка структуры костной ткани. Это отражает такое понятие, как филогенез. Костная ткань становится более чувствительной к различным негативным влияниям внешних факторов: нарушениям питания, двигательного режима ребёнка, состоянию мышечного тонуса [9,147]. Напряжённые процессы регуляции фосфорно-кальциевого обмена, осуществляющиеся на фоне гестационной незрелости органов и общих патологических реакций (гипоксия, ацидоз), развивающихся в постнатальном периоде, характерны для недоношенных детей [40]. В современных условиях определение скорости ремоделирования костной ткани осуществляется посредством количественного анализа ряда биологически активных соединений (регуляторов метаболизма костной ткани в сыворотке крови) и уровней кальциотропных гормонов (паратиреоидный гормон, кальцитонин) наряду с определением содержания витамина D и обязательным учётом динамики содержания таких биомаркеров, как щелочная фосфатаза, С-концевые телопептиды коллагена I типа. В нашем исследовании на протяжении первого года жизни детей показатели фосфора и щелочной фосфатазы практически не изменялись.

В литературе нет данных о нарушениях костного метаболизма у недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО. В связи с этим очевидно, что ранняя диагностика нарушений костного метаболизма у недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, включающая

определение маркеров остеогенеза, а также внедрение эффективных мероприятий по их профилактике является одной из важных задач.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи: изучить структуру и клинические особенности перинатальной патологии недоношенных новорождённых с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении, рождённых с применением метода ЭКО, здоровье их матерей, социальный статус и акушерский анамнез; оценить физическое, соматическое и психомоторное развитие детей в течение первых 3 лет жизни.

Выявленные значимые материнские и перинатальные факторы риска, определяющие маркеры костного метаболизма у недоношенных детей на протяжении 3 лет жизни, позволили разработать прогностическую модель по выявлению нарушений костного метаболизма детей ЭКО и оценить взаимосвязь нарушений, зависящих от способа зачатия недоношенных детей.

Проведено комплексное изучение состояния здоровья 189 детей в возрасте от 3 месяцев скоррегированного возраста до 3 лет. В первой группе находились недоношенные дети, которые появились благодаря методу ЭКО с массой тела от полутора до одного килограмма (ОНМТ). Во второй группе рассмотрены дети, рождённые с применением метода ЭКО, с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) – менее одного килограмма. Первая и вторая группы составили основную группу наблюдения (ЭКО в количестве 101 ребёнка). В группу сравнения вошли дети, зачатых естественным путём, с аналогичной массой тела с ОНМТ ($n_3=46$) и ЭНМТ ($n_4=42$), всего 88 детей.

Методика клинического обследования включала в себя сбор анамнестических данных у матерей и сомато-неврологический осмотр недоношенных детей в декретируемые сроки. Катамнестическое наблюдение проводилось в возрасте 3,6,9,12 месяцев скоррегированного возраста, 18,24 и 36 месяцев. В ходе динамического исследования проводилась оценка состояния здоровья, физического (по общепринятым методикам) и психомоторного развития с использованием шкалы КАТ/КЛАМС.

По результатам наших исследований выявлены антенатальные факторы риска матерей в нарушении костного метаболизма (остеопении) у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО: четвёртая беременность ($p=0,01$), ранний токсикоз ($p=0,01$), анемии ($p<0,001$), угроза прерывания ($p<0,001$) и отёки во время беременности ($p<0,001$), хроническая фетоплацентарная недостаточность (ХФН) ($p<0,001$), хроническая гипоксия плода (ХГП) ($p<0,001$), гипертоническая болезнь ($p=0,002$) и варикозная болезнь нижних конечностей ($p=0,02$); у матерей (ЭКО): возраст матери от 31 года и старше ($p<0,001$), курение во время беременности ($p<0,002$) и работа с вредными условиями труда ($p<0,001$).

Наиболее часто встречаемыми осложнениями акушерско – гинекологического анамнеза у матерей недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, диагностировались самопроизвольные выкидыши ($p<0,001$), медицинские аборт ($p<0,001$), погибшие беременности ($p<0,02$), эрозия шейки матки ($p<0,01$), нарушения менструального цикла ($p<0,02$), сальпингоофарит ($p<0,003$), эндометриоз ($p<0,001$), инфекции, передающиеся половым путем ($p<0,003$) и спаечный процесс малого таза ($p<0,001$). Инфекции, выявленные и пролеченные во время беременности у матерей основной группы: обострение хронического пиелонефрита ($p<0,001$), кандидозный вагинит ($p=0,004$) и цитомегаловирус ($p=0,012$).

Гестационный возраст новорождённых с ОНМТ (ЭКО) был 29,5(1,86) недель, у младенцев с ЭНМТ (ЭКО) – 26,7(1,47) недель ($p<0,001$), в группе сравнения – у новорождённых с ОНМТ – 29,6(1,90) недель, у младенцев с ЭНМТ – 26,7(1,48) недель ($p<0,001$).

Все недоношенные дети были выписаны из стационара в удовлетворительном состоянии. При оценке физического развития в возрасте 3,6,9,12 месяцев скорректированного возраста у недоношенных детей, 18,24 и 36 месяцев показатели массы тела, длины тела, окружности груди, окружности головы были значимо меньше у детей с ЭНМТ, рождённых с применением метода ЭКО, и детей с ЭНМТ, зачатых естественной беременностью ($p<0,001$), на всем

протяжении развития прослеживаются также статистически значимые показатели физического развития внутри самих групп детей, рождённых с применением метода ЭКО, и детей, зачатых естественной беременностью ($p < 0,001$). При сравнении основной и группы сравнения различий между показателями массы тела, длины тела, окружности головы и окружности груди у данных групп детей не выявлено ($p > 0,05$). Полное исчезновения резко дисгармоничного развития в группах детей с ЭНМТ и детей с ЭНМТ (ЭКО) происходило раньше, чем в обеих группах детей с ОНМТ.

Респираторный дистресс – синдром (РДС), встречался статистически значимо чаще у недоношенных детей, рождённых с ЭНМТ ($p = 0,02$), также как и пневмония ($p = 0,01$). У детей, рождённых с применением метода ЭКО анемия ($p = 0,02$) и аллергический дерматит по сравнению с детьми ($p = 0,001$), зачатыми естественной беременностью. К 2 годам в основной группе, по сравнению с группой сравнения, превалировал аллергический дерматит ($p < 0,001$). К 3 годам – респираторные заболевания ($p = 0,007$). Частота заболеваний верхних дыхательных путей была статистически значимо выше в группе детей с ЭНМТ: как среди детей, рожденных от ЭКО – 91,8% против 71,1% ($p = 0,01$), так и среди детей, зачатых естественной беременностью – 100% против 71,7% ($p < 0,001$). Клинические проявления остеопении преобладали у детей, рождённых с ЭНМТ и ЭНМТ (ЭКО), статистически значимые различия выявлены также в основной группе ЭНМТ (ЭКО) и ОНМТ (ЭКО) (77,5% против 51,9%, $p = 0,006$).

При анализе неврологической заболеваемости в течение первого года скоррегированного возраста выявлено, что у недоношенных детей, родившихся с ОНМТ и ЭНМТ, выявлено отклонение от нормы в 100 % случаев, тяжесть неврологических патологий преобладала у детей, рождённых с применением метода ЭКО, что обусловлено тяжестью патологии в перинатальном периоде, а также с серьезными нарушениями соматического здоровья и гинекологической патологией матерей. У основной группы детей преобладали ишемии 2 степени. В структуре неврологической патологии выявлено, что дети, рождённые с применением метода ЭКО, на протяжении 3-х лет жизни имели большую

задержку этапов развития по сравнению с группой сравнения ($p < 0,02$), особенно дети, рождённые с ОНМТ (ЭКО).

В нашем исследовании недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, и детей, зачатых естественной беременностью, с массой тела при рождении меньше 1500 г, отнесённых к группе детей – инвалидов, превалировало на первом месте ДЦП–26,5%, патология зрения в виде ретинопатии 4-5ст + ЧАДЗН–18,7%, БЛД–7,3%, ВПС (ОАП, ДМЖП)–3% и нейросенсорная тугоухость–0,9%, детей, не имеющих инвалидности – 43,6%. Структура инвалидности статистически значимо не отличалась между двумя группами недоношенных детей ($p > 0,05$).

