

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Пермский государственный медицинский
университет им. академика Е.А. Вагнера»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ЖЕКАЙТЕ ЕЛЕНА КЯСТУТИСОВНА

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ЭКЗОГЕННЫХ
ФАКТОРОВ НА РАЗВИТИЕ ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D
У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ В
ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ. ВОПРОСЫ ПРОФИЛАКТИКИ**

14.01.08 – педиатрия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Кондратьева Елена Ивановна

Пермь – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Дефицит витамина D как глобальная проблема	13
1.1.1. Эпидемиология недостаточности витамина D в мире	14
1.1.2. Эпидемиология недостаточности витамина D в РФ среди детей	14
1.2. Роль витамина D в организме	15
1.2.1. УФ-излучение и статус 25(OH)D	16
1.2.2. Поступление витамина D с пищей	18
1.2.3. Взаимосвязь между обеспеченностью организма витамином D и развитием ряда заболеваний	19
1.3. Пациенты с муковисцидозом – группа риска по дефициту витамина D	20
1.3.1. Распространенность дефицита витамина D у пациентов с МВ в мире и в российской популяции	21
1.3.2. Причины дефицита витамина D при муковисцидозе	22
1.3.3. Влияние мальабсорбции на дефицит витамина D	23
1.3.4. Состояние гепатобилиарной ситемы и дефицит витамина D	24
1.3.5. Влияние лекарственной терапии (антибиотики, ГКС) на статус витамина D	24
1.3.6. Пероральная саплементация – основа профилактики развития недостаточности и дефицита витамина D	25
1.4. Костные эффекты витамина D у пациентов с муковисцидозом	26
1.5. Корреляция уровня витамина D, показателей легочной функции и бронхолегочных обострений	27
1.6. Противовоспалительные эффекты витамина D. Роль при муковисцидозе	29
1.6.1. Влияние уровня витамина D на выработку антимикробных пептидов	30
1.7. Влияние генетических факторов на развитие дефицита витамина D	32
1.7.1. Гены системы цитохрома и витамин D	32
1.7.2. Ген рецептора витамина D	34
1.8. Рекомендации по профилактике и терапии дефицита витамина D при муковисцидозе	37
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	39
2.1. Объект и структура исследования	39
2.2. Методы исследования	43
2.2.1. Клинико-anamнестический метод	43
2.2.2. Микробиологический метод	45
2.2.3. Исследование функции внешнего дыхания	45
2.2.4. Расчет поступления витамина D с пищей по данным программы ЭВМ	45
2.2.5. Оценка продолжительности солнечного сияния	46
2.2.6. Биохимические методы	46
2.2.7. Генетические методы исследования	48
2.2.8. Статистические методы	50
2.3. Объем исследования	51

Глава 3. ОЦЕНКА СТАТУСА ВИТАМИНА D У ДЕТЕЙ С МУКОВИСЦИДОЗОМ И ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ ТРЕХ РЕГИОНОВ РФ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ.....	54
3.1. Витамин D у здоровых детей.....	54
3.1.1. Клиника-лабораторная характеристика группы здоровых детей.....	54
3.1.2. Статус витамина D у здоровых детей 3 регионов РФ.....	54
3.2. Витамин D у детей с муковисцидозом.....	61
3.2.1. Общая характеристика группы детей с муковисцидозом.....	61
3.2.2. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от возраста и пола.....	67
3.2.3. Влияние осложнений и терапии муковисцидоза на уровень витамина D.....	68
3.2.4. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от сезона года.....	69
3.2.5. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от продолжительности солнечного сияния.....	70
3.2.6. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от поступления его с пищей.....	72
3.2.7. Корреляция уровня витамина D и функции легких у пациентов с муковисцидозом.....	72
3.2.8. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом и здоровых детей в трех изучаемых регионах.....	73
3.2.9. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от профилактической дозы холекальциферола.....	75
3.3. Влияние антимикробных пептидов (дефензин HNP1-3, кателицидин LL-37) на уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом.....	77
3.3.1. Содержание АМП у пациентов с муковисцидозом.....	77
3.3.2. Уровень АМП у здоровых детей и детей с муковисцидозом в зависимости от возраста.....	78
3.3.3. Уровень АМП у здоровых детей и детей с муковисцидозом в зависимости от содержания витамина D.....	79
3.3.4. Уровень АМП в зависимости от показателей функции легких и нутритивного статуса.....	80
3.3.5. Уровень АМП в зависимости от микробиологического статуса дыхательного тракта пациентов с МВ.....	82
3.4. Влияние полиморфизмов генов первой фазы биотрансформации ксенобиотиков на уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом.....	83
3.5. Влияние полиморфизмов гена VDR на уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом.....	85
Глава 4. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОФИЛАКТИКИ ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ В ДИНАМИКЕ 2016–2018 годов (на примере Московского региона).....	92
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	97
Выводы.....	112
Практические рекомендации.....	113
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	115
Приложение А (обязательное).....	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы диссертационного исследования

Роль витамина D за прошедшие двадцать лет значительно возросла в связи с расшифровкой его метаболизма и эпидемиологическими исследованиями, доказавших влияние активных метаболитов витамина D на здоровье человека [1–4]. Дефицит и недостаточность витамина D в настоящее время рассматривается как мировая проблема в связи с участием витамина D в регуляции экспрессии генов, ассоциированных с многочисленными физиологическими процессами в организме человека. В последние десятилетия накопилось много доказательств того, что витамин D участвует в регуляции многих физиологических процессов, включая иммунитет, воспаление и репарацию тканей и органов. Дефицит витамина D – важный фактор риска для развития не только рахита у детей раннего возраста и снижения минеральной плотности у взрослых и подростков, но и ряда хронических внескелетных заболеваний, в том числе болезней органов дыхания. Статус витамина D ассоциируется с риском развития хронических воспалительных, аллергических, аутоиммунных, сердечно-сосудистых и различных неопластических заболеваний [5–12]. В связи с этим особую актуальность приобретает диагностика недостаточности и дефицита витамина D у детей и подростков и организация профилактики и лечения витамин–D-дефицитных состояний.

Пациенты с муковисцидозом относятся к группе риска по развитию дефицита и недостаточности витамина D [13–19]. Низкий уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом подтвержден в большом количестве исследований, проведенных в разных странах, расположенных на различных географических широтах [13–22]. Низкое содержание витамина D в организме обусловлено нарушением гидроксилирования витамина D в печени, снижением абсорбции витамина D в кишечнике вследствие панкреатической экзокринной недостаточности, недостаточным пребыванием на солнечном свете из-за фотосенсибилизации при приеме некоторых антибиотиков, недостатком жировой ткани, накапливающей витамин D, снижением уровня витамин D-связывающего белка. Из перечисленных факторов все имеют место при муковисцидозе и требуют комплексного исследования [19; 23]. Для понимания механизмов развития дефицита витамина D и его коррекции необходимо исследование всех факторов, влияющих на снижение его в сыворотке крови в норме и при муковисцидозе и их взаимосвязь. Несмотря на то, что дефицит витамина D часто встречается у пациентов с муковисцидозом, исследований,

подтверждающих связь между муковисцидозом и генетической основой дефицита витамина D на сегодняшний день нет. Важнейшим ферментом первого этапа биотрансформации холекальциферола в 25-гидроксихолекальциферол (25(OH)D₃) и далее в гормонально активные формы витамина D₃ в организме является витамин D₃ 25-гидроксилаза в печени, а именно гены 1-й фазы биотрансформации ксенобиотиков (изоформы цитохрома P450). При муковисцидозе активность P450, его генетическая регуляция и влияние на деградацию сывороточного 25(OH)D изучены недостаточно [16]. Все эффекты витамина проявляются через рецепторы (*VDR*) и могут влиять на его активность [24]. При муковисцидозе развитие резистентности к 1,25(OH)₂D может быть обусловлено снижением количества *VDR* рецепторов в тканях-мишенях.

Таким образом, всестороннее изучение молекулярно-генетических механизмов и экзогенных факторов является необходимым условием понимания механизмов развития дефицита витамина D и подбора профилактических и терапевтических доз холекальциферола у пациентов с муковисцидозом.

Степень разработанности темы исследования

Широкое распространение гиповитаминоза D у пациентов с МВ в мире подтверждено многочисленными работами [13–22], однако исследования в Российской Федерации единичны и группы пациентов малочисленны [18; 25]. Исследований, в которых бы сравнивалась обеспеченность витамином D детей с муковисцидозом в расположенных на разных широтах регионах, ранее не проводилось.

Учитывая, природное разнообразие Российской Федерации и ее масштабы, изучение статуса витамина D у детей в различных регионах страны до настоящего времени представляло собой малоизученную, но очень актуальную задачу. Исследование уровня 25(OH)D в различные сезоны года у детей с муковисцидозом в РФ не проводились. Отсутствие лабораторного контроля уровня кальцидиола при рутинном назначении холекальциферола в условиях широкого распространения дефицита и недостаточности витамина D снижает эффективность профилактики гиповитаминоза D.

Исследования, посвященные анализу зависимости уровня кальцидиола от возраста детей, в российской популяции детей с муковисцидозом малочисленны [25]. Традиционно используемые в России схемы профилактики, лабораторными данными, как правило, не подкреплялись, поэтому судить об их эффективности не представлялось возможным [18]. За прошедшие 15 лет научными сообществами различных стран созданы

национальные (европейские, североамериканские) согласительные документы, включающие в себя критерии диагностики, тактику профилактики и коррекции гиповитаминоза D у пациентов с муковисцидозом [19]. Российское педиатрическое сообщество на протяжении всего XX века придававшее значение исследованию этиологии, клинико-лабораторной диагностике, а также лечению рахита у детей раннего возраста, расширило перечень поставленных перед собой задач, результатом чего явилось создание Национальной программы «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» [26].

Всестороннее изучение роли метаболитов холекальциферола в поддержании здоровья детей и подростков, высокая частота гиповитаминоза D пациентов с муковисцидозом во всем мире, возможность регулярного мониторинга уровня 25(OH)D и включение этого показателя в протоколы наблюдения пациентов с муковисцидозом, являются предпосылками проведения нашей работы. Генетические факторы, влияющие на развитие дефицита витамина D при муковисцидозе, не изучались.

Цель исследования: изучить молекулярно-генетические механизмы и экзогенные факторы развития дефицита витамина D у пациентов с муковисцидозом в разные возрастные периоды и сезоны года из различных географических регионов страны, и на основании полученных данных разработать алгоритм диагностики и профилактики.

Задачи исследования

1. Провести исследование уровня витамина D у здоровых детей различного возраста в регионах РФ (Московская область, Красноярский и Ставропольский края) с разным уровнем инсоляции в течение года и в зависимости от организации профилактики гиповитаминоза D.

2. Исследовать обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в трех регионах РФ (Московская область, Красноярский и Ставропольский края) с разным уровнем инсоляции в течение года и влияние различных экзогенных факторов на развитие его дефицита.

3. Определить влияние обеспеченности витамином D больных муковисцидозом на синтез эндогенных антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, α -1-3-дефензина HNP1-3), функцию легких, развитие хронической грамотрицательной инфекции и осложнений заболевания.

4. Изучить содержание 25(OH)D при различных генотипах полиморфизмов генов *CYP2C9*3* (1075A > C; I359L, rs1057910), *CYP3A4*3* (с.1334T > C; M445T, rs4986910), *CYP2C9*2* (с.430C > T; R144C, rs1799853), *CYP2D6*4* (с.1846G > A, rs3892097), *CYP3A4*1B* (с.-392C > T, rs2740574) у здоровых детей и пациентов с муковисцидозом.

5. Исследовать взаимосвязь полиморфных вариантов гена *VDR* (с.1206T > C (A > G), (с.152T > C), (с.1174+283G > A)) с содержанием витамина D у здоровых детей и пациентов с муковисцидозом.

6. Предложить модель развития дефицита витамина D при муковисцидозе на основе изученных молекулярных механизмов, экологических и внутренних факторов и алгоритм диагностики и профилактики на основе комплекса полученных данных.

Научная новизна

В рамках исследования впервые изучена частота дефицита витамина D здоровых детей и пациентов с муковисцидозом в различные возрастные периоды в трех регионах РФ (Московская область, Красноярский и Ставропольский края) с разным уровнем инсоляции в 4 сезона года. Нормальное содержание 25(OH)D отмечено у 48,5% здоровых детей, недостаточность – у 30,1%, дефицит – у 19,8%, выраженный дефицит зарегистрирован у 1,6% детей. Уровень 25(OH)D снижается с возрастом и достигает минимальных значений у подростков. Установлено влияние сезона года (весна) и профилактической дозы холекальциферола на содержание 25(OH)D у здоровых детей.

По результатам многоцентрового исследования, среди пациентов с муковисцидозом, проживающих в трех регионах Российской Федерации, дефицит витамина D выявлен в 24,4%, недостаточность – в 26,3%. Основными экзогенными факторами, влияющими на уровень витамина D, являются сезон года, организация профилактики гиповитаминоза D, возраст и доза холекальциферола. Зависимости от поступления витамина D с пищей, продолжительности солнечного сияния и региона проживания не получено.

Впервые в рамках настоящего исследования изучалось влияние витамина D на уровень эндогенных антимикробных пептидов при муковисцидозе. Показано, что уровень АМП повышен по сравнению со здоровыми детьми. Впервые установлено, что у здоровых детей уровни АМП снижаются с возрастом, а при муковисцидозе повышаются, одновременно снижается функция легких. Особенно высокие показатели отмечены в группе подростков с МВ. Получена обратная корреляция уровня 25(OH)D с содержа-

ем дефензинового антимикробного пептида (HNP1-3) и кателицидинового антимикробного пептида (LL-37) с функцией легких.

В настоящее время клиническое применение данных фармакогенетики несколько ограничено, в основном рамками научных исследований и учебными программами. С развитием технологий, молекулярно-генетическая диагностика, а в данном случае – изучение влияния генов первой фазы биотрансформации ксенобиотиков с целью прогнозирования содержания витамина D, становится все более актуальной. По результатам данной работы влияние полиморфизмов генов 1 фазы биотрансформации ксенобиотиков *CYP2C9*3* (1075A > C; I359L, rs1057910), *CYP3A4*3* (с.1334T > C; M445T, rs4986910), *CYP2C9*2* (с.430C > T; R144C, rs1799853), *CYP2D6*4* (с.1846G > A, rs3892097), *CYP3A4*1B* (с.-392C > T, rs2740574) на содержание 25(OH)D в группе здоровых детей и пациентов с муковисцидозом не установлено.

Впервые на российской популяции показано, что три полиморфизма гена *VDR* (с.1206T > C(A > G), (с.152T > C), (с.1174+283G > A)) не оказывают влияния на содержание 25(OH)D в группе здоровых детей. Установлено влияние полиморфизмов гена *VDR* на уровень витамина D при муковисцидозе. Низкое содержание витамина D зарегистрировано при CC генотипе полиморфизма *VDR* с.1206T > C(A > G) – TaqI. Изучение совместного влияния трех полиморфизмов гена *VDR* позволило выявить гаплотипы, угрожаемые по дефициту витамина D.