У детей с ОНМТ и ЭНМТ при рождении проанализировано психомоторное развитие по шкале КАТ/КЛАМС. Количество отстающих по речевому развитию детей увеличивается с возрастом, и к году жизни 59,6% детей, рождённых с ОНМТ (ЭКО), с ЭНМТ (ЭКО)–59,1%, с ОНМТ–52,1% и 52,3 % детей с ЭНМТ при рождении имели показатель речевого развития ниже 75%. К 2 годам показатель речевого развития становится нормой (75%) у детей, зачатых естественной беременностью, у детей же, рождённых с помощью метода ЭКО, показатель речевого развития остаётся низким (<75%).

Коэффициент познавательного развития у детей с ОНМТ и ЭНМТ в каждой из групп наблюдения был низким. К году скорректированного возраста практически половина недоношенных детей имели отставание в познавательном развитии без статистически значимых различий между подгруппами (57,6% с ОНМТ (ЭКО), 59,1% с ЭНМТ (ЭКО), ОНМТ–56,5% и ЭНМТ–54,7%). К 2 годам и далее до трёх лет коэффициент познавательного развития был в норме (>75).

Все дети (ОНМТ и ЭНМТ) демонстрировали низкие средние коэффициенты моторного развития без статистически значимого различия ($p > 0,05$). К году скорректированного возраста все дети (ОНМТ и ЭНМТ) имели отставание в моторном развитии (ОНМТ (ЭКО)–53,8%, ЭНМТ (ЭКО)–51,0%, ОНМТ–47,8% и ЭНМТ–50,0%). К 2 и 3 годам коэффициент моторного развития соответствует норме (>75%) без статистической разницы ($p > 0,05$). Таким образом, к 3 годам

коэффициент познавательного и моторного развития соответствовал возрасту, а коэффициент речевого развития ниже нормы на 1–2 эпикризных срока.

В рамках комплексной оценки состояния здоровья детей основной группы и группы сравнения проведён сравнительный анализ групп здоровья у обследованных недоношенных детей. Установлено, что подавляющее число детей основной группы и группы сравнения в год имели III группу здоровья преимущественно за счёт III ЦНС, задержки этапов развития, частых респираторных заболеваний и аллергического дерматита (40,6% против 42%; $p=0,91$). В 2 года наблюдалась динамика по группам здоровья: II группу здоровья имели больше дети, зачатых естественным путём (42 % против 20,8%; $p<0,006$), III группу больше имели дети, рождённые с применением метода ЭКО (35,6% против 14,8%; $p<0,005$). В 3 года выявлено, что большая часть детей основной группы имела III группу здоровья (31,7%; $p=0,05$).

Изученный фосфорно-кальциевый обмен показал, наличие статистически значимых различий в показателях исследуемых групп (основной и группы сравнения) по уровню: содержания кальция в группе ОНМТ (ЭКО) уровень был статистически значимо выше, чем в ЭНМТ (ЭКО) ($p=0,01$), по уровню содержания паратгормона в обеих группах ЭНМТ средний уровень содержания значимо ($p<0,001$ – ЭКО и $p=0,002$ – не ЭКО) выше, чем в группах ОНМТ, по уровню содержания кальцитонина в группе ОНМТ (ЭКО) было статистически значимо выше, чем в группе ЭНМТ (ЭКО) ($p=0,004$), по уровню содержания витамина D в группе детей с ОНМТ (ЭКО) было статистически значимо выше, чем в группе детей с ЭНМТ (ЭКО) ($p<0,001$). В группе ЭНМТ (ЭКО) показатель С-концевые телопептиды коллагена I типа значимо ниже, чем в трёх остальных группах (ОНМТ ($p=0,001$) против ОНМТ (ЭКО) ($p<0,001$) и против ЭНМТ ($p<0,001$)).

Но внутри группы выявлено, что у детей, рождённых с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) к году скоррегированного возраста снижены показатели витамина D, кальция, кальцитонина.

Выявлено статистически значимое повышение частоты гомозиготного генотипа T/T ($p=0,0053$, $\chi^2=8,13$) и непротективного аллеля *T ($p=0,0083$, $\chi^2=7,15$) полиморфного варианта rs1800012 гена COL1A1 в группе недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО. Мутантный аллель *T ассоциирован с нарушением правильного соотношения субъединиц в молекуле коллагена, ухудшением его прочностных свойств и, как следствие, снижением прочности и гибкости соединительной ткани. Выявлена лог-аддитивная модель взаимодействия аллелей, показывающая, что два мутантных аллеля *T увеличивают риск развития нарушений в соединительной ткани всего организма в два раза по сравнению с наличием одного аллеля в генотипе.

Получены статистически значимые различия в исследуемых группах по полиморфному варианту rs1544410 гена VDR. В основной группе значительно чаще встречается гомозиготный генотип В/В ($p=0,005$, $\chi^2=7,83$) и непротективный аллель *В ($p=0,04$, $\chi^2=4,22$), который характеризуется более активной экспрессией гена, что ведёт к увеличению образования продукта и, следовательно, более активному ингибированию нормального синтеза коллагена. Выявлена рецессивная модель взаимодействия аллелей, показывающая, что для проявления заболевания требуется оба варианта непротективных аллелей (гомозигота – В/В).

Следует подчеркнуть, что установлены важные отличия вида вскармливания детей, в зависимости от рождения с помощью ЭКО или при естественном зачатии. Дети основной группы (ЭКО) находились на искусственном и смешанном вскармливании, а дети группы сравнения – на грудном вскармливании.

Анализ сопоставления показателей выявил, что у большинства детей (ОНМТ и ЭНМТ), зачатых естественным путём, были нормальные значения SOS по сравнению с детьми, рождёнными с применением метода ЭКО (65,9% против 38,6%) ($p<0,001$). Снижение прочности кости ($SOS < 3\%$) наблюдалось у 12,8% детей группы ЭКО и 10,2% группы не ЭКО ($p=0,57$). Выявлено снижение прочности кости ($SOS < 10\%$ и $> 3\%$) 48,5% у недоношенных детей, рожденных с

применением метода ЭКО, в отличие от детей, зачатых естественной беременностью 23,8% ($p < 0,001$).

Таким образом, здоровье недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, родившихся с применением метода ЭКО, имеет особенности, характеризующиеся большей частотой соматической и неврологической патологии, низкой резистентностью к инфекциям, а также более низкими коэффициентами психомоторного развития в сравнении с недоношенными детьми, зачатые естественным путём. Большинство недоношенных детей достоверно отстают в физическом развитии по показателям массы тела и окружности груди внутри группы, и соответственно, у большинства недоношенных детей было дисгармоничное развитие за счёт дефицита массы тела.

На основании проведённого исследования и выявленных факторов риска развития костного метаболизма была разработана модель для выявления риска развития остеопении у недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО. Данная модель позволяет прогнозировать развитие риска нарушения костного метаболизма.

ВЫВОДЫ

1. Здоровье недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ, в том числе, рождённых с применением метода ЭКО, в первые 3 года характеризуется сочетанной соматической и неврологической патологией, что увеличивает риски реализации у них остеопении. Однако, на фоне лечения и реабилитации к 3 годам отмечается значимое улучшение их состояния.

2. Установлено, что формирование остеопении у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) определяется тяжестью антенатальной патологии (экстрагенитальной патологией матерей, социальными и медицинскими факторами, возрастом деторождения, а также гестационным сроком рождения). В связи с этим большой риск развития остеопении отмечается

у недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, особенно у детей, рожденных с ЭНМТ.

3. У недоношенных детей, рождённых с применением метода ЭКО, отмечается значимое повышение частоты гомозиготного генотипа Т/Т ($\chi^2=8,13$, $p=0,0053$) и непротективного аллеля *Т ($\chi^2=7,15$, $p=0,0083$) полиморфного варианта rs1800012 гена COL1A1 (у 54% детей). Получены статистически значимые различия в исследуемых группах по полиморфному варианту rs1544410 гена VDR (у 35% детей). В основной группе значительно чаще встречался гомозиготный генотип В/В ($p=0,005$, $\chi^2=7,83$) и непротективный аллель *В ($\chi^2=4,22$, $p=0,04$), который характеризуется более активной экспрессией гена и, следовательно, более активным ингибированием нормального синтеза коллагена. Выявленные генетические различия – наследуемые от родителей и не связаны с процедурой метода ЭКО.