В данной работе была создана база данных пациентов с различными генотипами генов 1 фазы биотрансформации ксенобиотиков – *CYP2C9*3* (1075A > C; I359L, rs1057910), *CYP3A4*3* (с.1334T > C; M445T, rs4986910), *CYP2C9*2* (с.430C > T; R144C, rs1799853), *CYP2D6*4* (с.1846G > A, rs3892097), *CYP3A4*1B* (с.-392C > T, rs2740574) и *VDR* (с.1206T > C(A > G), (с.152T > C), (с.1174+283G > A)) и ответом на терапию по коррекции дефицита витамина D, которая может быть использована в дальнейшем для исследований в данной области.

Теоретическая и практическая значимость

Решение вопроса прогнозирования риска развития дефицита витамина D у пациентов с МВ позволит своевременно организовывать профилактические и терапевтические мероприятия по коррекции дефицита витамина D, что повысит эффективность комплексной терапии заболевания. Ранее подобные исследования не проводились как в группе пациентов с МВ, так и в здоровой популяции.

На основании результатов, полученных в рамках многоцентрового исследования, представлены сведения о распространённости гиповитаминоза D у здоровых детей и подростков и пациентов с муковисцидозом в трех регионах Российской Федерации (центральный, южный, сибирский), что может использоваться для создания программ профилактики и для коррекции дефицита витамина D в данных регионах и стране.

На значительном клиническом материале (616 детей и подростков, из них МВ – 283, здоровых – 333 человека) обосновано создание модели развития дефицита витамина D при МВ, алгоритма диагностики и профилактики с учетом возраста, сезона года, профилактической дозы холекальциферола, гаплотипов полиморфизмов гена *VDR* (с.1206T > C(A > G), (с.152T > C), (с.1174+283G > A)). Доказана необходимость круглогодичной профилактики гиповитаминоза D для пациентов с МВ с первых недель жизни с учетом возраста, сезона года и показана ее эффективность на примере московского региона, что легло в основу методических рекомендаций «Диагностика, профилактика и терапия недостаточности витамина D при муковисцидозе», утверждены решением Ученого совета ФГБНУ «МГНЦ» – протокол № 11 от 23.12.2019.

Методология и методы исследования. Методология исследования включала комплексную оценку состояния здоровья детей и подростков с МВ, оценку статуса витамина D и уровень АМП, фактический прием препаратов холекальциферола (организацию профилактики витамина D), анализ потребления витамина с пищей (3-дневное меню), с учетом возраста, сезона, места проживания, продолжительности солнечного сияния в месяц забора крови на исследование, влияние генетических факторов, для создания диагностического алгоритма и персонализированного подхода к назначению профилактических доз. Биохимические исследования (25(OH)D) проводились одномоментно в каждый сезон года у всех детей из трех регионов в одной лаборатории с помощью идентичных наборов на одном оборудовании одними и теми же врачами – лаборантами. АМП определяли по данному принципу в зимний период однократно. Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор больных и статистическая обработка результатов). Работа выполнена в дизайне открытого проспективного, многоцентрового когортного исследования. Применялись современные лабораторные, инструментальные, биохимические и генетические методы исследования. Использовались современные статистические методы с учетом задач исследования и применяемых методов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Изучение распространенности гиповитаминоза D у здоровых детей показало, что только 48,5% детей имеют адекватный уровень витамина D, недостаточность – 30,1%, дефицит 19,8%, выраженный дефицит – 1,6%. Получена зависимость от возраста, сезона года и региона проживания, профилактической дозы холекальциферола и отсутствие влияния изучаемых генетических факторов.

2. Зарегистрирована высокая распространённость гиповитаминоза D (выраженный дефицит 7,7%, дефицит 16,7%, недостаточность 26,3%) у детей с муковисцидозом трех регионов РФ. Факторами, оказывающими существенное влияние на обеспеченность витамином D детей с муковисцидозом, являются возраст, сезон года, профилактическая доза холекальциферола. Уровень антимикробных пептидов (HNP 1–3 и LL-37) достоверно повышен у детей с муковисцидозом в отличие от здоровых детей и увеличивается с возрастом. Установлена обратная корреляция уровня 25(OH)D с уровнем дефензинового антимикробного пептида (HNP1-3) и кателицидинового антимикробного пептида (LL-37) с функцией легких.

3. Полиморфные варианты генов ферментов 1 фазы биотрансформации ксенобиотиков (*CYP2C9*3* (1075A > C; I359L, rs1057910), *CYP3A4*3* (c.1334T > C; M445T, rs4986910), *CYP2C9*2* (c.430C > T; R144C, rs1799853), *CYP2D6*4* (c.1846G > A, rs3892097), *CYP3A4*1B* (c.-392C > T, rs2740574) при муковисцидозе не влияют на уровень 25(OH)D. Изучение совместного влияния трех полиморфизмов гена *VDR* (c.1206T > C(A > G), (c.152T > C), (c.1174+283G > A)) позволило выявить гаплотипы, являющиеся факторами риска по дефициту витамина D.

4. На основе изученных молекулярных механизмов, экзогенных и внутренних факторов предложена модель развития дефицита витамина D при муковисцидозе и алгоритм диагностики и персонализированного подбора профилактических доз витамина D. Показана эффективность профилактических мероприятий в виде увеличения уровня витамина D на 34% у пациентов 4–10 лет и в подростковой группе на 50%, а также доли пациентов с нормальным содержанием витамина D – в 2,1 раза в зимний период.

Степень достоверности результатов. Работа выполнена на достаточном клиническом материале: обследовано 616 детей, из них 283 пациентов с МВ и 333 здоровых ребенка их трех регионов страны. В основу исследования положена идея многофакторного влияния экзогенных и генетических факторов на развитие дефицита и недостаточ-

ности витамина D у детей с муковисцидозом. Влияние каждого фактора проверялось отдельно и с учетом, при необходимости, других, использовались специальные статистические методы. Для решения поставленных задач применялся комплексный методологический подход с использованием современных клинических, инструментальных, биохимических и генетических методов исследования, соответствующего сертифицированного медицинского оборудования, компьютерных технологий. Достоверность результатов диссертационной работы определяется использованием современных методов статистической обработки полученных данных. Статистическую обработку проводили с помощью программ IBM SPSS Statistics 24.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационное исследование соответствует формуле специальности 14.01.08 – Педиатрия и областям исследования п. 2 «Вскармливание и питание здоровых и больных детей. Рахит, расстройство пищеварения и питания» и п. 5 «Клиника, диагностика и лечение врождённых и наследственных болезней».

Апробация результатов исследования. Материалы диссертации доложены и обсуждены на XVII, XVIII Национальных конгрессах «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 24–26 октября 2018 г.; 22–24 октября 2019 г.; 41-й конференции Европейского общества по муковисцидозу (European Cystic Fibrosis Society, ECFS; Белград (Сербия); 06–10 июня 2018 г.); XIV Национальном конгрессе «Актуальные проблемы муковисцидоза» (Красноярск, 25–26 апреля 2019 г.); 42-й конференции Европейского общества по муковисцидозу (European Cystic Fibrosis Society, ECFS; Ливерпуль, Великобритания, 5–8 июня 2019 г.); Международном конгрессе Европейского респираторного общества (ERS International Congress 2019; Мадрид (Испания); 28 сентября – 2 октября 2019 г.); 52-й конференции Европейского общества генетики человека (European Society of Human Genetics, ESHG), г. Стокгольм (Швеция), 15–18 июня 2019 г.; Международном конгрессе Европейского респираторного общества (ERS International Congress 2020; Вена (Австрия); 5 сентября – 9 сентября 2020 г.). Работа выполнена при финансировании по теме «Разработка технологий персонализированной диагностики и терапии при муковисцидозе АААА-А18-118081390036-6 (2018–2020 гг.)» и частичном финансировании гранта РФФИ «Изучение влияния генетических и экологических факторов на развитие дефицита витамина D у здоровых детей и детей с муковисцидозом в возрастном аспекте» № А 18-015-00482 (2018–2019).

Внедрение результатов работы в практику. Результаты диссертационного исследования, профилактики и терапии недостаточности и дефицита витамина D у пациентов с муковисцидозом внедрены в практику работы в центрах муковисцидоза Московской области (ГБУЗ МО «ДКМЦМО»), Красноярского края (КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона»), Ставропольского края (Краевая детская клиническая больница г. Ставрополя), Томской области (ОГАУЗ «Детская больница № 1»), Пермского края (ГБУЗ Пермского края «Краевая детская клиническая больница»).

Личный вклад автора. Клинико-anamnestическое обследование детей, сбор материала для проведения биохимического и генетического исследования, динамический контроль; создание базы данных больных с различными генотипами; базы пациентов московского региона, которым проводилась профилактика гиповитаминоза D в 2016–2018 году; статистический анализ; разработка диагностического алгоритма, подготовка основных публикаций по теме исследования.

Публикации по теме работы. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 6 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 135 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждений, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 253 источника, из них 60 отечественных и 193 – зарубежных авторов, приложения. Работа иллюстрирована 46 таблицами и 22 рисунками.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Дефицит витамина D как глобальная проблема

Недостаточность витамина D – широко распространенное явление, оказывающее неблагоприятное воздействие на состояние здоровья человека, в том числе, часто встречающееся у пациентов с такими хроническими заболеваниями, как муковисцидоз (МВ). В связи с этим особую актуальность приобретает диагностика недостаточности и дефицита витамина D у детей и подростков и организация профилактики и лечения витамин D-дефицитного состояния.

Витамин D (кальциферол, антирахитический витамин) и его активные метаболиты являются структурными единицами гормональной системы, регулирующей фосфорно-кальциевый обмен и другие процессы в организме посредством рецепторно-опосредованных механизмов его действия [27]. В настоящее время известны витамины D2 (эргокальциферол) и D3 (холекальциферол), а также активные метаболиты витамина D. Большинство экспертов в настоящее время сходятся во мнении, что для адекватного обеспечения всех биологических функций целевая концентрация витамина D в организме человека должна соответствовать уровню более 30 нг/мл [26; 28; 29].

Обеспеченность витамином D объективно оценивается по содержанию в крови его промежуточного метаболита – кальцидиола 25(OH)D [26; 28; 29]. Интерпретация результатов определения уровня 25(OH)D осуществляется в соответствии с рекомендациями Международного общества эндокринологов (2011) и Национальной программы «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции»: тяжёлый дефицит – уровень 25(OH)D менее 10 нг/мл; дефицит – от 10 до 20 нг/мл; недостаточность – 21–29 нг/мл; нормальное содержание – 30–100 нг/мл, уровень более 100 нг/мл расценивали как избыточный, требующий коррекции дозы витамина D [26; 28; 29].

Дефицит витамина D является непризнанной эпидемией, во всем мире насчитывается около 1 миллиарда человек, имеющих недостаток или дефицит витамина D [30–32]. В последние годы появляется все больше исследований относительно распространённости дефицита витамина D в детских популяциях [8; 9; 21; 25; 33].

1.1.1. Эпидемиология недостаточности витамина D в мире

Проблема гиповитаминоза витамина D распространена на всех континентах и затрагивает все слои населения, вне зависимости от возраста, расы [13–22; 15].

При обследовании американских детей, недостаточный уровень кальцидиола (<30 нг/мл) был выявлен у 70% детей, у 9% детей уровень 25(ОН)D был <15 нг/мл [34]. Содержание витамина D в весенние месяцы у жителей Дании составляет <10 нг/мл, у здоровых финских подростков составляет 16,5 нг/мл, [35].

При исследовании в Турции среднего сывороточного уровня 25(ОН)D 118 взрослых женщин и мужчин, установлено, что составляет $13,8 \pm 6,6$ нг/мл в феврале и $28,4 \pm 10,4$ нг/мл в августе [36].

Высокая встречаемость дефицита витамина D и, соответственно, остеопороза отмечена в Саудовской Аравии [37]. При обследовании 834 мужчин 20–74 лет у 88% был отмечен уровень 25(ОН)D менее 20 нг/мл. Между уровнем витамина D и уровнем паратиреоидного гормона была подтверждена обратная корреляция (ПГТ) [37].

Высокий процент дефицита витамина D у детей и взрослых подтвержден в большом количестве исследований, выполненных в разных странах мира, находящихся на различных географических широтах [28; 38; 39].

1.1.2. Эпидемиология недостаточности витамина D в РФ среди детей

Крупномасштабные клинико-эпидемиологические исследования, проводимые в течение последних 10 лет в России, свидетельствуют о высокой распространенности недостаточности витамина D у детей. «По данным многоцентрового исследования, включившего 1230 участников из 15 регионов России («Родничок»), была выявлена низкая обеспеченность витамином D детей раннего возраста. (2-3 лет). Дети до двух лет, регулярно получавшие профилактические дозы витамина D, были обеспечены значительно лучше. Так, например, дефицит витамина D встречался у 45% детей второго года и у 62% детей третьего года жизни, у 35% детей до 6 мес., у 20% детей второго полугодия жизни» [40; 41]. По результатам исследования Мальцева с соавт. ($n = 114$) у детей первого года жизни также выявлена низкая обеспеченность витамином D [42].

В исследовании 140 здоровых детей и подростков (4–18 лет), постоянно проживающих в средней полосе России, в период максимальной инсоляции, было показано, что

недостаточность витамина D (25(OH)D ниже 20 нг/мл) выявлена у 38,6% у 2,9% из них тяжелый дефицит витамина D (25(OH)D ниже 8 нг/мл) [16]. Исследования здоровых детей, постоянно проживающих на Юге России, показало, что недостаточное содержание витамина D в период минимальной инсоляции выявлено у большинства (76,9%) обследованных детей раннего возраста [43].

Таким образом, проблема обеспеченности витамином D детей сохраняет свою актуальность на всей территории Российской Федерации.

1.2. Роль витамина D в организме

Синтез витамина D является следствием неферментативной реакции за счет фотолиза и термической изомеризации 7-дегидрохолестерола. Образовавшийся холекальциферол взаимодействует с витамин D-связывающим белком и поступает в кровоток и далее в печень. При участии фермента 25-гидроксилазы печени (цитохрома P450 2R1, CYP2R1) происходит образование 25-гидроксивитамина D – 25(OH)D. Следующий этап активации витамина D происходит в почках, где под воздействием 1-гидроксилазы (CYP27B1) в условиях дефицита кальция и фосфора 25(OH)D превращается в биологически активный гормон кальцитриол (1,25(OH)2D, 1,25-дигидроксивитамин D). 1,25(OH)2D взаимодействует с рецепторами витамина D (*VDR*), которые присутствуют более чем в 38 органах и тканях [44].

Метаболизм витамина D в организме представлен на Рисунке 1.