4. У детей, рожденных с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО), по сравнению с недоношенными детьми, рождёнными с ОНМТ, к году скоррегированного возраста можно предполагать более высокий риск развития остеопении по совокупным параметрам снижения уровня в крови (витамина D, содержания кальция и кальцитонина) можно судить о более высоком риске развития остеопении. Также нами установлено, что содержание паратгормона у недоношенных детей с ЭНМТ (ЭКО и не ЭКО) выше, чем у недоношенных детей с ОНМТ и ОНМТ (ЭКО). В группе детей с ЭНМТ (ЭКО) С-концевые телопептиды коллагена I типа значимо ниже, чем у детей с ЭНМТ, ОНМТ и ОНМТ (ЭКО).

5. У детей (ОНМТ и ЭНМТ), рождённых с применением метода ЭКО, выявлено снижение прочности кости (SOS <10 % и >3%) у 48,5%, в отличие от детей, зачатых естественной беременностью 23,8% ($p<0,001$).

6. Комплексная оценка факторов риска и профилактика нарушений костного метаболизма у детей (ОНМТ и ЭНМТ), рождённых с применением метода ЭКО, может быть использована для прогнозирования риска формирования остеопении и последующего проведения ранних профилактических мероприятий.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Использование прогностической модели в клинической практике позволяет в более ранние сроки диагностировать остеопению у недоношенных детей, рожденных с ОНМТ (ЭКО) и ЭНМТ (ЭКО).

2. Консультирование матерей/родителей позволяет сформировать у родителей недоношенных детей правильное представление о роли сбалансированного питания, физической активности, влияния пассивного курения на первом году жизни и старше на развитие костно-мышечной системы ребёнка и здоровья в целом.

3. Детям раннего возраста из группы риска по формированию остеопении рекомендовано учитывать установленную зависимость развития остеопении от полиморфизма генов: гена VDR полиморфного варианта rs1544410 и COL1A1 полиморфного варианта rs1800012.

4. Всем недоношенным детям к году скорректированного возраста рекомендовано определение уровня витамина D с целью своевременной коррекции его дефицита.

5. Для прогнозирования неблагоприятных исходов по нарушению костного метаболизма у недоношенных детей (ОНМТ и ЭНМТ), родившихся с применением метода ЭКО, рекомендуется неонатологам и педиатрам использовать разработанные нами прогностическую модель и алгоритм наблюдения за недоношенными детьми.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Поиск механизмов, лежащих в основе нарушений костного метаболизма у детей, родившихся недоношенными.

2. Проведение комплексного исследования факторов риска патологии органов и систем у недоношенных детей, рождённых методом ЭКО.

3. Проведение наблюдения за показателями костного метаболизма у детей в школьном возрасте, в подростковом периоде, с целью выявления нарушений, связанных с выявленными генетическими особенностями гена рецептора витамина D.

4. Необходимо продолжить изучение факторов, оказывающих влияние на состояние костного метаболизма детей с ОНМТ и ЭНМТ, родившихся с применением метода ЭКО, с целью снижения количества детей с риском возникновения нарушений костной системы.

Перечисленные направления дальнейшей разработки темы являются актуальными задачами медицинской науки в нашей стране.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БЛД	– бронхолёгочная дисплазия
ВЖК	– внутрижелудочковое кровоизлияние
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
ВЗК	– воспалительные заболевания кишечника
ВПС	– врождённый порок сердца
ВРТ	– вспомогательные репродуктивные технологии
ГВ	– гестационный возраст
ГДИ	– границы доверительного интервала
ДА	– дисперсионный анализ
ДИ	– доверительный интервал
ДК	– диагностический коэффициент
ДМЖП	– дефект межжелудочковой перегородки
ДЦП	– детский церебральный паралич
ЗВУР	– задержка внутриутробного развития
ИКСИ	– инсеминация яйцеклетки спермой

КАТ/КЛАМС – шкала оценки психомоторного развития детей: Clinical Adaptive Test (CAT = КАТ), Clinical linguistic and auditory milestone scale (CLAMS = КЛАМС)

- КР – коэффициент развития
- КТ – компьютерная томография
- М – среднее арифметическое
- m – среднее квадратичное отклонение
- МБК – метаболическая болезнь костей
- МПКТ – минеральная плотность костной ткани
- МФС – морфофункциональное состояние
- НСГ – нейросонографическое исследование
- ОАП – открытый артериальный проток
- ОГМ – обогатитель грудного молока
- ОНМТ – очень низкая масса тела при рождении
- ООО – открытое овальное окно
- ОШ – отношение шансов (OR - Odds Ratio)
- Р – статистическая значимость
- ПКВ – постконцептуальный возраст
- ПП ЦНС – перинатальное поражение центральной нервной системы
- ПТГ – паратгормон
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РВД – рецептор витамина D
- РДС – респираторный дистресс – синдром
- РН – ретинопатия недоношенных
- СО – стандартная ошибка среднего значения
- УПБ – угроза прерывания беременности
- ХГП – хроническая гипоксия плода
- ЦНС – центральная нервная система
- ЧАДЗН – частичная атрофия диска зрительного нерва
- ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭКО	–	экстракорпоральное оплодотворение
ЭНМТ	–	экстремально низкая масса тела при рождении
ЭхоКГ	–	эхокардиография
ACTN3	–	ген (актинин)
AIC	–	критерий Акаике
C	–	коэффициент Пирсона
Ca	–	кальций
Col1A1	–	ген (коллаген 1 А типа)
DEXA	–	двухуровневая рентгеновская абсорбциометрия
J	–	информативность градации (Вальда)
MYH7	–	ген (миозин)
PVP	–	прогностичность положительного результата
PVN	–	прогностичность отрицательного результата
RR	–	относительный риск
Se	–	чувствительность
SOS	–	скорость ультразвуковой волны
Sp	–	специфичность
VDR	–	ген

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамкин, Д.Х. Стратегии питания младенцев с очень низкой массой тела при рождении / Д. Х. Адамкина. – Москва: ГЭОТАР–Медиа, 2013. – 176 с.
2. Аполихин, О.И. Современная демографическая ситуация и проблемы улучшения репродуктивного здоровья населения России / О.И. Аполихин, Н.Г. Москалева, В.А. Комарова // Экспериментальная и клиническая урология. – 2015. – №4. – С. 4–14.
3. Аронов, Д. М. Короткий международный опросник для определения физической активности International questionnaire on physical activity — IPAQ / Д. М. Аронов, В. Б. Красницкий, М. Г. Бубнова, 2013. – URL: <https://online->

edu.ranepa.ru/pluginfile.php/43102/mod_resource/content/2/2020-12_HMF_m01-03_dop.pdf (дата обращения: 22.12.2020)

4. Аюбова, Т. К. Возраст женщины как медико-социальный фактор риска по материнской и перинатальной патологии и разработка организационных подходов по его устранению / Т. К. Аюбова // Социальные аспекты здоровья населения. – 2015. – Т. 45, № 5. – С. 7.
5. Баранов, А.А. Справка о состоянии здоровья детей, родившихся в результате использования вспомогательных репродуктивных технологий, в том числе ЭКО. – 2012. – URL:<http://pediatr-russia.ru/node/124>. (дата обращения: 09.11.2015).
6. Бочков, Н. П. Медицинская генетика: учебник / Н. П. Бочков, А. Ю. Асанов, Н. А. Жученко [и др.]. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 224 с.
7. Вахлова, И.В. Обеспеченность витамином D и эффективность его профилактического назначения у детей раннего возраста / И.В. Вахлова, Н.А. Зюзева // Практическая медицина. – 2017. – №5 (106). – С. 31–36.
8. Витамин D и аутоиммунные заболевания / Е.А. Потрохова, Н.В. Соболюк, С.В. Бочанцев, В.П. Гапоненко// Российский вестник перинатологии и педиатрии – 2017. – Т. 62, №1. – С. 26–32.
9. Витамин D у новорождённых и недоношенных детей / М.В. Нароган, И.И. Рюмина, К.Н. Крохина В.В. [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2018. – Т. 6. № 3. – С. 134–138.
10. Внедрение национальной программы по профилактике и коррекции гиповитаминоза D у детей: первые результаты в группе раннего возраста / И.Н. Захарова, Л.Я. Климов, А.В. Ягупов [и др.] // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. – 2021. – Т.100, №1. –С. 67–74.
11. Габруская, Т. В. Оценка состояния метаболизма костной ткани у детей с воспалительными заболеваниями кишечника: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08 / Габруская Татьяна Викторовна. – Санкт-Петербург, 2018. –27 с.
12. Гланц, С. Медико-биологическая статистика /С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