Биологические эффекты 1,25(OH)2D включают в себя классические, регулирующие фосфорно-кальциевый обмен в организме, и неклассические, которые определяют функции, не связанные с метаболизмом кальция. Главным эффектом витамина D является его влияние на баланс сывороточного кальция и фосфатов, что имеет первостепенное значение для мышечного сокращения, нормальной минерализации костной ткани, осуществления нервной проводимости и многих других клеточных функций. Основными регуляторами обмена кальция и фосфора, наряду с активным метаболитом витамина D, являются паратиреоидный гормон (ПТГ) и кальцитонин, мишенями для которых служат костная ткань, кишечник и почки [46].

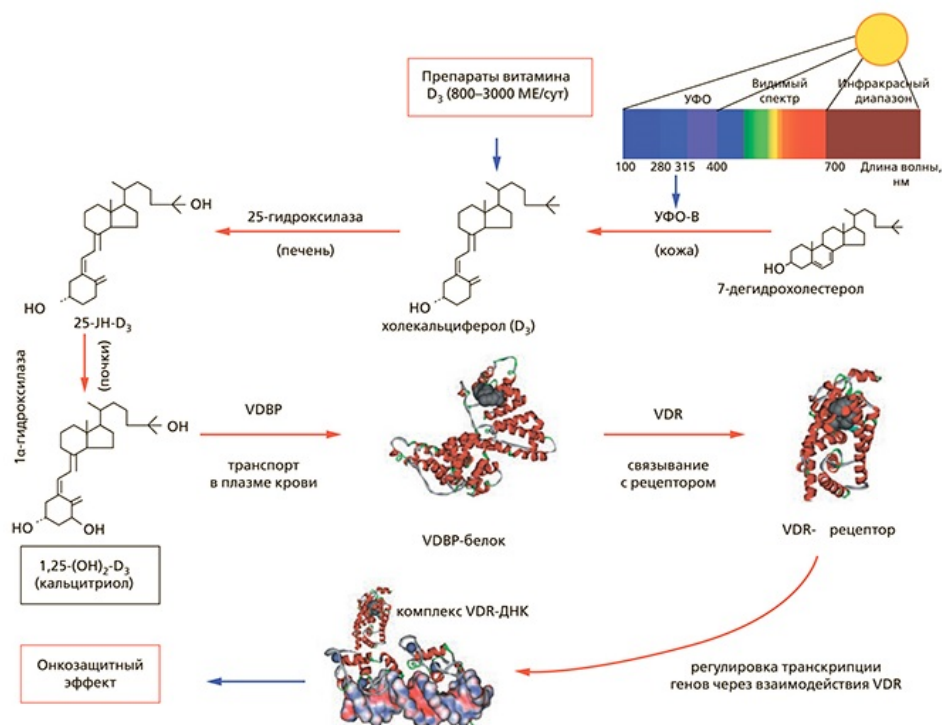


Рисунок 1 – Метаболизм витамина D в организме [45]

«Обнаружение механизма биологической трансформации витамина D, изначально считавшегося инертным, образование гормонально-активных метаболитов, выявление α-гидроксилазной активности практически во всех тканях организма, открытие VDR-рецепторов, а также, установление способности кальцитриола к регуляции экспрессии генов и активации внутриклеточных сигнальных каскадов позволило кардинально расширить горизонт изучения эффектов витамина-гормона D» [38; 39].

1.2.1. УФ-излучение и статус 25(OH)D

Для синтеза витамина D необходимо УФ-излучение спектра B, которое далеко не во всех регионах нашей страны достигает поверхности Земли. Достаточная для синтеза витамина D интенсивность УФ-излучения спектра B, наблюдается только в определенное время суток (в основном с 11:00 до 14:00) [47]. «Синтез витамина D в коже значительно снижается при тумане, высокой облачности, загрязненности воздуха, пыльных бурях, и пр. Солнечный свет УФ-излучения спектра B не проникает при использовании кремов от загара с высокой степенью защиты, через стекло, одежду» [47; 48].

Активность синтеза витамина D₃ в коже коррелирует со степенью пигментации кожи: дети с темным цветом кожи являются группой риска по гиповитаминозу, т. к. синтез витамина D₃ в коже у них минимален [49]. «Гиподинамия существенно снижает

поступление синтезированного в коже витамина в кровеносное русло. Переход синтезированного витамина D из эпидермиса в кровоток происходит только при интенсивной физической нагрузке» [26].

Большая часть территории России расположена в зоне низкой инсоляции, и большинство населенных пунктов характеризуются малым числом солнечных дней в году (не более 40–70) [50].

В многоцентровом всероссийском исследовании «РОДНИЧОК» получены данные, что в южных регионах с очевидно высокой инсоляцией (например, Ставрополь) дети 1–6 мес. были хуже обеспечены витамином D (средние уровни витамина D $22 \pm 1,7$ нг/мл), чем в Архангельске (уровни витамина D $35,7 \pm 6,1$ нг/мл) [51]. Столь очевидная разница определяется тем, что в Архангельске прием препаратов витамина D более широко распространен именно вследствие низкой инсоляции [52].

Аналогичные результаты были получены в северных странах Европы (Финляндия, Швеция, Норвегия), где средний уровень 25(OH)D выше по сравнению со странами, расположенными на юге (Италия) и встречается более низкая частота недостаточности витамина D у населения [53; 54]. Вывод о том, что южные страны при широкой распространённости низкого статуса витамина D не имеют настороженности в отношении недостаточного синтеза витамина D, подтверждается в систематических обзорах [55]. В Бразилии, несмотря на обильную инсоляцию, дефицит витамина D (концентрация 25(OH)D в плазме крови менее 20 нг/мл) был выявлен у 14% детей до 10 лет и у 60% подростков [56].

Активность УФ-излучения определяет уровень выработки холекальциферола в коже в различные сезоны года. Дефицит витамина D особенно выражен в зимние и весенние месяцы [31; 35].

В нашей стране в исследованиях Захаровой И. Н. и Берестовской В. С. высокая частота дефицита витамина D среди здоровых детей старшего возраста отмечена в весенние месяцы у детей г. Москвы [57; 58].

В исследовании Cristina Karohl и соавт. было показано, что концентрация 25(OH)D в сыворотке крови зависит от влияния генетических (исследование проведено на 510 близнецах) именно в зимний сезон [59].

По данным исследования, проведенного в Эстонии, дефицит витамина D ($< 20,8$ нг/мл) испытывает 29% населения – в летние месяцы года и 73% в зимние месяцы, тя-

желый дефицит D ($< 10,1$ нг/мл) летом наблюдается у 1% населения и у 8% – зимой [60]. Схожая закономерность наблюдается у детей в возрасте 5–14 лет, проживающих в Новой Зеландии. При анализе сезонной вариабельности сывороточного содержания холекальциферола, в период наибольшей инсоляции средний уровень 25(OH)D выше на 27%, чем в холодный сезон [61].

Snellman и соавт. оценили генетическое и экологическое влияние на концентрацию 25 (OH)D у 102 белых пар-близнецов обоего пола, живущих в Уппсале, Швеция. Исследователи показали, что гены вносят вклад в 48% концентраций 25(OH)D в течение летнего сезона, но в течение зимнего сезона преобладают факторы окружающей среды [62].

1.2.2. Поступление витамина D с пищей

Ключевую роль в организме человека играют два из шести стерина, относящихся к группе витамина D (витамины D1, D2, D3, D4, D5 и D6): витамин D2 – эргокальциферол и витамин D3 – холекальциферол. Витамин D2 – эргокальциферол (Рисунок 1) – образуется в клетках растений из эргостерола. Масло печени рыб и мясо жирной рыбы (такой, как макрель, тунец и лосось) и являются одними из лучших его источников [63]. Витамин D в небольшом количестве можно найти в сыре и яичном желтке, говяжьей печени. В этих продуктах витамин D в основном находится в виде витамина D3 и его метаболита 25(OH)D3 [64]. Источником витамина D2 могут быть некоторые грибы, но его содержание в них, как правило, очень вариабельно [65]. Продукты питания, обогащенные витамином D дополнительно, могут обеспечивать большую часть витамина D в диете [63; 65]. Например, почти все молоко в США обогащено витамином D из расчета 100 МЕ/200 мл, а в Канаде в соответствии с законодательством страны маргарин обогащается ≥ 530 МЕ/100 г, так же, как и молоко 35–40 МЕ/100 мл. [63]. Фортификация продуктов привела снижению частоты тяжёлого дефицита витамина D (уровень менее 10 нг/мл) с 13,0% в 2000 г. до 0,6% в 2011 г., а также к повышению у финского населения уровня медианы 25(OH)D с 19,1 нг/мл (47,6 нмоль/л) до 26,2 нг/мл (65,4 нмоль/л), при этом средний прирост, в зависимости от исходного статуса, составил от 11 до 34 нмоль/л [66]. Известно, что на каждые потребленные 40 МЕ (1 мкг) витамина D уровень кальцидиола повышается на 0,5 нг/мл (1,2 нмоль/л) [67].

В России официальной программы фортификации продуктов нет.

Таким образом, поступление витамина D с пищей недостаточно для достижения целевых значений 25(OH)D в сыворотке крови и требует сапплементации пероральными формами холекальциферола.

1.2.3. Взаимосвязь между обеспеченностью организма витамином D и развитием ряда заболеваний

Пациенты с той или иной степенью недостаточности витамина D составляют группу риска по развитию сердечно-сосудистых, аутоиммунных и онкологических заболеваний, психических нарушений [5–12]. Доказано, что активный метаболит витамина D 1,25(OH)D обладает противовоспалительным и антипролиферативным действием регулирует эффективность иммунного ответа. Дефицит и недостаточность витамина D часто встречается при неинфекционных и различных инфекционных заболеваниях (Таблица 1).

Таблица 1 – Взаимосвязь между обеспеченностью организма витамином D и развитием ряда заболеваний

<i>Авторы</i>	<i>Нозология</i>	<i>Уровень 25(OH)D</i>	<i>Градации обеспеченности витамином D, согласно рекомендациям Международного общества эндокринологов [28]</i>
Iftikhar R. и соавт., 2013 [5]	Туберкулёз	23,0 нг/мл	Недостаточность витамина D
Bergman P. и соавт., 2012 [6]	Инфекционные заболевания верхних дыхательных путей	14,83 нг/мл	Дефицит витамина D
Zheng Z.H. и соавт., 2016 [7]	Аутоиммунные заболевания СКВ Ревматоидный артрит Болезнь Бехтерева	18,91 нг/мл 13,48 нг/мл 20,96 нг/мл 21,92 нг/мл	Дефицит витамина D Дефицит витамина D Недостаточность витамина D Недостаточность витамина D
Cairncross C. и соавт., 2016 [8]	Аллергические заболевания (бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический риноконъюнктивит)	14,97 нг/мл	Дефицит витамина D
Turkeli A. и соавт., 2016 [9]	Бронхиальная астма	22,64 нг/мл	Недостаточность витамина D
Castro F.D. и соавт., 2015 [10]	ВЗК	26,0±10,0 нг/мл	Недостаточность витамина D
Antico A. и соавт., 2012 [11]	Аутоиммунный гастрит	9,8±5,6 нг/мл	Тяжелый дефицит витамина D (авитаминоз)
	НР-ассоциированный гастрит	11,1±8,4 нг/мл	Дефицит витамина D
	Лимфоцитарный гастрит	22,2±13,5 нг/мл	Недостаточность витамина D

Показана связь между уровнем циркулирующего витамина D и выживаемостью пациентов с колоректальным раком [68].

Доказано значительное снижение общей смертности в популяции при длительном приёме препаратов холекальциферола [69; 70]. Изучается роль витамина D при диабете [71; 72].

Известно, что витамин D регулирует всасывание и отложение кальция в костной ткани [73]. При дефиците витамина D происходит нарушение всасывания кальция, уровень паратгормона в крови повышается компенсаторно, активируется костная резорбция и ускоряется потеря костной массы [74]. В последнее десятилетие отмечается, что практически все группы населения потребляют кальций и витамин D в количествах ниже возрастной нормы [74].

Пациенты с легочными заболеваниями имеют часто сниженный уровень витамина D в сыворотке крови. Эпидемиологические и клинические исследования показывают связь между статусом витамина D, легочной функцией, выраженностью воспаления, частотой обострений [75–78]. Так, в исследовании Wani было получено достоверное отличие уровня витамина D в сыворотке крови, взятой у пациентов с муковисцидозом во время обострений и во время рутинного наблюдения ($p < 0,001$) [77].

1.3. Пациенты с муковисцидозом – группа риска по дефициту витамина D

Муковисцидоз (МВ) – одно из самых распространенных наследственных заболеваний, передающееся по аутосомно-рецессивному типу при наследовании двух мутантных аллелей и обусловленное мутацией в гене муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (*CFTR* – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), расположенного в длинном плече 7-й хромосомы [23]. «Вследствие мутации гена нарушается синтез, структура и функция белка трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза (*CFTR*), хлорные каналы становятся патологически непроницаемыми для ионов хлора при гиперабсорбции натрия и одновременном поступлении в клетку воды, это вызывает дегидратацию апикальной поверхности секреторного эпителия а также увеличение вязкости слизи» [23].

При муковисцидозе поражаются различные органы и системы: желудочно-кишечный тракт, поджелудочная железа, дыхательные пути, печень, потовые и слюнные железы, репродуктивная система. Патология дыхательных путей при этом является главной причиной осложнений и летальности (более чем в 90% случаев) [23]. Формирование «порочного круга», включающего увеличение вязкости мокроты, обструкцию ды-

хательных путей, инфекцию и частые воспаления является следствием рецидивирующих респираторных эпизодов (бронхиты, бронхиолиты, пневмонии) [23; 79; 80]. Однако Verhaege С. с соавт. было выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов в легких плодов с муковисцидозом, что доказывает наличие асептического воспаления, ассоциированного с действием дефектного гена *CFTR* [81]. Хроническое инфицирование патогенной флорой приводит к прогрессирующему разрушению легких и дыхательной недостаточности [82]. Бронхо-легочные обострения при муковисцидозе оказывают глубокое влияние на качество и продолжительность жизни лиц с МВ [83]. При МВ наблюдается сочетание относительной и абсолютной панкреатической недостаточности [84]. «Дефицит экзокринных ферментов сочетается с гиперацидностью и недостатком желчных кислот, следствием этого является мальдигестия и мальабсорбция пищевых веществ, главным образом, жира и белка, в меньшей степени, углеводов, поступающих с пищей. Со временем нарушается и эндокринная функция поджелудочной железы» [84]. Заболевание сопровождается нарушениями работы желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы, а также снижением репродуктивной функции у больных, прежде всего – мужчин, и рядом других проявлений.

1.3.1. Распространенность дефицита витамина D у пациентов с МВ в мире и в российской популяции

Низкий уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом подтвержден в различных исследованиях, как в нашей стране, так и за рубежом. Последние исследования показывают, что распространенность недостаточности витамина D в популяции МВ достигает 90% [3–19; 25].

В нашей стране исследования обеспеченностью витамином D проводились преимущественно у пациентов детского возраста [19; 25]. Исследования проводились на небольших выборках, не было исследований в различные периоды года и одновременно в разных регионах.

В исследовании Красовского С. А. (2013) только у 4 пациентов (9,5%) концентрация 25(ОН)D в сыворотке крови соответствовала референсным значениям, средняя концентрация 25(ОН)D у 64 пациентов по группе составила 16,8+8,2 нг/мл. [17; 85].

В исследовании И. К. Ашеровой [18], проведенном среди 24 больных возрасте от 5 до 17 лет, проживающих в средней полосе РФ, было установлено, что все больные МВ имели

пограничный или низкий уровень 25(OH)D. У 41,7% (10) пациентов выявлена недостаточность витамина D. Недостаточность витамина D не зависела от возраста и пола [18].

Снижение уровня 25(OH)D (менее 30 нг/мл) выявлено у 80% из 92 обследованных детей с муковисцидозом в г. Санкт-Петербурге с февраля по май 2017 г. [25].

1.3.2 Причины дефицита витамина D при муковисцидозе

Для муковисцидоза актуальны причины развития недостаточности витамина D, характерные для общей популяции: недостаточность эндогенного синтеза и нехватка витамина D из-за нарушений питания. Так же, как и в общей популяции, темные оттенки кожных покровов, использование солнцезащитных кремов, проживание в загрязненных промышленными выбросами регионах и на северных территориях с низкой солнечной активностью вызывает дефицит образования витамина D [88]. Низкое поступление может быть обусловлено отсутствием в рационе витамина D, содержащихся в мясе, рыбе, яйцах, которые не употребляются; снижением физической активности [86; 87].

Сезонные колебания уровня витамина D также характерные для детей и взрослых с МВ отмечены в зарубежных исследованиях [14; 88; 89]. Исследований, в которых бы сравнивался статус витамина D у детей с муковисцидозом в различных городах России, расположенных на разных широтах, ранее не проводилось.

Низкое содержание витамина D в организме пациентов МВ обусловлено в первую очередь уменьшением абсорбции витамина D в кишечнике вследствие панкреатической экзокринной недостаточности, а также недостатком жировой ткани, накапливающей витамин D и нарушением гидроксилирования витамина D в печени, снижением уровня витамин D-связывающего белка [15–19; 87; 90].

Известно, что при муковисцидозе панкреатическая недостаточность имеет место у 85% больных [91; 92]. Поджелудочная железа является одним из основных органов-мишеней, которые страдают при муковисцидозе уже на начальных стадиях заболевания. «Первые изменения происходят еще в антенатальном периоде, в последующем, часто уже на первой неделе жизни, тело поджелудочной железы представляет собой скопление фиброзной ткани и кист. Дефицит экзокринных ферментов приводит к мальдигестии и мальабсорбции пищевых веществ, а также жирорастворимых витаминов» [93]. Панкреатическая недостаточность имеет место у основной части больных в виде абсо-

лютной недостаточности, а при снижении нутритивного статуса – в виде относительной недостаточности [91; 92].

Снижение нутритивного статуса согласно данным национального регистра 2017 года наблюдается среди детей от 2 до 18 лет в 42,7% случаев [94].

К причинам дефицита витамина D можно также отнести: гастроэзофагальный рефлюкс, воспалительные изменения кишечника, которые усугубляют метаболические изменения и синдром короткой кишки [95–97].

В связи с тем, что витамин D метаболизируется печенью, гиповитаминоз D часто наблюдается у людей с хроническими заболеваниями печени и при муковисцидозе [98–100].

Нарушение пищевого статуса обусловлено высокой степенью катаболизма на фоне хронического микробно-воспалительного процесса в бронхолегочной системе, что требует поступления большего количества микро и макронутриентов, в том числе и жирорастворимых витаминов [101].

1.3.3. Влияние мальабсорбции на дефицит витамина D

В патогенезе синдрома мальабсорбции безусловно наличие нарушения кальциевого гомеостаза и метаболизма костной ткани. Действие паратиреоидного гормона (ПТГ), заключающееся в усилении абсорбции кальция, осуществляется полностью через его стимулирующий эффект на продукцию кальцитриола почками [102; 103]. Только 10–15% кальция способно абсорбироваться в отсутствие витамина D, поступающего с пищей, тогда как достаточное потребление холекальциферола усиливает всасывание кальция до 30–40% [103; 104]. Повышенная потеря кальция при диарее и, как следствие, мальабсорбция данного макроэлемента в кишечнике, возникающая у пациентов, приводит к гипокальциемии и развитию вторичного гиперпаратиреоза. ПТГ стимулирует образование кальцитриола в почках, при таких условиях уровень кальцитриола в сыворотке может снижаться, как следствие, у больных с воспалительными и атрофическими заболеваниями кишечника развивается повышенная потребность в витамине D, что приводит к его недостаточности и дефициту наряду с мальабсорбцией [103; 104]. Среди пациентов с синдромом короткой кишки и целиакией гиповитаминоз витамина D встречается в 67% случаев [105].

В нашей стране ежегодно 15–20% детей при рождении имеют мекониевый илеус и составляют группу риска по снижению всасывания всех жирорастворимых витаминов, в том числе витамина D [106].

1.3.4. Состояние гепатобилиарной системы и дефицит витамина D

Известно, что болезни печени одна из причин нарушения образования 25(OH)D, как правило возникающего из-за блока или генетически детерминированного снижения активности α -гидроксилазы при назначении лекарственных препаратов (глюкокортикоиды, противосудорожные препараты), конкурирующих за связь с конвертирующим ферментом [107].

По данным регистра больных муковисцидозом цирроз печени с портальной гипертензией зафиксирован у 4,5%, без портальной гипертензии – у 2,3%, цирроз печени при отсутствии сведений о портальной гипертензии у 0,7% больных и поражение печени без цирроза – у 15,9% пациентов [94].

Известно, что витамин D относится к жирорастворимым витаминам, а нормальные процессы липолиза обеспечиваются адекватным количеством желчных кислот. В связи с этим дефицит желчных кислот может отражаться на всасывании витамина D. Среди пациентов с желчнокаменной болезнью и постхолецистэктомическим синдромом недостаточность и дефицит витамина D встречаются в 43,4%, с воспалительными заболеваниями кишечника – в 38,7% [105]. Явления холестаза наблюдаются у пациентов с МВ с рождения, начиная с затяжной конъюгационной желтухи, и сопутствуют всю жизнь [108].

При исследовании витамина D в сыворотке крови у 199 детей, перенесших трансплантацию печени в детской больнице Бирмингема, было выявлено что недостаточность и дефицит витамина D часто встречаются у детей в ранний послетрансплантационный период, чаще зимой и весной [109].

1.3.5. Влияние лекарственной терапии (антибиотики, ГКС) на статус витамина D

Препараты витамина D могут взаимодействовать с различными видами лекарственных препаратов. Следовательно, их прием необходимо учитывать при назначении препаратов витамина D. Различные кортикостероидные препараты, в том числе, преднизолон, часто назначаются для уменьшения воспаления при аутоиммунных заболеваниях. Кортикостероиды способствуют снижению всасывания кальция [110] а также нарушают

метаболизм витамина D. Это приводит к потере костной ткани и развитию остеопороза, при длительном приеме кортикостероидных препаратов. Препараты фенобарбитал и фенитоин, применяемые при профилактике и лечении эпилептических приступов, снижают всасывание кальция в кишечнике и повышают метаболизм в печени витамина D в неактивные соединения [111].

На сегодняшний день нет исследований, изучающих влияние CFTR-модуляторов на состояние витамина D.

1.3.6. Пероральная саплементация – основа профилактики развития недостаточности и дефицита витамина D

Существует доказанная зависимость потребление витамина D – концентрации в сыворотке кальцидиола. Обычно, среднее потребление витамина D составляет менее 200 МЕ (5 мкг) в день [31; 112]. Используя данные обеспеченности витамином D зимой Cashman и соавт. вычислили, что при потреблении витамина D (дополнительная саплементация и диета) в количестве 400 МЕ/сут (10 мкг) в день, процент людей с концентрацией кальцидиола в сыворотке крови, превышающей 25 нг/мл (62,5 нмоль/л), 12 нг/мл (30 нмоль/л) и 10 нг/мл (25 нмоль/л) составит 50%, 95% и 97,5% соответственно [31; 112]. Рядом авторов было показано, что потребление витамина D для достижения показателей кальцидиола более 20 нг/мл (> 50 нмоль/л) должно составлять примерно 1200 МЕ/сут (30 мкг/сут) [113–115].

Был проведен анализ данных 21 клинического исследования, в которых оценивалась профилактика и лечение витамин D-зависимых патологий у детей, а также эффективность компенсации дефицита витамина D при различных состояниях [116–119]. Значительная часть исследований была направлена на частичную компенсацию дефицита витамина D ($25(\text{OH})\text{D} > 20$ нг/мл) [116; 118; 119]. «Профилактический прием витамина D был непрерывным и долговременным: длительность курса составляла от 1 до 12 мес. (в среднем 6 мес). Прием препаратов витамина D осуществлялся в дозах от 800 до 4000 (в среднем 1200) МЕ/сут. Сравнение данных по дозированию витамина D в различных возрастных группах показало, что средней эффективной дозой витамина D для детей в возрасте 0–1 мес. является 740 МЕ/сут. С каждым последующим годом жизни результирующая профилактическая доза в среднем повышается на 93 МЕ/сут (коэффициент корреляции Пирсона $r = 0,57$). Дозировки, полученные на основе анализа данных исследований, относятся только к моноформам препаратам витамина D, поэтому предлагаемые

диапазоны, рассчитанные на долговременный и непрерывный прием, не могут быть использованы для препаратов, которые помимо витамина D содержат, например, кальций» [120].

Превосходство витамина D3 с точки зрения биодоступности и способности эффективнее повышать концентрацию 25(OH)D в сыворотке крови по сравнению с другими формами витамина D было получено в результате мета-анализа, включавшего 7 рандомизированных исследований [121]. Для профилактики гиповитаминоза D чаще всего применяется водный раствор холекальциферола, доказавший безопасность и эффективность в многочисленных исследованиях [122–124]. Водный раствор витамина D обладает удобством применения, значительно более эффективным механизмом всасывания из ЖКТ, большей терапевтической активностью, быстрым наступлением клинического эффекта и высокой степенью безопасности [124]. При сравнительном назначении эквивалентных доз D3 и D2 у больных МВ уровень 25(OH)D повышался в сыворотке крови быстрее при использовании холекальциферола [125].

Применение холекальциферола продемонстрировало преимущество в повышении уровня 25(OH)D по сравнению с эргокальциферолом и УФ-излучением [126].

Таким образом, на сегодняшний момент пероральные формы витамина D3 доказали свою эффективность в применении у различных групп пациентов и здоровых людей.

1.4. Костные эффекты витамина D у пациентов с муковисцидозом

В связи с разработкой и внедрением новых методов терапии и их совершенствованием, продолжительность жизни пациентов с МВ постепенно увеличивается. Ожидаемая продолжительность жизни в настоящее время для пациента с МВ в РФ составляет 55,0 лет [94]. Увеличение продолжительности жизни, тем не менее, влечет за собой увеличение выраженности и частоты ассоциированных с МВ сопутствующих заболеваний и осложнений, таких как остеопороз. Хроническое воспаление, мальабсорбция, дефицит витаминов D и K, глюкокортикоидная терапия и физическая инертность, а также измененная продукция половых гормонов, являются основными причинами снижения МПК [127].

Частота остеопороза по данным регистра больных МВ в РФ за 2017 г., составила 8% [94]. В тоже время, по данным разных исследователей из РФ, среди детей частота снижения минеральной плотности костей составляет от 33 до 65,2%, остеопороза – от

7,7 до 15,5% [128]. Распространенность дефицита витамина D имеет тенденцию к увеличению в подростковом возрасте [129], что происходит в период пиковой скорости роста и накопления минеральной плотности костной ткани. Неадекватные уровни сывороточного 25(OH)D могут влиять на пиковую костную массу у молодых взрослых с МВ [129; 130] и впоследствии приводить к увеличению частоты переломов в этой популяции [131]. Переломы позвоночника и ребер могут вызвать хроническую боль и деформации скелета, такие как кифоз, которые могут проявляться в виде снижения функции легких, неэффективного кашля и клиренса дыхательных путей [132].

На клеточном уровне остеобластическая активность снижается при муковисцидозе за счет уменьшения количества остеобластов. Дисбаланс между резорбцией кости и формированием новой кости приводит к низкой минеральной плотности кости [130].

В исследовании Красовского С. А. (2013) было отмечено значительное повышение концентрации (3-crossLaps) и снижение уровня кальцидиола у 90,5% взрослых пациентов с МВ при незначительных изменениях уровня остеокальцина сыворотки крови. Взаимосвязи уровня 25(OH)D с костными биохимическими маркерами, МПК, частотой переломов, выраженностью болевого синдрома не выявлено [17].

В исследовании И. К. Ашеровой [18], проведенном среди 24 больных 5–17 лет, проживающих в средней полосе РФ, взаимосвязи содержания 25(OH)-D с тяжестью заболевания и МПКТ выявлено не было [18].

1.5. Корреляция уровня витамина D, показателей легочной функции и бронхолегочных обострений

Для пациентов с муковисцидозом характерно снижение функции легких с возрастом. Исследования показали, что уже на первом году жизни могут образовываться бронхо и бронхиолоэктазы. Частые обострения хронического бронхита, развитие перибронхиального склероза и пневмосклероза приводят к нарушению вентиляционной функции легких. При прогрессивном течении заболевания происходит ухудшение функции легких, наряду со снижением показателей бронхиальной проводимости нарастает гиперинфляция легких [133]. В связи с этим связь между статусом витамина D, функцией легких и обострениями хронического микробно-воспалительного процесса дыхательного тракта при муковисцидозе активно изучается. Во многих исследованиях обнаружены положительные ассоциации между уровнем витамина D и функцией легких, оцененной по ОФВ₁ [20; 21; 134–136].

Однако также немало исследований, где связь витамина D с показателями легочной функции не подтверждается [137; 138]. При проведении многоцентрового исследования взрослым пациентам назначали 25000 МЕ витамина D₃ во время легочных обострений, что приводило к значительному увеличению концентрации 25(OH)D в сыворотке крови, сохраняющейся в течение всего периода исследования. В ходе исследования не было отмечено увеличения времени до следующего обострения или однолетней выживаемости, а также различий в восстановлении функции легких или концентрации плазменного кателицидина [139]. Эти результаты контрастируют с пилотным исследованием, проведенным той же группой, показавшим, что болюсная добавка витамина D (25000 МЕ) улучшала и поддерживала статус витамина D и улучшала клинические результаты [140]. Некоторые потенциальные причины, по которым дополнительное введение витамина D не снизило риск следующего легочного обострения, предполагают, что многие пациенты уже принимали препараты витамина D, а также то, что время дополнительного приема витамина D, возможно, было несвоевременным, чтобы оказать какое-либо влияние на легочное обострение, также все субъекты получали одновременную терапию легочного обострения, которая, возможно, нивелировала влияние витамина D [141].