13. Гржибовский, А. М. Анализ номинальных данных (независимые наблюдения) / А.М. Гржибовский // Экология человека. 2008, № 06. С. 58-68.
14. Громова, О.А. Витамин D – смена парадигмы / О.А. Громова, И.Ю. Торшин. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2021. – 736 с.
15. Громова О.А. Витамин D – смена парадигмы / О. А. Громова, И.Ю. Торшин; под ред. акад. РАН Е.И. Гусева, проф. И.Н. Захаровой. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2017. – С. 417–420.
16. Громова, О.А. Витамин D и его синергисты. Лекция / О.А. Громова // Здоровый ребенок. – 2015. – №1. – С. 14–19.
17. Гублер, Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е.В. Гублер. – Ленинград: Медицина, 1978. – 296 с.
18. Д-дефицитное состояние у часто болеющих детей в Амурской области / Романцова Е.Б. [и др.] // Практическая медицина. – 2017. – №5(106). – С. 51–53.
19. Жижин, К.С. Медицинская статистика: учеб. пособие / К.С. Жижин. – Ростов на Дону: Феникс, 2007. – 160 с.
20. Жирнов, В.А. Анализ соматического статуса новорождённых детей, зачатых посредством экстракорпорального оплодотворения / В.А. Жирнов, М.В. Дмитриева, Д.Р. Рустянова // Молодой ученый: вызовы и перспективы: материалы VI Междунар. науч.-практической конф. - М.: Изд-во ООО "Интернаука", 2016. – С. 67–71.
21. Захарова, И.Н. Что нужно знать педиатру о витамине D: Новые данные о диагностике и коррекции его недостаточности в организме / И.Н. Захарова, О.А. Громова // Педиатрия. – 2015. – Т. 94, № 6. – С.1–7.
22. Здоровье детей, рожденных после применения экстракорпорального оплодотворения, и их матерей / Н.Д. Гаджимуратова, Л.А. Пыхтина, О.М. Филькина, А.И. Малышкина // Врач-аспирант. –2015. – Т.71, №4. – С.51-56.
23. Здоровье недоношенных детей при многоплодной индуцированной беременности / Ю.В. Черненко, В.Н. Нечаев, Ю.В. Стасова, В.А. Терещенко // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2015. – С. 305–309.

24. Зюзева Н.А. Комплексная оценка состояния здоровья и обеспеченность витамином D детей раннего возраста: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08 / Зюзева Наталия Анатольевна. – Екатеринбург, 2018. – 27с.
25. Каргина, И.Г. Современные представления о роли витамина D /И.Г. Каргина В.А. Щербак // Российский педиатрический журнал. – 2016. – Т.19, №2. – С.103–105.
26. Кешишян, Е.С. Оценка психомоторного развития ребенка раннего возраста в практике педиатра / Е.С Кешишян, Е.С. Сахарова, Г.А. Алямовская. - М.: ГЭОТАР–Медиа, 2020. –12 с.
27. Кешишян, Е.С. Состояние здоровья и развития детей, рождённых после экстракорпорального оплодотворения / Е.С. Кешишян, А.Д. Царегородцев, М.И. Зиборова // Российский Вестник перинатологии и педиатрии. – 2014. – Т. 59. – № 5. – С. 15–25.
28. Киншт, Д.А. Здоровье новорождённых от одноплодной индуцированной беременности: собственный опыт наблюдения МЦ «Авиценна» / Д.А. Киншт, М.К. Соболева, И.В. Айзикович // Репродуктивная медицина. – 2014. – Т. 20. – № 3–4. – С. 18–23.
29. Киншт, Д.А. Индуцированная беременность: антенатальный период и здоровье новорождённых (обзор литературы) / Д.А. Киншт, М.К. Соболева И.В. Айзикович // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2015. – №54 (3). – С. 65–72.
30. Киншт, Д.А. Распространенность врождённых пороков развития у новорождённых после применения вспомогательных репродуктивных технологий / Д.А. Киншт, М.К. Соболева, И.В. Айзикович // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2014. – № 47 (1). – С. 44–48.
31. Киселева, М.А. Здоровье детей, рожденных доношенными в результате вспомогательных репродуктивных технологий / М.А. Киселева // Курский научно-практический вестник «Человек и здоровье». – 2016. – №1. – С. 32–36.
32. Кишкун, А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики / Кишкун А. А. – Москва: ГЭОТАР–Медиа, 2014. – 800 с.

33. Коденцова, В.М. Обеспеченность детей витамином D. Сравнительный анализ способов коррекции / В.М. Коденцова, Д.В. Рисник // Лечащий врач. – 2020. – №2. – С.35–43.
34. Коденцова, В.М. Национальная программа по оптимизации обеспеченности витаминами и минеральными веществами детей России. Краткий обзор документа / В.М. Коденцова, Л.С. Намазова-Баранова, С.Г. Макарова // Педиатрическая фармакология, 2017. – №14 (6). – С. 478 –493.
35. Комплексная оценка здоровья детей и подростков: учебное пособие / Н. Е. Санникова, Т. В. Бородулина, Л. В. Левчук [и др.]. – Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2014. – 120с.
36. Коэффициент развития по шкале CAT/CLAMS у детей, перенесших неонатальную реанимацию / Э.Н. Ахмадеева, А.Я. Валиулина, Л.Р. Нурлыгаянова [и др.] // Актуальные проблемы педиатрии: сборник материалов XII конгресса педиатров России. – Москва: Союз педиатров России, 2008. – С. 18.
37. Краснощока, О.Е. Клинические и эмбриологические аспекты селективного переноса одного эмбриона / О.Е. Краснощока, В.Ю. Смольникова, Е.А. Калинина // Проблемы репродукции. – 2015. –Т. 21. – № 2. – С. 51–57.
38. Крутикова, Н.Ю. Роль количественной ультрасонометрии в оценке возрастных показателей костной прочности у детей // Вопросы практической педиатрии. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 11 –16.
39. Крутикова Н. Ю. Возрастные особенности костной прочности у новорождённых, детей раннего и дошкольного возраста (факторы риска, диагностика, профилактика, коррекция нарушений): Автореф. дис. ... доктора медицинских наук: 14.01 08 / Крутикова Надежда Юрьевна. – М., 2012. – 53 с.
40. Крутикова, Н.Ю. Новые методы диагностики нарушения костного метаболизма у новорождённых детей / Н.Ю. Крутикова, Л.А. Щеплягина, Л.В. Козлова // Вестник Смоленской медицинской академии. – 2003. – №5. – С. 1– 2.
41. Кузьмичев, К.А. Врождённые пороки развития и хромосомные аномалии у детей после ЭКО / К.А. Кузьмичев, О.В. Тюмина, О.Б. Чертухина // Здоровье и образование в XXI веке. – 2018. – Т. 20, №1. – С. 82 – 86.

42. Кутихин, А. Г. Современные тенденции статистической обработки данных и представления результатов в кандидатных генетико-эпидемиологических исследованиях // А. Г. Кутихин, А. Е. Южалин, А. В. Понасенко // *Фундаментальная и клиническая медицина*. – 2017. – Т. 2. – № 2. – С. 77 – 82.
43. Майлян, Э.А. Экстраскелетные эффекты витамина D: роль в патогенезе аллергических заболеваний / Э.А. Майлян, Н.А. Резниченко, Д.Э. Майлян // *Медицина. Фармация*. – 2017. – Т.254, № 5. – С. 22–32.
44. Макарова, С.Г. Витамины в профилактике и лечении аллергических болезней у детей / С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова // *Педиатрическая фармакология*. – 2015. –Т. 12, №5. – С. 562-572.
45. Макарова, С.Г. Обеспеченность микронутриентами и профилактика пищевой аллергии: существует ли «окно превентивной витаминизации» / С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. – 2017. – Т 96, №2. – С. 114–121.
46. Макарова, С.Г. Обеспеченность микронутриентами и профилактика аллергии: существует ли «окно превентивной витаминизации»? / С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова // *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского*. – 2016. –Т. 95, №6. – С. 157–165.
47. Мальцев, С.В. Витамин D и иммунитет / С.В. Мальцев, Н.В. Рылова// *Практическая медицина*. – 2015. – Т. 86, №1. – С. 114–120.
48. Мальцев, С.В. Метаболизм витамина D и пути реализации его основных функций / С.В. Мальцев, Г.Ш. Мансурова // *Практическая медицина*. – 2014. – Т.85, № 9. – С. 12–18.
49. Мальцев, С.В. Обеспеченность витамином D детей разных возрастных групп в зимний период / С.В. Мальцев, А.М. Закирова, Г.Ш. Мансурова // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2017. – Т. 62, №2. – С. 99–103.
50. Медико-социальные проблемы вспомогательных репродуктивных технологий с позиции педиатрии / А.А. Баранов [и др.] // *Вестник РАМН*. – 2015. – Т.70, № 3. – С. 307–314.