При выявлении связи между уровнем 25(OH)D в сыворотке крови и обострениями при МВ, ряд исследований сообщают, что недостаточный уровень витамина D (25(OH)D < 20 нг/мл) ассоциирован с большим количеством обострений [142] и большей бактериальной колонизацией дыхательного тракта [143].

Так, в работе Yasmineen Abu-Fraïha средняя концентрация витамина D в сыворотке крови значительно увеличилась с 20,97 нг/мл (52,34 нмоль/л) в исходном состоянии до 25,41 нг/мл (63,42 нмоль/л) в конце наблюдения ($p < 0,001$). Количество бронхолегочных обострений достоверно уменьшилось с $2,79 \pm 3,96$ до $2,15 \pm 2,91$ ($p = 0,007$). Изменение уровня витамина D коррелировало со снижением обострений (коэффициент корреляции = $-0,318$, $p = 0,002$) [22].

Несмотря на то, что в различных исследованиях в общей популяции подтверждена связь между диабетом и дефицитом витамина D [71; 72], у пациентов с МВ исследования корреляции нарушения толерантности к глюкозе и дефицита витамина D единичны. В одном исследовании наблюдалось снижение усвоения минералов костной тканью у

лиц с муковисцидозозависимым диабетом (МВЗД) и нарушением толерантности к глюкозе, однако статус витамина D у этих пациентов не исследовался [144].

1.6. Противовоспалительные эффекты витамина D. Роль при муковисцидозе

Роль витамина D как одного из иммуномодуляторов в настоящее время определяется тем, что *VDR*-рецепторы имеют практически все клетки иммунной системы, включая клетки врождённого иммунитета, в частности, макрофаги и дендритные клетки (ДК) [145–148].

Доказано, что витамин D связывается с рецепторами в промоторной области генов, участвующих в регуляции клеточной линии лимфобластных клеток, подавляет пролиферацию В-клеток, индуцирует их апоптоз [149].

Метаболиты витамина D₃ могут снижать регуляцию провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые повышены в легких при муковисцидозе и способствуют секреции противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10. Обработка первичных моноцитов человека 25 (ОН) D подавляла экспрессию мРНК провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF-α [150; 151]. Даулетбаев и его коллеги обнаружили, что снижение уровня IL-8 метаболитами витамина D возможно только при гипервоспалительных моноцитарных макрофагах и при высоких концентрациях витамина D [152].

В рандомизированном контрольном исследовании у пациентов с МВ с дотацией витамина D во время легочного обострения наблюдалось снижение уровня ФНО-α и ИЛ-6, но не других цитокинов, которые оценивались [153]. Pincikova и соавт. обнаружили, что высокие дозы витамина D₂ или D₃ (35000 МЕ < 16 лет, 50000 МЕ > 16 лет) у лиц с МВ, имеют значительные иммунологические эффекты и могут снижать иммунную активацию дозозависимым образом [153]. Также витамин D может изменить микробиом кишечника, что может уменьшить локальное и системное воспаление [154].

Исследования в респираторных клеточных линиях МВ показали противовоспалительные и антибактериальные эффекты после лечения 1,25 (ОН) 2D в ответ на бактериальные стимулы [155]. Кроме того, было продемонстрировано, что витамин D увеличивает экспрессию мРНК кателицидина из клеток первичного бронхиального эпителия, собранных у пациентов с МВ, без каких-либо доказательств противовирусного ответа после риновирусной инфекции [156]. Исследование метаболитов в плазме пациентов с МВ показало, что благоприятное воздействие высоких доз витамина D у госпитализиро-

ванных взрослых МВ с острым легочным обострением могло происходить за счет метаболической стабилизации аминокислот, липидов и других метаболитов [19].

1.6.1. Влияние уровня витамина D на выработку антимикробных пептидов

Концентрация кальцитриола важна для участия в синтезе антимикробных пептидов - факторов врождённого иммунитета, с помощью которых усиливается антимикробная активность макрофагов и моноцитов [157].

«Антимикробные пептиды – АМП (α - и β -дефензины и кателицидины) относятся к группе механизмов врождённой защиты организма от чужеродных агентов. Основной эффект противомикробной защиты АМП осуществляют путём неокислительного киллинга бактерий. Универсальный механизм воздействия АМП на практически все классы возбудителей инфекционных заболеваний, а также отсутствие механизмов резистентности к ним позволяет рассматривать данную группу соединений в качестве значимого дополнительного эндогенного ресурса иммунной системы» [158–160]. Помимо своей роли в врожденном иммунитете, защите хозяина и воспалении, кателицидин LL-37 связан с ангиогенезом и артериогенезом [161]. В настоящее время ведется разработка активаторов АМП [162]. Кателицидин участвует в активации и контроле иммунного ответа; он увеличивает высвобождение цитокинов и хемокинов [162].

Значительное количество исследований подтверждает роль витамина D в продукции АМП [163; 164]. Многие ученые придерживаются мнения, что синтез человеческого кателицидина LL-37 может быть взаимосвязан с уровнем витамина D [165; 166] (Таблица 2).

Таблица 2 – Обеспеченность витамином D и уровень кателицидина LL-37 при ряде заболеваний

Авторы	Нозология	Исследуемая группа		Группа контроля (здоровые люди)	
		Уровень 25(ОН)D, нг/мл	Уровень LL-37, нг/мл	Уровень 25(ОН)D, нг/мл	Уровень LL-37, нг/мл
Jeng L. и др., 2009 [165]	Сепсис	16,0±8,5	13,7±2,1	26,0±7,6	27,2±4,9
Сектез У. и др., 2015 [166]	Воспалительные заболевания органов малого таза	28,4±1,4	10,3±6,5	47,3±2,0	165,6±65,9

Но J. с соавт. в исследовании на мышах показал, что эндогенный кателицидин способствует целостности кишечного барьера, что сопровождается модуляцией инфильтра-

ции нейтрофилов и макрофагов при полимикробном сепсисе. Мыши, предварительно обработанные холекальциферолом или 1,25-дигидроксивитамином D₃, показали снижение 7-дневной смертности и значительно менее тяжелые симптомы [167].

Выявлена предрасположенность к инфекциям мочевыводящих и дыхательных путей, и сепсису у детей с низким уровнем витамина D вследствие снижения выработки макрофагами кателицидинового АМП и дефензина β 2 [168]. Кроме того, при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у пациентов уровень кателицидинового АМП и других АМП ассоциирован с повышенным риском обострений [169]. Коррекция уровня 1,25 (ОН) 2D₃ приводит к снижению частоты респираторных инфекций у пациентов с бронхиальной астмой благодаря повышению экспрессии кателицидинового АМП и модуляции воспалительных цитокинов [170]. Данные о роли статуса по витамину D и заместительной терапии витамином D при сепсисе также доступны как для детей, так и взрослых: при этом у детей не было продемонстрировано четкой связи между 25 (ОН) D₃ и кателицидиновым АМП [171], тогда как у взрослых с сепсисом был выявлен низкий уровень 25 (ОН) D₃ [172], а терапия высокими дозами витамина D₃ приводила к увеличению циркулирующих кателицидиновых АМП и снижению провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-1 β [173]. Опубликованы данные о возможной роли витамина D в повышении устойчивости к ВИЧ-инфекции, в частности, выявлена более высокая концентрация кателицидиновых АМП в отделяемом слизистой ротовой полости и в крови ВИЧ-инфицированных серонегативных лиц [174]. Низкое содержание витамина D в сыворотке крови связано с прогрессированием и смертностью от ВИЧ/СПИД [175]. Как показали некоторые исследования, в моноцитах с низким уровнем витамина D наблюдалась более низкая индукция кателицидина [176].

Одним из самых изученных эффектов витамина D в отношении инфекционных заболеваний является его роль в снижении частоты туберкулеза вследствие экспрессии кателицидина [177]. «Один из путей витамин-D-зависимой продукции АМП - проникновение микобактерии в макрофаги и активации их γ -интерфероном, был открыт на примере взаимодействия молекулы кателицидина с *M. tuberculosis*. В данном случае происходит взаимодействие активных форм витамина D с рецепторами, после чего активируется синтез АМП по TLR2/1-ассоциированному пути» [178].

Однако, в отношении семейства дефензинов большая доля исследований подтверждает тот факт, что оптимальная обеспеченность организма витамином D в большей

степени влияет на продукцию HBD-1-3 [179], несмотря на исследования о влиянии холекальциферола на продукцию α -дефенинов [180].

В одном из эпидемиологических исследований была проанализирована связь дефицита витамина D с развитием заболеваний, ассоциированных с вирусом гриппа А [181]. Было доказано, что дети, не получающие добавки витамина D, имеют в два раза больший риск заболеть гриппом, по сравнению с детьми, получающими препараты витамина D – 19% и 10% соответственно ($p = 0,04$).

Антимикробные эффекты витамина D были постулированы как результат снижения бактериальной нагрузки в дыхательных путях. В эпителиальных клетках бронхов, обработанных 1,25(OH)2D, наблюдается снижение бактериальной нагрузки *P. aeruginosa*. Бактерицидная активность 1,25(OH)2D, как полагают, происходит из-за усиления регуляции LL-37 (пептида кателицидина А, который способен разрушать инфекционный агент) и дефенина $\beta 2$, антимикробных пептидов, промоторы генов которых содержат витамин D-чувствительные элементы (*VDR*) [150].

Таким образом, перспективно использование препаратов витамина D в качестве индуктора синтеза антимикробных пептидов с целью стимуляции врождённого иммунитета и потенциального снижения колонизации микробными патогенами нижних дыхательных путей при муковисцидозе. Витамин D обладает мощными иммуномодулирующими свойствами, регулируя адаптивные и врожденные функции иммунной системы, которые могут подавлять воспаление дыхательных путей и это требует дальнейшего изучения.

1.7. Влияние генетических факторов на развитие дефицита витамина D

1.7.1. Гены системы цитохрома и витамин D

Известно, что полиморфизм генов, кодирующих белки, участвующие в метаболизме и транспорте витамина D, влияет на статус витамина D. Полиморфизмы *VDR* чаще всего ассоциируются с внекостными эффектами, среди которых наиболее изучены инфекционные и аутоиммунные, в то время как к генетическим полиморфизмам, влияющим на статус витамина D относят *DBP*, *CYP2R1* и *DHCR7* [182; 183].

«На начальном этапе метаболизма витамин D комплексируется с витамин-D-связывающим белком (*VDBP*) и альбумином и транспортируются в печень. Далее в купферовских клетках печени под воздействием мембранного фермента семейства ци-

тохрома P450 25-гидроксилазы (CYP3A4) холекальциферол и эргокальциферол путем гидроксилирования превращаются в первый активный метаболит – 25(OH)D (25-гидроксивитамин D-кальцидиол). В исследованиях последних лет по идентификации ферментов, осуществляющих реакции гидроксилирования витамина D3 до 25(OH)D3, показано, что в этой реакции задействованы также изоферменты цитохрома P-450: CYP2C9 и CYP2D6» [184].

25(OH)D является основным циркулирующим метаболитом витамина D, период его жизни составляет около 3 недель. Важнейшим ферментом первого этапа биотрансформации холекальциферола в 25-гидроксихолекальциферол (25(OH)D3) и далее в гормонально активные формы витамина D3 в организме является витамин D3 25-гидроксилаза в печени, а именно митохондриальная CYP27A1 и микросомальная CYP2R1 изоформы цитохрома P450. Полиморфизм генов витамин D3 25-гидроксилазы или нарушение их экспрессии связывают с дефицитом 25(OH)D3 в организме [185]. Частота встречаемости полиморфного варианта *CYP3A4 *1B* сильно варьирует в различных популяциях, начиная от 0,0% среди китайцев до 54,6% среди афроамериканцев. Доказано, что действие естественного отбора было направлено на элиминацию аллеля *CYP3A4 *1B* в европейских популяциях [186; 187]. О причинах данного явления в настоящее время мы можем только предполагать, однако очевидно, что вариант *CYP3A4*1B* обладает существенным биохимическим эффектом в отдельных клеточных компартментах. Так CYP3A4 является ключевым ферментом гомеостаза витамина D [188]. CYP3A4 – печеночная микросомальная витамин-D-24-гидроксилаза, а также витамин-D-25-гидроксилаза, участвующая в деградации активной формы витамина D [189]. Индуктор CYP3A рифампин снижает уровень 25(OH) D3 в плазме крови на 70%, что сопровождается заметным увеличением маркера активности CYP3A4 6β-гидроксикортизола [190]. Без фармакологического вмешательства распространенность рахита увеличивается с широтой из-за снижения интенсивности ультрафиолета, корреляция между частотой аллеля *CYP3A4 * 1B* и географической широтой подтверждает данную гипотезу [191].

По литературным данным, было заявлено об ассоциациях между однонуклеотидными полиморфизмами в 11 генах, регулирующих метаболизм витамина D (*DHCR7, CYP2R1, CYP3A4, CYP27A1, DBP, LRP2, CUB, CYP27B1, CYP24A1, VDR и RXRA*), внескостными эффектами и циркулирующими уровнями 25-гидроксивитамина D (25[OH]D и 1,25-дигидроксивитамина D (1,25(OH)2D). В общей сложности 120 исследований сооб-

щили о достоверном влиянии генетических факторов, из которых 44 исследования выделили влияние полиморфизмов на циркуляцию 25(OH)D и/или 1,25(OH)₂D и 76 исследований доказали влияние на внекостные проявления. Статистически значимые ассоциации были зарегистрированы в общей сложности для 55 различных полиморфизмов в 11 исследованных генах [192].

Изучение генетических и экзогенных факторов, несмотря на актуальность проблемы и значительное количество работ по этой теме, не включает такие важные аспекты, как влияние различных полиморфизмов генов 1-й фазы биотрансформации ксенобиотиков и гена *VDR* у пациентов с муковисцидозом.

1.7.2. Ген рецептора витамина D

К числу наиболее сложных аспектов физиологии витамина D можно отнести генетические исследования, которые в значительной степени способны определять его различную роль как в развитии патологии, так и в ответе организма на фармакологическую коррекцию витамином D [193].

Известно, что 1,25 (OH)₂D влияет на транскрипцию гена, связываясь с ядерным рецептором витамина D (*VDR*) и образуя гетеродимер с ретиноидным рецептором X (*RXR*), регулируя таким образом 3% человеческого генома. «Эффекты активации моноцитов, стимуляции клеточного звена иммунитета, супрессии пролиферации лимфоцитов, продукции иммуноглобулинов и синтеза цитокинов проявляются через рецепторы к витамину D (*VDR*), которые представлены на иммунных клетках тимуса и лейкоцитов периферической крови» [194]. *VDR* кодируется геном *VDR*, расположенным на хромосоме 12, позиция 12q13.11. Этот ген содержит 11 экзонов и кодирующую область, которая экспрессирует белок *VDR*, который содержит экзоны от 2 до 928. Генетические вариации в рестрикционных ферментных участках этого гена, называемые однонуклеотидными полиморфизмами, могут оказывать физиологическое воздействие.

Fok (rs 2228570), Bsm (rs1544410), Apa (rs7975232) и Taq (rs731236) являются наиболее часто используемыми полиморфизмами в исследованиях генетических ассоциаций [195; 196]. Название полиморфизмов произошло от первой буквы рестриктаз, используемых для их детекции в ПДРФ-анализе (*FokI*, *TaqI*, *BsmI*). Полиморфизмы BsmI и ApaI, расположенные в интроне 8, и TaqI, расположенный в экзоне 9 гена *VDR*, кото-

рые приводят к изменению кодона. Кроме того, FokI находится в экзоне 2 гена *VDR*, который приводит к экспрессии белка с различным размером (424 аминокислоты) [197].

Эти полиморфизмы могут быть связаны с различиями в частоте развития заболеваний и уровнем витамина D.

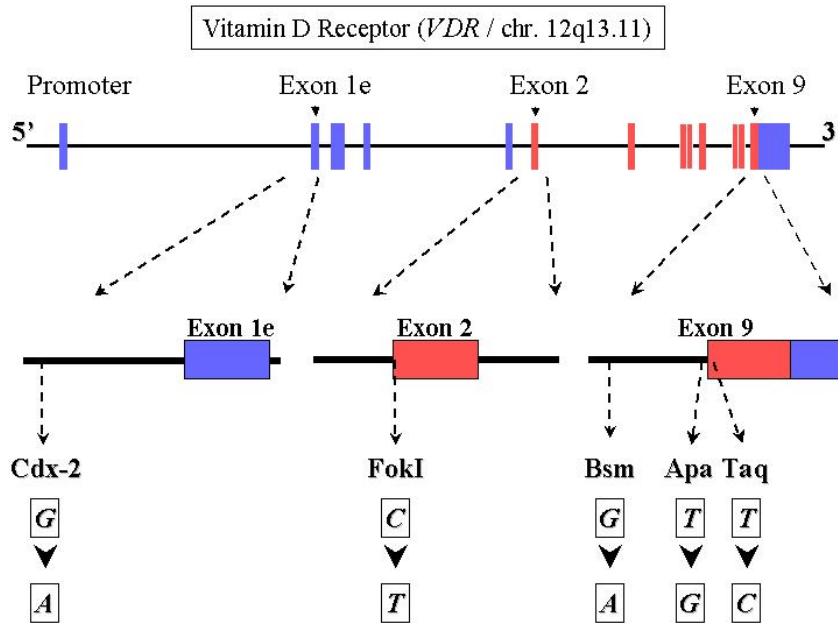


Рисунок 2 – Структура гена *VDR* [198]

Таблица 3 – Полиморфизмы *VDR*, связанные с различиями в частоте развития заболеваний и уровнем витамина D

	<i>Fok</i> (<i>rs731236</i>)	<i>Bsm</i> (<i>rs1544410</i>)	<i>Apa</i> (<i>rs7975232</i>)	<i>Taq</i> (<i>rs731236</i>)
Рассеянный склероз [199]	CC		CC, AC	CC, TC
Неспецифический язвенный колит – более тяжелое течение [200]		GG		
Болезнь Крона [201]				CC
Исследование уровня минеральной плотности кости у детей [202; 203]		GG		TT
Ревматоидный артрит [204; 205]	CC			

Полиморфизм TaqI находится в 9-м экзоне на 3'-конце гена *VDR* и приводит к синонимическому изменению вследствие замены нуклеотида. Полиморфизм FokI находится в 2-м экзоне гена, и присутствие этого полиморфизма приводит к синтезу укороченного белка VDR из-за изменения в стартовом кодоне 2A > G (Lys2Arg). Полиморфизмы *VDR* BsmI и ApaI расположены в интроне 8 на 3'-конце гена. Эти полиморфизмы не изменяют аминокислотную последовательность белка VDR, однако могут влиять на экспрессию генов через изменение стабильности мРНК, нарушение сайтов сплайсинга

для транскрипции мРНК или изменение интронных регуляторных элементов [206]. Генотип *t/t* (или сцепленный с ним генотип *BB*) полиморфизма *Bsm* ассоциирован с пониженной МПКТ, что подтверждает мета-анализ [207], в который вошло 34 исследования. Получены ассоциации данного полиморфизма с инфекционными заболеваниями, в частности туберкулезом, а также с нарушениями минерального обмена кости [208]. Исследования последних лет показали связь гена *VDR* с первичным и вторичным гиперпаратиреозом, карциномой легких и простаты, СД 1-го типа, остеоартрозом [209–211]. В исследовании González-Huerta и соавт. в мексиканской популяции метисов было доказано влияние полиморфизма гена *TaqI* (rs731236) на риск развития первичного остеоартрита [212]. Во многих исследованиях изучалась связь между полиморфизмами гена *VDR* и риском развития астмы [213; 214].

В обзоре Л. Г. Угай с соавт. описывается второй тип дефицита витамина D, который характеризуется его снижением в тканях, так называемая резистентность к гормону [15]. Развитие резистентности к 1,25(OH)₂D при MB может быть обусловлено снижением количества *VDR* рецепторов в тканях-мишенях, и прежде всего в кишечнике и почках. Витамин D и его аналоги связываются с рецептором витамина D (*VDR*) и регулируют экспрессию нескольких генов, связанных с воспалением и иммунной модуляцией [215]. «Плотность *VDR* на CD4⁺-лимфоцитах тесно коррелирует со степенью их дифференцировки, свидетельствуя о потенциальной восприимчивости клеток к метаболитам витамина D и возможном участии в механизмах иммунного ответа. В частности, наивные T-лимфоциты содержат небольшое количество рецепторов, в то же время экспрессия *VDR* на поверхности зрелых клеток существенно повышается» [216]. Механизм влияния *VDR* на воспаление описан на примере воспалительной реакции толстой кишки в экспериментальной модели колита. В исследовании полиморфизм генотип *f/F VDR* мышей, характеризовался более выраженным ответом Th1 и Th17, со значительным увеличением интерферона (ИФН)- γ ⁺, интерлейкина ИЛ-17⁺, и ИФН- γ ⁺ИЛ-17⁺ T-клеток. У мутантных мышей тяжелое воспаление слизистой оболочки сопровождалось более глубоким апоптозом эпителиоцитов толстой кишки. Таким образом, воздействие *VDR* на клетки эпителия кишечника контролирует воспаление слизистой оболочки, подавляя апоптоз эпителиальных клеток [215].

Мутации в гене рецептора витамина D являются причиной витамин D-устойчивого рахита [217]. Не случайно, именно ген рецептора витамина D был первым исследован

при остеопорозе и большая часть внимания сконцентрирована на полиморфизме вблизи 3'-участка [218]. При изучении ассоциации с остеопорозом полиморфных вариантов *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* показана протективная роль *BB* и *AA* генотипов и рискованная значимость для генотипов *FF* и *TT* для полиморфизмов *BsmI*, *TaqI* [219]. В работах отечественных исследователей также установлена ассоциация генотипа *BAtBAt* и *bATbAT* полиморфизмов *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* с постменопаузальным остеопорозом и риском остеопоротических переломов [220].

Несмотря на то, что дефицит витамина D является достаточно распространенным в популяции с МВ, на сегодняшний день нет исследований, подтверждающих генетическую основу связи между дефицитом витамина D и МВ.

1.8. Рекомендации по профилактике и терапии дефицита витамина D при муковисцидозе

Рекомендации по лечению дефицита витамина D для российской популяции здоровых детей описаны в Национальной программе [26], а для пациентов с МВ – в европейском и Национальном консенсусах [19; 23; 29]. Несмотря на то, что российские рекомендации во многом соответствуют европейским, их применение требует коррекции в связи национальными особенностями. В отличие от многих европейских стран, в России не распространена фортификация продуктов питания, отсутствуют комплексные витаминные препараты для пациентов с муковисцидозом.

Несмотря на прием профилактических доз холекальциферола, дефицит витамина D по-прежнему является актуальной проблемой [221]. Существует отсутствие консенсуса относительно оптимальных концентраций 25(OH)D в сыворотке крови, тем более что нет последовательной связи между коррекцией уровня 25(OH)D в сыворотке крови и улучшением МПКТ у пациентов без МВ [222].

Перспективные исследования для изучения альтернативных стратегий дозирования для пациентов с муковисцидозом, которые не отвечают на терапию дефицита витамина D, при стандартном подходе единичны. Исследование Janzen с соавт. показало, что протокол с использованием однократных высоких доз холекальциферола (от 300000 до 500000МЕ) или однократных высоких доз плюс еженедельный холекальциферол (50000МЕ) безопасен и эффективен при лечении взрослых пациентов с МВ и недостаточностью поджелудочной железы [223]. Shepard и соавт. исследовали безопасность и эффективность однократной пероральной высокой дозы витамина D₃ с последующим поддержанием дозы в педиатриче-

ской популяции. Дозирование витамина в этом исследовании зависело от возраста и базового уровня 25(OH)D и варьировалось от 100 000 до 600 000 МЕ. Терапия Stoss (high dose vitamin D therapy) с последующей саплементацией повышала уровень 25(OH)D выше 30 нг/мл и поддерживалась в течение 12 месяцев [224].

В настоящее время существуют различные формы витамина D, и биодоступность их не одинаково эффективна [225]. Simoneau оценил биодоступность витамина D2 против витамина D3 у детей с муковисцидозом. В проспективном исследовании участники получали пероральный витамин D3 50000 МЕ еженедельно по сравнению с пероральным витамином D2 50000 МЕ дважды в неделю. Они обнаружили, что витамин D3 был более эффективен в достижении целевых уровней 25(OH)D, поскольку для достижения тех же уровней 25(OH)D требовалась двойная доза D2 [226].

Таким образом, в настоящее время проблема дефицита витамина D является актуальной во всем мире. Влияние витамина D на различные процессы в организме, а также последствия дефицита и недостаточности постоянно находят воплощение в многочисленных исследованиях. Не известна частота недостаточности и дефицита витамина у пациентов МВ в РФ в различных возрастных группах с учетом сезона года, в разных регионах страны.

Комплексного влияния экзогенных и генетических факторов на содержание витамина D при муковисцидозе не проводилось. Остается неясным его влияние на частоту бронхолегочных обострений, функцию легких. Также представляет интерес изучение иммуномодулирующего действия витамина D на антимикробные пептиды.

Рекомендации по приему профилактических доз витамина D у пациентов с муковисцидозом разработаны и применяются во многих странах. Однако доля пациентов, в том числе детей, имеющих низкие показатели витамина D в сыворотке крови, остается значительной, несмотря на профилактический прием витамина. Необходимы дальнейшие исследования, с целью разработки персонафицированной профилактики гиповитаминоза D, для пациентов РФ, основанные на оценке различных факторов, влияющих на развитие дефицита витамина D.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась с 2018 по 2020 гг. в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (директор – д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН Куцев С. И.), в научно-клиническом отделе муковисцидоза (руководитель – д. м. н., профессор Кондратьева Е. И.). Клинические базы: ГБУЗ МО «Детский клинический многопрофильный центр Московской области» для детей (ДКМЦМО), г. Мытищи (главный врач – д. м. н. Одинаева Н. Д.); КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона», г. Красноярск (главный врач – к. м. н. Фокин В.А.); Краевая детская клиническая больница г. Ставрополя (главный врач – к. м. н. Анисимов И.Н.).

2.1. Объект и структура исследования

Объектом изучения были характеристики состояния здоровья и статус витамина D (определение содержания кальцидиола 25(OH)D) детей с муковисцидозом и факторы, влияющие на развитие дефицита витамина D у данной группы пациентов и здоровых детей.

На первом этапе работы (для решения первой и пятой задачи), чтобы оценить обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом и здоровых детей в трех регионах РФ (Московская область, Красноярский и Ставропольский края), осуществлялся забор крови для лабораторной диагностики, проводился клиничко-анамнестический анализ, измерение антропометрических показателей, фиксировалась доза принимаемого холекальциферола, пациентам с муковисцидозом дополнительно оценивали функцию легких по спирометрическим показателям: объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) и форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), определяли нутритивный статус, диагностировали осложнения и контролировали микрофлору дыхательного тракта согласно клиническим рекомендациям (2016) [227] и стандарта оказания помощи [228].

В соответствии с дизайном исследования по данным Национального регистра больных муковисцидозом РФ были отобраны группы детей с муковисцидозом. Объем выборки был обусловлен количеством пациентов, наблюдающихся в региональных центрах муковисцидоза. Формат регистра соответствует Европейскому регистру больных МВ. Пациенты с МВ Московского региона наблюдались в научно-клиническом отделе муковисцидоза ФГБНУ «МГНЦ» на базе ГБУЗМО «МОКДЦД» г. Мытищи. Пациенты

Красноярского края наблюдались в Красноярском центре муковисцидоза на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН», КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона», Университетской клиники КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого. Пациенты Ставропольского края наблюдались в Ставропольском центре муковисцидоза на базе Краевой детской клинической больницы г. Ставрополя.

Выбор регионов был обусловлен количеством пациентов с муковисцидозом и возможностью динамического наблюдения, продолжительностью солнечного сияния (ПСС), географической широтой (Рисунок 3).

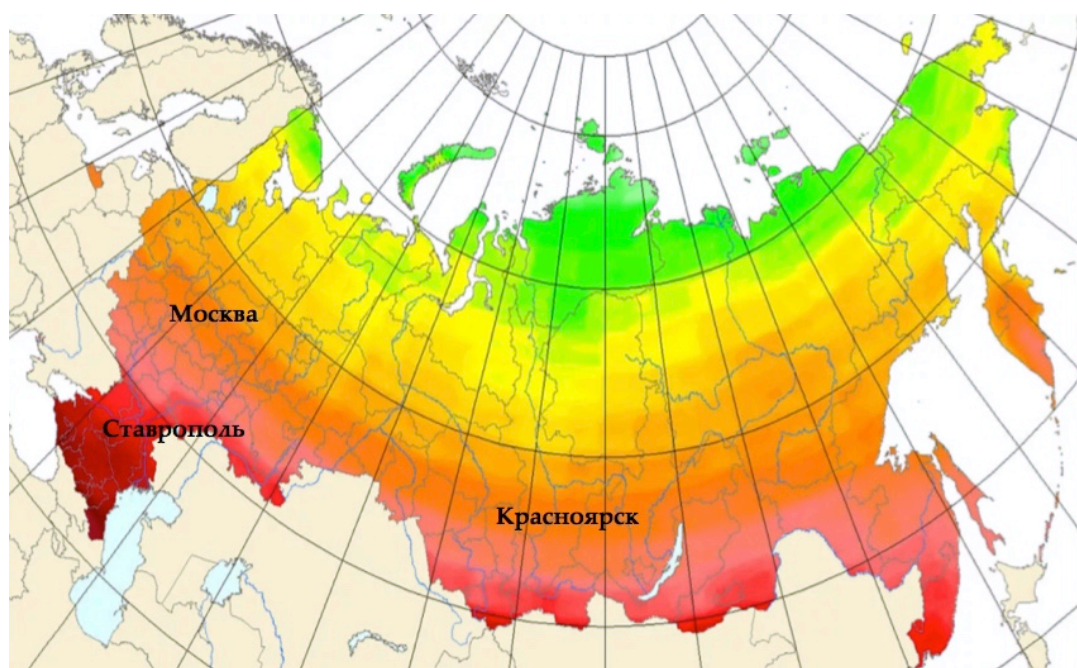


Рисунок 3 – Географическое расположение регионов, вошедших в исследование

Контрольную группу детей Московского региона, Красноярского и Ставропольского края в возрасте от 0 до 18 лет составили 333 ребенка (Московская область – 145 детей, Красноярский край – 137 детей, Ставропольский край – 51 ребенок). Среди обследованных здоровых детей ($n = 333$) было 147 (44,1%) мальчиков и 186 (55,9%) девочек, средний возраст пациентов составил $7,1 \pm 4,7$, медиана возраста – 6,4 года (Таблица 4). Дозу холекальциферола фиксировали при каждом заборе крови, при условии ее приема не менее 1 месяца. Здоровые дети использовали рекомендации по приему профилактических доз для детей для РФ, которые разработаны и представлены в Национальной программе «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» [26].