51. Мельник, Л.А. Состояние здоровья детей, рождённых при помощи вспомогательных репродуктивных технологий / Л.А. Мельник, А.С. Иова, Л.М. Щугарева // Педиатрия. – 2017. – Т. 96, № 1. – С. 110–116.
52. Михеева, Е.М. Здоровье детей, рождённых с использованием вспомогательных репродуктивных технологий / Е.М. Михеева, Н.И. Пенкина // Практическая медицина. – 2014. – Т. 85, № 9. – С. 47–51.
53. Мотренко, Т. Вспомогательные репродуктивные технологии и риск эпигенетического перепрограммирования у потомства / Т. Мотренко // Проблемы репродукции. – 2016. – Т. 22, № 4. – С. 52 – 59.
54. Намазова-Баранова, Л.С. Витамины и минеральные вещества в практике педиатра / Л.С. Намазова-Баранова, С.Г. Макарова, В.М. Студеникин. – Москва: ПедиатрЪ, 2016. – 300 с.
55. Нароган, М.В. Остеопения (Метаболическая болезнь костей) у недоношенных: возможности диагностики, лечения и профилактики / М.В. Нароган, И.И. Рюмина, А.В. Степанов // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2014. – №3. – С. 77 – 83.
56. Национальная программа «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции». Союз педиатров России [и др.]. М.: ПедиатрЪ, 2018: 98 с.
57. Национальная программа по оптимизации обеспеченности витаминами и минеральными веществами детей России (и использованию витаминных и витаминно-минеральных комплексов и обогащенных продуктов в педиатрической практике). Союз педиатров России [и др.]. Москва: ПедиатрЪ, 2017. 152 с.
58. Национальная программа по оптимизации обеспеченности витаминами и минеральными веществами детей России: монография / Баранов А.А. [и др.]. – М.: ПедиатрЪ, 2017. – 152 с.
59. Недостаточность витамина D у детей раннего возраста в России: результаты многоцентрового когортного исследования «Родничок» (2013–2014 гг.) / И.Н. Захарова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2014. – Т. 13. – № 6. – С. 30–34.

60. Обеспеченность витамином D детей грудного возраста / И.Н. Захарова [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – №61(6). – С. 68–76.
61. Обеспеченность витамином D и коррекция его дефицита в различных возрастных группах населения Арктической зоны РФ / С.И. Малявская [и др.] // Практическая медицина – 2017. – №5(106). – С. 41–44.
62. Обеспеченность витамином D и коррекция его недостаточности у детей раннего возраста в Российской Федерации (фрагмент Национальной программы) / С.И. Малявская [и др.] // Практическая медицина. – 2017. – №5(106). – С. 22–28.
63. Обеспеченность витамином D населения различных возрастных групп, проживающих в городе Архангельске / С.И. Малявская [и др.] / Вопросы современной педиатрии. – 2015. – № 14(6). – С. 681–685.
64. О дозировании витамина D у детей и подростков / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, И.Н. Захарова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2015. – Т.14, №1. – С. 38–47.
65. Омарова, Н.Х. Генетические факторы дефицита витамина D3 и их клиническое значение / Н.Х. Омарова, Э.М. Солтаханов, П.А. Омарова // Экологическая медицина. – 2019. – Т. 2, №1. – С. 72–78.
66. Орлова, О.С. Особенности речевого развития детей-близнецов, родившихся в результате вспомогательных репродуктивных технологий / О.С. Орлова, В.А. Печенина // Специальное образование. – 2014. – №. 4. – С. 50–54.
67. Печенина, В.А. Результаты применения вспомогательных репродуктивных технологий в различных регионах России и их влияние на состояние здоровья новорождённых / В. А. Печенина, О. С. Орлова, Л. В. Арзамасцева // Логопедия. – 2015. – № 1. – С. 89 – 92.
68. Плавинский, С.Л. Введение в биостатистику для медиков / С.Л. Плавинский. – Москва: Акварель, 2011. – 584 с.
69. Показатели здоровья и развития доношенных детей, родившихся после ЭКО, в возрасте 1–3 лет / М.А. Киселева, Г.Н. Буслаева, Е.М. Карачунская М.В. Жолковская // Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского. – 2016. – Т. 95, №2. – С. 196–197.

70. Программа оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации: Метод. рекомендации / Баранов А.А. [и др.]. – Москва: [б. и.], 2019. – 112 с.
71. Рациональное вскармливание недоношенных детей. Методические указания / Т.Э. Боровик [и др.]. – Москва: Союз педиатров России, 2012. – 41с.
72. Роль антимикробных пептидов и витамина D в формировании противoinфекционной защиты / И.Н.Захарова [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2017. – Т. 96, №4. – С.171–179.
73. Романцов, М.Г. Респираторные заболевания у часто болеющих детей / М.Г. Романцов. И.Ю. Мельникова, Ф.И. Ершов. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2015. – 160 с.
74. Русанова, Н.Е. Социально-демографические эффекты вспомогательных репродуктивных технологий / Н.Е. Русанова // Моделирование демографического развития и социально-экономическая эффективность реализации демографической политики России: Материалы Международной науч.-практической конференции. - Москва: Финансовый университет при Правительстве Российской Федерации, Институт социально-политических исследований РАН. – 2015. – С. 312–317.
75. Сахарова, Е.С. Система абилитации детей, рожденных недоношенными, в том числе с низкой и экстремально низкой массой тела: автореф. дисс... док.мед. наук: 14.01.08 / Сахарова Елена Станиславовна. – Москва, 2018. – 274 с.
76. Современные методы диагностики и лечения бесплодного брака / С.Е. Еркенова [и др.] // Вестник КазНМУ. – 2017. – С. 3–5.
77. Соловьева, Е.В. Особенности развития детей, зачатых при помощи вспомогательных репродуктивных технологий / Е. В. Соловьева // Современная зарубежная психология. –2014. –Т. 3, №4. – С.33–47.
78. Зюзикова, З.С. Состояние здоровья детей, рожденных в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий: позиция эндокринолога / З.С. Зюзикова, Н.Н. Волевод, О.Р. Григорян [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2018. – Т. 64, № 4. – С. 235–243.

79. Спицына, Н.А. Возможности проведения экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) / Н.А. Спицына, О.А. Белобородова // Молодой учёный. – 2015. – Т. 87, №7. – С. 317 – 320.
80. Стасова, Ю.В. Показатели здоровья недоношенных детей, рождённых с помощью вспомогательных репродуктивных технологий / Ю.В. Стасова В.А. Терещенко // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2015. №5. – С. 367–370.
81. Страсти вокруг ЭКО: эксперты спорят о здоровье детей, зачатых пробирке // Медновости [сайт] - 2015. - URL: <http://medportal.ru/mednovosti/news/2015/05/07/635eko/> (дата обращения: 09.11.2020).
82. Суманеева, А.С. Состояние здоровья детей дошкольного возраста, рождённых путем экстракорпорального оплодотворения / А.С. Суманеева, Е.Ю. Муц, Ю.В. Макарова // Смоленский медицинский альманах. – 2016. – №1. – С. 234 – 237.
83. Трухачева, Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н.В. Трухачева. - Москва: ГЭОТАР – Медиа, 2013. – 384 с.
84. Тюмина, О. В. Здоровье женщин позднего репродуктивного возраста с бесплодием / О.В. Тюмина. – Москва: Издательский дом Академия естествознания, 2016. – 209 с.
85. Тюмина, О.В. Научное обоснование системы мероприятий по совершенствованию медицинской помощи женщинам позднего репродуктивного возраста с бесплодием: Автореф. дис. ... доктора мед. наук: 14.02.03 / Тюмина Ольга Владимировна. М., 2016. – 50 с.
86. Халафян, А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных: Учеб. пособие для высших учебных заведений / А.А. Халафян. – М.: Бином, 2008. – 522 с.
87. Энтеральное вскармливание недоношенных детей / Е.В. Грошева [и др.] // Избранные клинические рекомендации по неонатологии. - Москва: ГЭОТАР – Медиа, 2016. – Гл.5. – С. 103–123.

88. Юнкеров, В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров. – Санкт-Петербург: Военно-медицинская академия. – 2002. – 266 с.
89. 1,25-dihydroxyvitamin D promotes negative feedback regulation of TLR signaling via targeting microRNA-155-SOCS1 in macrophages / Y. Chen [et al.] // *J. Immunol.* – 2013. – Vol.190, № 7. – P. 3687–3695.
90. Abrams, S.A. Calcium and vitamin D requirements of enterally fed preterm infants / S.A. Abrams, the Committee on Nutrition // *Pediatrics.* – 2013. -- Vol. 131. – P. 676–683.
91. Agier, J., Brzezinska-Blaszczyk E. Cathelicidins and defensins regulate mast cell antimicrobial activity / J. Agier, E. Brzezinska-Blaszczyk// *Hig. Med. Dosw. (Online).* – 2016. – №70. – P. 618–636.
92. Alizadeh, Taheri P. Prophylactic effect of low dose vitamin D in osteopenia of prematurity: a clinical trial / P. Alizadeh Taheri, N. Sajadian, B. Beyrami, M. Shariat // *Acta. Med. Iran.* – 2014. – Vol. 52, № 9. – P. 671–674.
93. Assessment of the place of tubular reabsorption of phosphorus in the diagnosis of osteopenia of prematurity / D. Acar Besnili, S. Kavuncuoğlu, M. Çetinkaya [et al.] // *Türk. Pediatr. arşivi.* – 2015. – Vol. 50, №1. – P.45–50.
94. Association between inflammatory bowel disease and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis / R. Del. Pinto. [et al.] // *Inflamm Bowel Dis.* – 2015. – Vol. 21, №11. – P. 2708–2717.
95. Association between vitamin D receptor polymorphisms and multiple sclerosis: systematic review and meta-analysis of case-control studies / K. Tizaoui, W. Kaabachi A. Hamzaoui, K. Hamzaoui K// *Cell. Mol. Immunol.* – 2015. – Vol. 12, №2. – P. 243–252.
96. Association of vitamin D deficiency with hepatitis B virus-related liver diseases / N.X. Hoan, N. Khuyen, M.T. Binh [et al.] // *BMC Infect. Dis.* – 2016. – №16. – P. 507.
97. Association of vitamin D receptor polymorphisms and type 1 diabetes sseptibility in children: A meta-analysis / O.A. Sahin, D. Goksen, A. Ozpinar [et al.] // *Endocr. Connect.* – 2017. – Vol. 6, №3. – P. 159–171.

98. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with susceptibility to childhood asthma: A meta-analysis / D.D. Zhao, D.D. Yu, Q.Q. Ren [et al.] // *Pediatr. Pulmonol.* – 2017. – Vol. 52, №4. – P. 423–429.
99. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to ulcerative colitis and crohn's disease: a meta-analysis inflamm bowel / L.N. Xue, K.Q. Xu, W. Zhang [et al.] // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2013. – Vol. 19, №1. – P. 54–60
100. Autism and mental retardation among off spring born after in vitro fertilization / S. Sandin, R.G. Nygren, A. Iliadou [et al.] // *JAMA.* – 2013, – Vol. 310, №1. – P.75–84.
101. Babolewska, E., Brzezinska-Blaszczyk E. Human-derived cathelicidin LL-37 directly activates mast cells to proinflammatory mediator synthesis and migratory response / E. Babolewska, E. Brzezinska-Blaszczyk // *Cell Immunol.* – 2015. – Vol. 293, №2. – P. 67–73.
102. Barbalho, S.M. Associations between inflammatory bowel diseases and vitamin D / S.M. Barbalho, R.A. Goulart, R.G. Gasparini // *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* – 2017. – Vol. 13. – P. 1–10.
103. Çakir, U. The effect of thyroid functions on osteopenia of prematurity in preterm infants / U. Çakir, C. Tayman // *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism.* – 2019. – Vol. 32, №1. – P. 65–70.
104. Calcitriol treatment in metabolic bone disease of prematurity with elevated parathyroid hormone: a preliminary study / S.E. Rustico, A. Kelly, H. M. Monk., A. Calabria // *J. Clinical Transl. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 2, № 1. – P. 14 –20.
105. Calvo M.S. Survey of current vitamin D food fortification practices in the United States and Canada / M.S. Calvo, S.J. Whiting // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 136. – P. 211–213.
106. Chakhtoura M. The role of vitamin D deficiency in the incidence, progression, and complications of type 1 diabetes mellitus / M. Chakhtoura, S.T. Azar // *Int. J. Endocrinol.* – 2013. – P.1124.
107. Child growth standards // World Health Organization: [website]. – 2021. - URL: <https://www.who.int/tools/child-growth-standards> . - (accessed: 23.10.2021).

108. Clinical, biochemical, and radiological manifestations of vitamin D deficiency in newborns presented with hypocalcemia /A. Soliman, H. Salama, S. Alomar S. [et al.] // *Indian J. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 17, № 4. – P. 697–703.
109. Clinical guidelines: nutritional support of neonatal patients at risk for metabolic bone disease/ D. Nehra, J Carlson, D. Erica [et al.] // *JPEN.* – 2013. – Vol. 37, № 5. – P. 570 – 598.
110. Cloherty and Stark’s manual of neonatal care / E.C. Eichenwald, A.R. Hansen, A.R. Stark, C.R. Martin. - India: Wolters Kluwer Health. – 2021. – 1112 p.
111. Congenital rickets presenting as refractory respiratory distress at birth/S. Tiwari, R. Kumar, S. Singla [et al.] // *Indian J. Pediatr.* – 2014. – Vol. 81, № 8. – P. 800–802.
112. Cord serum 25-hydroxyvitamin D and risk of early childhood transient wheezing and atopic dermatitis / N. Baïz, H. Dargent-Molina, J.D. Wark [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 2014. Vol. 133, № 1. – P.47–53.
113. Cord serum 25-hydroxyvitamin D correlates with early childhood viral-induced wheezing / Stelmach I. [et al.] // *Respiratory Medicine.* – 2015. – № 109 (1). – P. 38–43.
114. Dawodu, A. Maternal vitamin D status: effect on milk vitamin D content and vitamin D status of breastfeeding infants/A. Dawodu, R.C. Tsang// *Adv. Nutr.* – 2012. – Vol. 3, № 3. – P.353–361.
115. DNA methylation and gene expression differences in children conceived in vitro or in vivo / S. Katari, N. Turan, M. Bibikova [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2009. – Vol. 18, №20. – P. 3769 – 3778.
116. Early high calcium and phosphorus intake by parenteral nutrition prevents short-term bone strength decline in preterm infants / L. Pereira-da-Silva, A.B. Costa, L. Pereira [et al.] // *JPGN.* – 2011. – Vol. 52. – P. 203–209.
117. Effect of vitamin D administration in vitamin D-deficient pregnant women on maternal and neonatal serum calcium and vitamin D concentrations: a randomised clinical trial / S. Hashemipour, F. Lalooha, S.Z. Mirdamadi [et al.] // *Nutr.* – 2013. – Vol. 110, № 9. – P. 1611–1616.

118. Elidrissy, A. T. The return of congenital rickets: are we missing occult cases? / A.T. Elidrissy // *Calcif. Tissue Int.* – 2016. – Vol. 99, № 3. – P. 227–236.
119. Establishing the prevalence of low vitamin D in non-immunoglobulin-E mediated gastrointestinal food allergic children in a tertiary centre / F. Ru-Xin, M. Rosan, R. Dziubak [et al.] // *World Allergy Organ. J.* – 2017. – Vol. 10, №1. – P. 4.
120. Feldman A.G. Neonatal cholestasis/A.G. Feldman, R.J. Sokol // *Neoreviews.* – 2013. – Vol. 14, № 2. – P. 63.
121. Gene Cards. The humane gene compendium // Gene Cards. The Human gene database [website]. – 2021. - URL: <https://www.genecards.org/>. - (accessed: 23.10.2021).
122. Global Consensus Recommendations on prevention and management of nutritional rickets / C.F. Munns, N. Shaw, M. Kiely [et al.] // *Horm. Res. Paediatr.* – 2016. –Vol. 85. – P. 83– 106.
123. Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets / C.F. Munns N. Shaw, M. Kiely [et al.] // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 101, № 2. – P. 394 – 415.
124. Gomella, T.L. Neonatology: Management, Procedures, On-Call Problems, Diseases, and Drugs / T.L. Gomella // Medical Publishing Division. - 2013. – 367p.
125. Greer, F.R. Controversies in neonatal nutrition: macronutrients and micronutrients / F.R. Greer // *Gastroenterology and Nutrition: Neonatology Question and Controversies.* - Philadelphia: Elsevier: Saunders, – 2012. - P. 129– 155.
126. Hart, R. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment: part I - general health outcomes /R. Hart, R.J. Norman // *Hum. Reprod. Update.* – 2013. – Vol. 19, №3. – P. 232– 243.
127. Hart, R. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment. Part II - mental health and development outcomes / R. Hart, R.J. Norman// *Hum. Reprod. Update.* – 2013. – Vol. 19, №3. – P. 244 – 250.
128. Harding J.E. Advances in nutrition of the newborn infant / J.E. Harding, B.E Cormack, T. Alexander, J.M. Alsweiler, F.H. Bloomfield// *Lancet* 2017; 389(10079): 1660-1668.