Критерии включения в контрольную группу: отсутствие хронических и аутоиммунных заболеваний, синдрома мальабсорбции, подписание информированного согласия.

Среди обследованных пациентов с муковисцидозом ($n = 283$) было 152 (53,7%) мальчика и 131 (46,3%) девочки, средний возраст пациентов составил $7,5 \pm 4,8$ лет, медиана возраста – 6,7 лет ($Q_{25} = 3,4$ и $Q_{75} = 12,5$) (Таблица 4). Всего получено 1026 образцов.

Таблица 4 – Сравнительная характеристика обследованных детей.

Характеристика		Москва, $n = 211$		Красноярск, $n = 34$		Ставрополь, $n = 38$		Всего
		Пациенты с муковисцидозом, $n = 283$						
		n	%	n	%	n	%	
Пол	Мужской	117	55,5	16	47,0	19	50,0	152 (53,7%)
	Женский	94	44,5	18	53,0	19	50,0	131 (46,3%)
Средний возраст, годы		7,0 \pm 4,9		6,6 \pm 3,9		8,9 \pm 5,2		7,5 \pm 4,8
Контрольные группы (здоровые дети), $n = 333$								
Характеристика		Москва, $n = 145$		Красноярск, $n = 137$		Ставрополь, $n = 51$		Всего
		n	%	n	%	n	%	
Пол	Мужской	64	44,1	62	45,3	21	41,2	147 (44,1%)
	Женский	81	55,9	75	54,7	30	58,8	186 (55,9%)
Средний возраст, годы		7,1 \pm 4,7		7,0 \pm 5,2		8,1 \pm 4,8		7,1 \pm 4,7

Диагноз устанавливался на основании клинической картины, данных положительной потовой пробы и/или генетического исследования согласно критериям, утвержденным в международных и отечественном консенсусах и клинических рекомендациях [23].

Критерии включения в группу муковисцидоза: дети, страдающие муковисцидозом, в возрасте от 0 до 18 лет, подписание информированного согласия.

Пациенты с МВ в сравниваемых регионах РФ, которые были включены в исследование, не имели достоверных отличий по возрасту и полу ($p > 0,05$), что позволило продолжить исследование (Таблица 4). Диагноз МВ у всех детей верифицирован на ранних сроках заболевания, в том числе при проведении неонатального скрининга (80%).

С целью проведения корректного сравнительного анализа клинических параметров дети были поделены на группы в зависимости от возраста: 1-ю группу составили образцы сыворотки детей от 0 до 3 лет; 2-ю группу – от 4 лет до 10 лет; 3-ю группу – от 11 до 18 лет.

Для решения 2-й задачи: распределение по сезону года происходило следующим образом: в весенний период исследован 238 образец (32,6%), 209 образцов (21,1%) – летом, 309 образцов (22,7%) – осенью, 268 образца (23,6%) – зимой. Количество образцов, полученное у здоровых детей и детей с муковисцидозом, представлено в Таблицах 10, 11.

В соответствии с 3-й задачей, исследовалось влияние обеспеченности витамином D больных муковисцидозом на синтез эндогенных антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, α -1-3-дефензина HNP1-3) и клинические проявления муковисцидоза (снижение показателей функции легких, развитие хронической грамотрицательной инфекции и осложнений заболевания). Были обследованы 184 пациента с муковисцидозом и 51 здоровый ребенок. Для выполнения данной задачи были проведены дополнительные клинико-anamnestические исследования, которые включали анализ 211 историй болезни пациентов с муковисцидозом, обследованных за зимний период 2018 года. Выбор периода был обусловлен тем, что в этот период чаще имеют место обострения бронхолегочного процесса у больных и низкий уровень витамина D.

Следующим этапом исследования, согласно четвертой и пятой задачам, являлось определение влияния полиморфизмов генов ответственных за нормальный метаболизм ксенобиотиков и полиморфных вариантов гена рецептора витамина D *VDR* на развитие дефицита витамина D. Генетическое исследование было проведено 211 детям с МВ и 162 детям контрольной группы.

Для анализа эффективности профилактики дефицита витамина D в динамике 2016–2018 годов ретроспективно оценивался статус витамина D у пациентов с муковисцидозом Московского региона в 2016 г. В 2016 г. в исследовании участвовало 115 детей и подростков 0–18 лет, наблюдавшихся в Российском центре муковисцидоза (ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва). Дети были разделены на 3 группы в зависимости от возраста: 32 ребенка 0–3 лет составили 1-ю группу, 66 детей 4–10 лет – 2-ю группу, в 3-ю группу вошло 17 детей и подростков 11–18 лет. Среди обследованных пациентов было 64 (56 %) мальчика и 51 (44 %) девочка, средний возраст детей составил $7,9 \pm 5,0$ лет, медиана возраста – 7,1 лет (Q1 – 3,6, Q3 – 11,3).

Все дети с муковисцидозом получали базовую терапию согласно клиническим рекомендациям 2016 и стандарта лечения МВ (муколитическую терапию с помощью ингаляционных препаратов через небулайзер – дорназа альфа или гипертонический 7%-й раствор натрия хлорида, заместительную ферментную терапию, комплекс жирорастворимых витаминов, гепатопротекторы – урсодезоксихолиевая кислота, кинезиотерапию, ингаляционные и/или таблетированные и/или внутривенные антибактериальные препараты при хроническом высеве патологической флоры дыхательных путей, при ОРВИ – таблетированные антибактериальные препараты (по чувствительности флоры дыхатель-

ных путей)) и были скомпенсированы по синдрому мальабсорбции. Витамин D назначался в соответствии с российскими и европейскими рекомендациями, для регистрации дозы обязательным условием было ее получение более 1 месяца [29].

Таблица 5 – Начальные дозы витамина D3 (МЕ/сут) и рекомендации по лечению дефицита витамина D у детей и взрослых, страдающих МВ в 2016 году [29].

<i>Возраст</i>	<i>Начальная доза</i>	<i>Увеличенная доза</i>	<i>Максимальная доза</i>
С рождения до 12 месяцев	400–500	800–1000	2000
С 12 месяцев до 10 лет	800–1000	1600–3000	4000
С 10 до 18 лет	800–2000	1600–6000	10000
Более 18 лет	800–2000	1600–6000	10000

Стратегия исследования предполагала комплексное изучение факторов, влияющих на развитие дефицита и недостаточности витамина D у детей с муковисцидозом: возраст, пол, сезон года, фактический прием препаратов холекальциферола и поступление витамина D с пищей, продолжительность солнечного сияния, функция легких, генотип по гену *CFTR*, осложнения и терапия МВ, регион проживания, влияние генетических факторов. Согласно задачам, завершающим этапом работы стало создание модели определения групп риска по развитию дефицита и недостаточности витамина D у детей с муковисцидозом и алгоритма диагностики и подбора профилактической дозы холекальциферола для детей с муковисцидозом в различные возрастные периоды.

Дизайн исследования – проспективное, нерандомизированное, многоцентровое, когортное исследование (Рисунок 4).

Исследование «Алгоритм диагностики и коррекции дефицита витамина D у детей РФ» было одобрено этическим комитетом ФГБНУ «МГНЦ», протокол № 9 от 8 декабря 2017 года.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Клинико-anamnestический метод

При анализе анамнестических данных оценивали: возраст установления диагноза, микробный пейзаж, проявления и осложнения течения МВ (МВ-зависимый сахарный диабет – МЗСД, цирроз печени, назальные полипы, кровохарканье и легочные кровотечения, эпизоды пневмоторакса), дозу холекальциферола.



Рисунок 4 – Дизайн исследования

Обследование пациентов проводили согласно стандартному плану обследования пациентов с муковисцидозом: генетический анализ, исследование панкреатической эластазы 1, микробиологическое исследование мокроты, спирометрическое исследование (ОФВ₁, ФЖЕЛ). Клинико-физиологическая оценка проводилась на основании данных анамнеза, клинического осмотра.

Антропометрические показатели измеряли методом взвешивания и оценки длины или роста тела. Масса тела детей измеряли при снятой верхней одежде и обуви на электронных весах с точностью до 0,01 кг. Длину/рост тела измеряли с помощью механического ростомера с точностью до 0,1 см. Для оценки показателей роста и массы детей использовали стандартные показатели для оценки физического развития детей ВОЗ (Antro, AntroPlus), такие как ИМТ по Quetelet, рассчитанному по стандартной формуле: ИМТ, кг/м² = масса (кг) / рост м², ИМТ перцентиль ИМТ Z-критерий [282]. Для оценки показателей физического развития по регистру за референсные значения принимали показатели 26-го до 75-го перцентиля (согласно требованиям европейского регистра). По Z-критерию (метод сигмальных отклонений) нормы устанавливали отличные от рекомендаций ВОЗ для здоровых детей, так как при МВ определены целевые значения для ИМТ и длины/роста – 0 SD [229]. В связи с этим за норму принимали ИМТ/рост: Z-критерий от 0 SD до +1 SD – норма.

2.2.2. Микробиологический метод

Идентификацию бактерий проводили общепринятыми микробиологическими и биохимическими методами, используя алгоритм микробиологической диагностики мокроты, разработанный сотрудниками лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекции ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи [230].

2.2.3. Исследование функции внешнего дыхания

Состояние функции легких анализировали по данным форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) и объема форсированного выдоха за одну секунду (ОФВ₁). Исследование было выполнено с соблюдением стандартов исследования Российского респираторного общества (РРО, 2014) и рекомендаций Американского торакального общества и Европейского респираторного общества (ATS/ERS, 2005) [231; 232] в группе детей старше 5 лет, способных сделать дыхательный маневр при проведении спирометрии. При анализе показателей, полученных при исследовании ФВД, использовали должные величины G. Polgar и соавт. для детей [233]. Результаты выражали в процентах от должного значения (% долж.): полученное значение / должное значение × 100%. Степень тяжести выявленных нарушений легочной вентиляции оценивали по ОФВ₁ (Таблица 6) [234].

Таблица 6 – Классификация степени тяжести нарушений легочной вентиляции

<i>Степень тяжести</i>	ОФВ ₁ , % долж.
Легкая	70–80
Умеренная	60–69
Средне-тяжелая	50–59
Тяжелая	35–49
Крайне тяжелая	< 35

2.2.4. Расчет поступления витамина D с пищей по данным программы ЭВМ

Данные о поступлении витамина D с пищей у пациентов с муковисцидозом были получены с помощью анализа 3-дневного меню анкетно-опросным методом. На основании анкет с использованием программы ЭВМ «Мониторинг нутритивного статуса, рациона питания и ферментной терапии» (Свидетельство о государственной регистрации

программы для ЭВМ ФИПС № 2016 660762 от 21.09.2016) было рассчитано содержание витамина D в рационе. База программы создана на основе справочников «Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания» [235], «Сборника рецептур блюд и кулинарных изделий» и отечественных норм потребности в питательных веществах [236].

2.2.5. Оценка продолжительности солнечного сияния

Данные о продолжительности солнечного сияния (количество солнечных часов в месяц в изучаемые года) были получены из архива метеорологической службы для каждого региона (<http://meteoweb.ru>) (Таблица 7).

Таблица 7 – Продолжительность солнечного сияния (часы) в 3 регионах в 2018 году.

Регион	Месяцы												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Всего
Москва	20,9	60,8	161,2	240,4	340,6	324,8	206,3	352,7	208,9	115,7	67,1	14,5	2113,9
Красноярск	62,8	112,8	180,3	197,1	183,9	341,5	254,4	300,7	153,5	144,5	47,2	10,2	1988,9
Ставрополь	38,3	49,1	92,5	304,3	290,2	366,0	301,2	346,1	223,9	243,6	91,8	26,9	2373,9

Для оценки влияния ПСС на уровень витамина D была создана база данных уровня 25(ОН) D и ПСС в этот период (месяц) в регионе проживания.

2.2.6. Биохимические методы

а. Оценка уровня витамина D проводилась по содержанию в крови его промежуточного метаболита – кальцидиола 25(ОН)D. Определение концентрации проводилось в ФГБНУ «МГНЦ» методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы EuroimmunAG (Германия) с использованием планшетного спектрофлуориметра EnSpire (PerKiNElmer, Финляндия), центрифуги BiosanLaboratoryCentrifuge LMC-3000 и термощейкера Thermo-ShakerBiosan PST-60-HL4.

Определение 25(ОН)D основано на принципе конкурентного связывания в сыворотке крови методом ИФА-тест для твердофазного иммуноферментного анализа. На начальном этапе, образцы обрабатывались в отдельных пробирках с денатурирующим буфером для извлечения аналита, в связи с тем, что большая часть циркулирующего 25-ОН Витамина D связана в крови с VDBP (Белок, связывающий Витамин D) в естественных условиях. После нейтрализации добавлялся биотинилированный 25-ОН витамин D

(ферментный конъюгат) и меченый пероксидазой стрептавидин (ферментный комплекс). Далее, после аккуратного перемешивания раствор переносился в лунки микропланшета. Эндогенный 25-ОН витамина D из образца конкурирует с биотинилированным 25-ОН-витамином D₃ за связывание с VDBG, который сорбирован в лунках микропланшета. Связанный 25-ОН витамин D обнаруживался с помощью ферментного комплекса. Для этой цели проводилась инкубация с последующей стадией промывки, удалением несвязанных компонентов. Цветную реакцию начинали с добавления субстрата фермента и останавливали после определенного времени. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации 25-ОН витамина D в образце.

Интерпретация результатов определения уровня 25(OH)D осуществлялась в соответствии с рекомендациями Международного общества эндокринологов (2011) и рекомендациями Европейского консенсуса [19]: «тяжёлый дефицит – уровень 25(OH)D менее 10 нг/мл; дефицит – от 10 до 20 нг/мл; недостаточность – 21–29 нг/мл; нормальное содержание – 30–100 нг/мл, уровень более 100 нг/мл расценивали как избыточный, требующий коррекции дозы витамина D» [26].