129. High frequencies of elevated alkaline phosphatase activity and rickets exist in extremely low birth weight infants despite current nutritional support / S.M Mitchell, S.P Rogers, P.D Hicks [et al.]. - *Pediatr.* – 2009. – Vol. 9. – P. 47.
130. Hirahara, K. CD4+ T-cell subsets in inflammatory diseases: beyond the Th1/Th2 paradigm/ K. Hirahara, N. Nakayama // *Int. Immunol.* – 2016. – Vol. 28, №4. – P. 163–171.
131. Higher vitamin D serum concentration increases health related quality of life in patients with inflammatory bowel diseases / T. Hlavaty, A. Krajcovicova, T.Koller [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, № 42. – P. 15787–15796.
132. Hossein-Nezhad, A. Vitamin D for health: A Global Perspective / A. Hossein-Nezhad, M.F. Holick // *Mayo Clin. Proc.* – 2013. – Vol. 88, № 7. – P. 720–755.
133. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA) / M. J. Ackerman [et al.] // *Heart Rhythm.* – 2011. –Vol. 8, № 8. – P. 1308–1339.
134. Imaging findings and evaluation of metabolic bone disease /A.A. Patel, R. Ramanathan, J. Kuban [et al.] // *Adv. Radiol.* – 2015. – P. 1–21.
135. Karpen, H.E. Mineral homeostasis and effects on bone mineralization in the preterm neonate / H.E. Karpen // *Clinical Perinatology.* – 2018. – Vol. 45, №1. – P. 129–141.
136. Kelly, A. Metabolic bone disease screening practices among U.S. Neonatologists / A. Kelly, K.J. Kovatch, S.J. Garber // *Clin. Pediatr. (Phila).* – 2014. – Vol. 53, №11 – P. 1077–1083.
137. Kovacs, C.S. Bone metabolism in the fetus and neonate / C.S. Kovacs // *Pediatr. Nephrol.* – 2014 – Vol. 29, №5. –P. 793–803.
138. Land C, Schoenau E. Fetal and postnatal bone development: reviewing the role of mechanical stimuli and nutrition/ C. Land, E. Schoenau// *Best Practice and Research in Clinical Endocrinology and Metabolism.* – 2008. – Vol. 22, №1. – P. 107–118.

139. Low cord-serum 25-hydroxyvitamin D levels are associated with poor lung function performance and increased respiratory infection in infancy/S.H. Lai, S.L. Liao, M.H. Tsai [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12, №3. – P. 0173268.
140. Low vitamin D levels are associated with atopic dermatitis, but not allergic rhinitis, asthma, or IgE sensitization, in the adult Korean population / H.M. Cheng, S. Kim, G.H. [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2014. – Vol. 133. – P. 1048–1055.
141. Lu, Y.H. Long-term follow-up of children conceived through assisted reproductive technology / Y.H. Lu, N. Wang, F. Jin // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* – 2013. – Vol. 14, №5. – P. 359-371.
142. Luke B. Pregnancy and birth outcomes in couples with infertility with and without assisted reproductive technology: with an emphasis on us population-based studies / B. Luke // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2017. – Vol. 217 (3). – P. 270 – 281.
143. Maternal and infant vitamin D status during the first 9 months of infant life - a cohort study / S. Strey, U.K. Moller, L. Rejnmark [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2013. – Vol. 67, №10. – P. 1022 –1028.
144. Meta-analysis of all cause mortality according to serum 25 hydroxyvitamin D / C. F. Garland [et al.] // *Am J Public Health*. – 2014. – Vol.104, № 8. – P. 43 –50.
145. Metabolic bone disease of prematurity: diagnosis and management / M.F. Faienza [et al.] // *Front. Pediatric*. – 2019. – № 7. – P. 143 –145.
146. Metabolic bone disease in preterm babies: are we underestimating it? / K. El-Atawi, M Elhalik, T. Kulkarni [et al.] // *J. Pediatr. Neonatal. Care*. – 2019. – Vol. 9, №2. – P. 36–41.
147. Mimouni, F.B. Vitamin D in the newborn, part I: Assessment of status and deficiency risk factors / F.B. Mimouni // *NeoReviews*. – 2014. – Vol. 15, № 5. – P. 187–192.
148. Mimouni, F.B. Vitamin D in the newborn, Part II: Bases for current dietary recommendations in term and preterm neonates / F.B. Mimouni // *Neoreviews*. – 2014. – Vol. 15, № 5. – P. 193-198.

149. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after ICSI with testicular or epididymis sperm: a controlled national cohort study / J. Fedder, A. Loft, E.T. Parner [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 28, № 1. – P. 230–240.
150. Osteopenia of prematurity - prophylaxis, diagnostics and treatment / S. Hitrova, B. Slancheva, A. Popivanova [et al.] // *Akush. Ginekol. (Sofia)*. – 2012. – Vol. 51, № 7. – P. 24–30.
151. Osteoporosis: A Silent Disease with Complex Genetic Contribution / M.M. Golchin, L. Heidar, S.M. Hossein [et al.] // *Journal of Genetics and Genomics.* – 2016. – Vol. 43, №2. – P. 49–61.
152. Outcomes of standardised approach to metabolic bone disease of prematurity / L.K. Chin, J. Doan, YSL Teoh [et al.] // *J. Paediatr. Child. Health.* – 2018. – Vol. 54, №6. – P. 665–670.
153. Patel, P. Update on vitamin D in infants / P. Patel, J. Bhatia // *The Nest.* – 2014. – Vol. 37. – P. 6–7.
154. Patole, S. Nutrition for the Preterm Neonate. A Clinical Perspective / S. Patole. – Springer, 2013.
155. Pediatric position development conference: executive summary and reflections / C.M. Gordon [et al.] // *J. Clin. Densitom.* – 2014. – Vol. 17, №2. – P. 219–224.
156. Pfothauer, K.M. Vitamin D Deficiency, its role in health and disease, and current supplementation recommendations / K.M. Pfothauer, J.H. Shubrook // *J. Am. Osteopath. Assoc.* – 2017. – Vol. 117, № 5. – P. 301–305.
157. Physical activity programs for promoting bone mineralization and growth in preterm infants/ S.M. Schulzke, S. Kaempfen, D. Trachsel, S.K. Patole // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2014. – Issue 4. - DOI: 10.1002/14651858.CD005387.pub3.
158. Plasma metabolomic profiling suggests early indications for predisposition to latent insulin resistance in children conceived by ICSI/A. Gkourogianni, I. Kosteria, A.G. Telonis [et al.] // *Plos. One.* – 2014. – Vol. 9, №4. – P. 94001.
159. Polymorphism in the vitamin D receptor gene and risk of autoimmune thyroid disease: a meta-analysis/M. Feng, H. Li, S.F. Chen [et al.] // *Endocrine.* 2013; 43:318–26.

160. Polymorphisms of the vitamin D receptor gene and the risk of inflammatory bowel disease: a meta-analysis/ L. Wang, Z.T. Wang, J.J. Hu [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2014. – Vol. 13, №2. – P. 2598–2610.
161. Postnatal “speed of sound” decline in preterm infants: An Exploratory Study / P. Roggero, M.L. Gianni, A. Orsi [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2007. – Vol. 45. – P. 615 –617.
162. Proceedings of the global neonatal consensus symposium: feeding the preterm infant, october 13-15, 2010, Chicago, Illinois // *J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 162, № 3. – P. S1-116.
163. Randomized trial of vitamin D supplementation for winter-related atopic dermatitis in children / C.A. Camargo, D. Ganmaa, R. Sidbury [et al.] // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2014. – Vol. 134. – P. 831–835.
164. Reproductive technologies and the risk of birth defects/M.J. Davies, V.M. Moore, K.J. Willson [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366, №19. – P.1803–1813.
165. Rustico, S.E. Metabolic bone disease of prematurity / S.E. Rustico, A.C. Calabria, S.J., Garbe // *J. Clin. Transl. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 1, №3. – P. 85–91.
166. Sardecka, I. The influence of dietary immunomodulatory factors on development of food allergy in children/ I. Sardeck, A. Krogulska, E. Toporowska-Kowalsk // *Postepy. Dermatol. Alergol.* – 2017. – Vol. 34, №2. – P. 89–96.
167. Seasonal variations of 25-OH vitamin D serum levels are associated with clinical disease activity in multiple sclerosis patients // C. Hartl, V. Obermeier, L.A. Gerdes [et al.]. – *J. Neurol. Sci.* – 2017. – Vol. 375. – P. 160–164.
168. Serial serum alkaline phosphatase as an early biomarker for osteopenia of prematurity / E.A Abdallah, R.N Said, D.S Mosallam [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2016. – Vol. 95, №37. – P. 4837.
169. Subfertility and assisted reproduction techniques are associated with poorer cardiometabolic profiles in childhood / M. Pontesilli, R.C. Painter, I.J. Grooten [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2015. – Vol. 30, №3. – P.258267.

170. Tizaoui, K. Association between VDR polymorphisms and rheumatoid arthritis disease: systematic review and updated meta-analysis of case-control studies / K. Tizaoui, K. Hamzaou // *Immunobiology*. – 2015. – Vol. 220, №6. – P. 807 – 816.
171. The association of vitamin D status with acute respiratory morbidity in preterm infants / C. Onwuneme, F. Martin, R. Mc. Carth [et al.] // *J. Pediatr.* – 2015. – Vol. 166. – P. 1175 – 1180.
172. The Link between serum vitamin D level, sensitization to food allergens, and the severity of atopic dermatitis in infancy / J.H., Baek, Y.H. Shin, I.H. Chun [et al.] // *J. Pediatr.* – 2014. – Vol. 165. – P. 849–854.
173. Therapeutic effect of vitamin D supplementation in a pilot study of Crohn's patients / L. Yang, V. Weaver, J.P. Smith [et al.] // *Clin. Transl. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 4. – P. 78-82.
174. The WHO Anthro Software // World Health Organization: [website]. – 2021. - URL: <https://www.who.int/tools/child-growth-standards/software>. - (accessed: 23.10.2021).
175. Uauy, R. Defining the nutritional needs of preterm infants / R. Uauy, B. Koletzko // *World Rev. Nutr. Diet.* – 2014. – Vol. 110. – P. 4 – 10.
176. Ultrasound for the assessment of bone quality in preterm and term infants/B. Rack, E.M. Lochmüller, W. Janni [et al.] // *J. Perinatol.* – 2012. – Vol. 32, №3. – P. 218– 226.
177. Vachharajani, A.J. Metabolic bone disease of prematurity. Neo reviews / A.J. Vachharajani, A.M. Mathur, R. Rao // *Neoreviews*. – 2009. – Vol. 10. – P. 402–411.
178. Vitamin D-binding protein controls T cell responses to vitamin D/ M. Kongsbak, M.R. von Essen, T.B. Levring [et al.] // *BMC Immunol.* – 2014. – Vol. 15, №1. – P. 35.
179. Vitamin D in autoimmunity: molecular mechanisms and therapeutic potential / W. Dankers, E.M. Colin, J.P. van Hamburg, E. Lubberts // *Front Immunol.* – 2017. – Vol. 20, №7. – P. 697.
180. Vitamin D3 induces tolerance in human dendritic cells by activation of intracellular metabolic pathways / G.B. Ferreira [et al.] // *Cell. Rep.* – 2015. – №10. – P. 711–725.

181. Vitamin D insufficiency is associated with challenge-proven food allergy in infants / K.J. Allen, K.J. Koplin, A.L. Ponsonby [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 131. – P. 1109 – 1116.
182. Vitamin D metabolism in the premature newborn: A randomized trial / C. Hanson [et al.] // *Clin Nutr.* – 2016. – Vol. 35, №4. – P. 835 –841.
183. Vitamin D receptor gene FokI polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a metaanalysis /Y. Cao, X. Wang, Z. Cao, X. Cheng // *Arch. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 12, №5. – P. 1118–1134.
184. Vitamin D receptor gene associations with pulmonary tuberculosis in a Tibetan Chinese population / Q. Hu, Z. Chen, G. Liang [et al.] // *B.M.C. Infectious Diseases.* – 2016. – Vol. 16. – P. 469–475.
185. Vitamin D receptor polymorphisms as tool for early screening of severe bone loss in women patients with rheumatoid arthritis / G. Di Spigna, A. Del Puente, B. Covelli B. [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol. 20, – №22. – P. 4664–4669.
186. Vitamin D receptor polymorphisms may contribute to asthma risk/ J.C. Han, J. Du, Y.J. Zhang [et al.] // *J. Asthma.* – 2016. – Vol. 53, №8. – P. 790–800.
187. Vitamin D supplementaytion guidelines / Pawel Pludowski [et al.] // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2018. –Vol.175. – P. 125–135.
188. Vitamin D status of early preterm infants and the effects of vitamin D intake during hospital stay / N. Monangi, J.L. Slaughter, A. Dawodu [et al.] // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed.* – 2014. – Vol. 99, № 2. – P. 166 – 168.
189. Vitamin D status and efficacy of vitamin D supplementation in atopic dermatitis: a systematic review and metaanalysis / M.J. Kim, S.N. Kim, Y.W. Lee [et al.] // *Nutrients.* – 2016. – Vol. 8, №12. – P. 789.
190. Winter lupus flares are associated with low vitamin D levels in a retrospective longitudinal study of Italian adult patients / F. Dall’Ara, L. Andreoli, N. Piva [et al.] // *Clin. Exp. Rheumatol.* – 2015. – Vol. 33, №2. – P.153–158.
191. Yan, S. Prevention of metabolic bone disease of prematurity by optimizing calcium and phosphate contents in parenteral nutrition for premature infants / S. Yan, R. Lee // *J. Hum. Nutr. Food Sci.* – 2017. – Vol. 5, №2. – P.1106.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

№ таблицы	Наименование	Страница в тексте
1	Основные этапы исследования	39
2	Распределение детей по группам наблюдения и массе тела, абс	40
3	Опросник для определения физической активности у недоношенных детей на первом году (для матерей), адаптированный для исследованных групп.	41
4	Референсные значения показателей минерального обмена в сыворотке крови у здоровых детей раннего возраста	43
5	Референсные значения биохимического анализа в сыворотке крови у здоровых детей раннего возраста	43
6	Тип полиморфизма и последовательность праймеров	51
7	Условия полимеразно-цепной реакции (ПЦР) для полиморфных вариантов исследуемых генов	52
8	Биологические и соматические факторы матерей	57
9	Социальный фактор матерей основной (ЭКО) группы и группы сравнения	59
10	Социальный фактор матерей детей, рождённых с помощью ЭКО	61
11	Акушерский и гинекологический анамнез матерей	62
12	Характеристика репродуктивной функции матерей	64
13	Структура заболеваемости детей с ОНМТ и ЭНМТ в неонатальном периоде	66
14	Неврологическая патология недоношенных детей первых трёх лет жизни (%)	72
15	Распределение детей по группам здоровья	76
16	Физическая активность детей (методом анкетирования)	78
17	Частота выявления различных форм изменений костно-суставной системы у новорождённых детей	80
18	Результаты биохимического исследования сыворотки крови у недоношенных детей	81
19	Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1800012 гена COL1A1	89
20	SNP-анализ полиморфного варианта rs1800012 гена COL1A1	90
21	Распределение частот генотипов и аллелей по	91

	полиморфному варианту rs1544410 гена VDR	
22	SNP-анализ полиморфного варианта rs1544410 гена VDR	92
23	Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному варианту rs1815739 гена ACTN3	93
24	SNP-анализ полиморфного варианта rs1815739 гена ACTN3	94
25	Распределение частот сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов COL1A1 (rs1800012) и VDR (rs1544410, BsmI)	95
26	Прочность кости по Z-score у недоношенных детей	97
27	Показатели костной прочности Z-score у обследованных детей (SD)	98
28	Среднее значение SOS у недоношенных детей, м/с	98
29	Вскармливание недоношенных детей на первом году жизни	99
30	Сравнительная характеристика обучающей и тестовой выборки	115
31	Показатели, различающиеся между группами с недостаточностью и нормой витамина D	117
32	Параметры модели прогноза недостаточности витамина D (применялась многофакторная логистическая регрессия)	119
33	Показатели качества разработанной модели прогноза недостаточности витамина D, рассчитанные на обучающем и тестовом множестве	121