в. Определение концентрации АМП (кателицидина LL-37, α -1-3-дефензина (HNP1-3) в сыворотке крови проводилось иммуноферментным методом с помощью наборов Nycultbiotech. Диапазон измерения для α -1-3-дефензина (HNP1-3) составил 156–10000 пг/мл. Чувствительность: 156 пг/мл. Диапазон измерения для кателицидина: 0.14–100 нг/мл. Чувствительность: 0,14 нг/мл. Образцы крови центрифугировались в течение 20 минут при приблизительно 1000×g. Свежеприготовленная сыворотка хранилась при температуре минус 20 °C.

Набор ELISA HNP1-3/ ELISA LL-37 человека представляет собой готовый к использованию твердофазный иммуноферментный анализ, основанный на принципе сэндвича. Стандарт восстанавливают путем пипетирования количества буфера для разведения образца в стандартном флаконе. Приготавливается каждый стандарт HNP1-3/LL-37 в полипропиленовых пробирках путем последовательного разбавления восстановленного стандарта буфером для разведения образцов. Образцы и стандарты инкубируют в лунках с микротитрами, покрытыми антителами, распознающими человеческий HNP1-3/LL-37. Биотинилированные меченные антитела будут связываться с захваченным человеческим HNP1-3/LL-37. Конъюгат стрептавидин-пероксидаза будет связываться с биотинилированным антителом-меткой. Конъюгат стрептавидин-пероксидаза

будет реагировать с субстратом, тетраметилбензидином (ТМБ). Реакция фермента останавливается добавлением щавелевой кислоты. Среднюю оптическую плотность для каждого набора дубликатов стандартов, контроля и образцов рассчитывается путем создания стандартной кривой с помощью компьютерного программного обеспечения, способного обеспечить хорошую подгонку кривой. Среднее поглощение для каждой стандартной концентрации нанесено на вертикальную ось (Y) в зависимости от соответствующей концентрации на горизонтальной оси (X) (логарифмическая шкала).

Все исследования проводили одновременно для пациентов с МВ и здоровых детей всех трех регионов.

2.2.7. Генетические методы исследования.

Материалом исследования являлась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови стандартным методом. Использовали метод выделения тотальной ДНК из цельной крови пациентов стандартным методом фенол-хлороформной экстракции; метод генотипирования полиморфных вариантов генов с помощью ПЦР и ПДРФ анализа.

Каждый цикл амплификации состоит из трех стадий с различными температурными режимами. На первой стадии при 94 °С происходит денатурация цепей ДНК, затем при 60 °С для *VDR* и 60 °С для цитохромов – присоединение (отжиг) праймеров к гомологичным последовательностям на ДНК-мишени, и при температуре 72 °С протекает синтез новых цепей ДНК путем удлинения праймера в направлении 5'–3'. В каждом цикле происходит удвоение числа копий амплифицируемого участка. Выделенную ДНК замораживали и хранили при минус 20 °С до проведения генотипирования.

Изучение полиморфных вариантов исследуемых генов проводили с помощью амплификации соответствующих участков генома методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в геномной базе данных (GDB) и литературе (Таблицы 8 и 9). Продукты амплификации обрабатывали соответствующими рестриктазами (Таблицы 2 и 3) при оптимальной для фермента температуре в течение 16–24 часов. Продукты рестрикции фракционировали в 3%-м агарозном геле при напряжении 90–120 В в течение 35–70 минут или при напряжении 90–120 В в течение 35–100 минут в 8–10% полиакриламидном геле. Фрагменты ДНК визуализировали в УФ-свете с применением компьютерной видеосъемки на приборе Vilber Lourmat (Франция).

Исследовали следующие полиморфные варианты генов:

– полиморфизмы генов CYP2C9 (1075A > C; I359L), CYP2C19 (636G > A; W212X), CYP3A4 (с.1334T > C; M445T);

– полиморфизмы FokI, TaqI, BsmI гена *VDR*.

а. Для исследования полиморфизмов CYP2C9 (1075A > C; I359L), CYP2C19 (636G > A; W212X), CYP3A4 (с.1334T > C; M445T) последовательность праймеров изменена для создания сайта рестрикции для соответствующих эндонуклеаз (Таблица 8). Наличие природных сайтов рестрикции для соответствующих эндонуклеаз позволило исследовать полиморфизмы CYP2C9 (с.430C > T; R144C), CYP2C19 (с.681G > A), CYP2D6 (с.1846G > A), CYP3A4 (с.-392C > T). Полиморфные варианты генов цитохрома для оценки метаболизма витамина D исследовались у пациентов с МВ впервые.

Таблица 8 – Последовательности праймеров, используемые для определения полиморфных вариантов генов цитохрома

Аллельный вариант	Фланкирующая последовательность	Генотип		
CYP2D19 (с.681G > A)	TTCCCACTATCATTGATTA TTTCCC[G/A]GGAACCCAT AACAAATTACTTAAAA	GG	AG	AA
CYP2C9*3 CYP2C9*2 (с.430C > T; R144C)	CCTGTTAGGAATTGTTTTGAATTGTTTTTCTCA CCAGGAAGAGATTGAACG	AA	AC	CC
CYP2D6 (с.1846G > A)	GTGATGGGCAGAAGGGCAC GCAAATCCTGCTCTTCCGA	GG	AG	AA
CYP3A4 (с.-392C > T).	CAGCCATAGAGACAAGGGCC ACACACACCACTCACTGACC	CC	CT	TT

б. Анализ полиморфных вариантов гена *VDR* проводили методом рестрикционного анализа (ПДРФ). Для исследования полиморфизмов с.1206T > C(A > G), с.152T > C и с.1174+283G > A использовали соответствующие рестриктазы – TaqI, BstF5I и PctI. Оптимальная температура отжига при амплификации определялась структурой праймеров и составляла 60 °С градусов, количество циклов реакции – 32. Температура на стадии предварительной денатурации составляла 94 °С градуса в течение 3 минут, а температура при финальной элонгации – 72 °С. Использовали соответствующие праймеры (Таблица 9). Выбор данных полиморфизмов был обусловлен доказанным участием их в развитии остеопороза.

Таблица 9 – Праймеры, используемые для определения полиморфизмов гена *VDR*

<i>Полиморфизм</i>	<i>Последовательность</i>	<i>Фрагмент</i>	<i>Продукт рестрикции</i>
NM_001017536.1:c.152T > C (FokI)	F 5' GCCAGCTATGTAGGGCGAAT R 5' AGGAGGGCTCACCTGAAGAA	368	131+28+209
NM_001017536.1:c.1206T > C (TaqI)	F 5' CTGAGAGCTCCTGTGCCTTC R 5' ACAAGGGGCGTTAGCTTCAT	271	73+198
NM_001017536.1:c.1174+283G > A (BsmI)	F -5' CCTGAAGGGAGACGTAGCAA 5' CACTGCACATTGCCTCCAAA	351	198+153

2.2.8. Статистические методы

После идентификации полученные результаты вносились в компьютерную базу данных, где проводилась их последующая статистическая обработка с применением специальных программ (IBM SPSS Statistics). Статистические методы были разделены на методы для описания количественных признаков и специальный метод для проведения генетического анализа. Использовались параметрические и непараметрические методы анализа [237; 238]. В качестве мер для описания исходной выборки применялись критерии среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD), в то время как интерпретация полученных результатов (не имеющих нормального распределения) проводилась с использованием медианы (Me), а также нижнего и верхнего квартилей: Q1 (25%) и Q3 (75%). При сравнении средних применялся t-критерий Стьюдента, при сравнении медиан применялся критерий Манна – Уитни (Mann – Whitney U-test). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Применяли параметрический однофакторный дисперсионный анализ (попарное сравнение критерием Шеффе), непараметрический дисперсионный анализ Краскала – Уоллиса (попарное сравнение критерием Манна – Уитни), тест независимости хи-квадрат по таблице сопряженности, анализ доли детей с разным содержанием витамина D с помощью z-критерия сравнения долей.

При исследовании генетического полиморфизма в группах использовали точный критерий Фишера, учитывалось равновесие Харди – Вайнберга. Изучение ассоциации уровня витамина D с полиморфизмом гена *VDR* (c.1206T > C (A > G), *VDR* (c.152T > C) и *VDR* (c.1174+283G > A) проводилось у индивидов с разным статусом здоровья (группа здоровых индивидов и группа пациентов MB), также использовали метод многофакторного уменьшения размерности (Multifactor dimensionality reduction – MDR), статистический подход, использующий алгоритмы машинного обучения (программа MDR 3.0.2).

2.3. Объем исследования

В исследование вошло 616 детей и подростков (283 пациента с МВ и 333 здоровых ребенка). Объем исследований у здоровых детей и пациентов с муковисцидозом представлен в Таблицах 10, 11.

Таблица 10 – Объем исследований в группе здоровых детей

<i>№ n/n</i>	<i>Показатель</i>	<i>Москва</i>	<i>Красноярск</i>	<i>Ставрополь</i>	<i>Всего определений</i>
Антропометрические показатели					
1.	Рост, см	145	137	51	333
2.	Масса тела, кг	145	137	51	333
3.	ИМТ, кг/м ²	145	137	51	333
4.	ИМТ перцентиль	145	137	51	333
5.	ИМТ Z-критерий	145	137	51	333
6.	Рост перцентиль	145	137	51	333
7.	Рост Z критерий	145	137	51	333
Биохимические показатели					
9.	25(OH)D	151	137	157	445
10.	кателицидин LL-37	15	16	20	51
11.	α-1-3-дефензина (HNP1-3)	15	16	20	51
Итого		547			
Генетическое исследование					
12.	CYP2C9*2(430C > T; R144C)	58	36	26	120
13.	CYP2C9*3(1075A > C; I359L)	58	36	26	120
14.	CYP2D6*4 (1846G > A)	58	36	26	120
15.	CYP3A4 (c.1334T > C)	58	36	26	120
16.	CYP3A4*1B (392C > T)	58	36	26	120
17.	c.152T > C (FokI)	74	61	27	162
18.	c.1206T > C (TaqI)	74	61	27	162
19.	c.1174+283G > A (BsmI)	74	61	27	162
Итого		1086			

Таблица 11 – Объем исследований в группе пациентов с муковисцидозом

№ n/n	Показатель	Москва	Красноярск	Ставрополь	Всего образцов
Антропометрические показатели					
1.	Рост, см	211	34	38	283
2.	Масса тела, кг	211	34	38	283
3.	ИМТ, кг/м ²	211	34	38	283
4.	ИМТ перцентиль	211	34	38	283
5.	ИМТ Z-критерий	211	34	38	283
6.	Рост перцентиль	211	34	38	283
7.	Рост Z критерий	211	34	38	283
Оценка функции легких					
8.	Спирометрия (ОФВ ₁ , ФЖЕЛ)	150	62	62	274
Оценка витамина D поступающего с пищей					
9.	Обработка в программе ЭВМ	82			82
Биохимические показатели					
10.	25(ОН)D	313	122	144	579
11.	кателицидин LL-37	139	25	20	184
12.	α-1-3-дефензина (HNP1-3)	139	25	20	184
Итого		947			
Генетическое исследование					
13.	СУР2С9*2(430С > Т; R144С)	30	30	24	84
14.	СУР2С9*3(1075А > С; I359L)	30	30	24	84
15.	СУР2D6*4 (1846G > А)	30	30	24	84
16.	СУР3А4 (с.1334Т > С)	30	30	24	84
17.	СУР3А4*1В (392С > Т)	30	30	24	84
18.	с.152Т > С (FokI)	146	34	31	211
19.	с.1206Т > С (TaqI)	146	34	31	211
20.	с.1174+283G > А (BsmI)	146	34	31	211
Итого		1053			

Функция внешнего дыхания исследована у 274 пациентов с муковисцидозом.

Поступление витамина D с пищей определено у 87 у пациентов с муковисцидозом Московского региона.

Всего пациентам с муковисцидозом и здоровым детям было проведено 1024 исследования по определению 25(ОН)D в сыворотке крови (579 – пациентов с МВ, 445 – здоровых детей). Все образцы были распределены на 4 группы в зависимости от сезона (Таблица 12).

Таблица 12 – Количество образцов и проведенных лабораторных исследований у здоровых детей и детей с муковисцидозом.

Регион	Категория	Витамин D зима	Витамин D весна	Витамин D лето	Витамин D осень	Всего витамин D
Москва	МВ	74	102	66	71	313
	здоровые	71	12	22	46	151
Красноярск	МВ	34	32	29	27	122
	Здоровые	36	32	35	34	137
Ставрополь	МВ	34	31	27	52	144
	Здоровые	19	29	30	79	157
Всего		268	238	209	309	1024

184 пациентам было проведено исследование уровня АМП (кателицидина LL-37, α -1-3-дефензина (HNP1-3) в сыворотке крови.

204 пациентам было проведено определение генотипов полиморфизмов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков: *CYP2C9*2* (430C > T; R144C), *CYP2C9*3* (1075A > C; I359L), *CYP2D6*4* (1846G > A), *CYP3A4* (с.1334T > C), *CYP3A4*1B* (392C > T).

Тестирование вариантов гена *VDR* (с.1206T > C, с.152T > C, с.1174+283G > A) проведено у 211 больных МВ (146 – Москва, 34– Красноярск, 31 – Ставрополь) и у 162 здоровых детей. Исследование выполнено научными сотрудниками научно-клинического отдела Зодьбиновой А. Э и Мельяновской Ю. Л.

Таким образом, в работе использован полный спектр методов, необходимых для выполнения поставленных задач, а объем проведенных обследований позволяет представить работу как исследование, в результате которого была достигнута основная цель – определены экзогенные и генетические факторы, влияющие на развитие дефицита витамина D у детей с муковисцидозом и разработан алгоритм диагностики и профилактики.

Глава 3. ОЦЕНКА СТАТУСА ВИТАМИНА D У ДЕТЕЙ С МУКОВИСЦИДОЗОМ И ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ ТРЕХ РЕГИОНОВ РФ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

3.1. Витамин D у здоровых детей

3.1.1. Клиника-лабораторная характеристика группы здоровых детей

Контрольную группу детей составили 333 практически здоровых индивидуумов в возрасте от 0 до 18 лет, которые не страдали хроническими заболеваниями и синдромом мальабсорбции.

Забор крови у детей Московского региона проводился на базе МОКДЦД г. Мытищи, у детей Красноярского края в КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона», у детей Ставропольского края в Краевой детской клинической больнице г. Ставрополя.

В ходе исследования получено 445 проб от здоровых детей (Таблица 12). Из них из Московского региона – 145 детей, из Красноярска – 137 ребенок, из Ставрополя – 51 ребенок. Средний возраст всех здоровых детей составил $7,1 \pm 4,7$ лет, медиана возраста – 6,4 года. В Московском регионе средний возраст детей контрольной группы составил $7,1 \pm 4,7$ лет, медиана 5,9 лет, в Красноярском крае – $7,0 \pm 5,2$ года, медиана возраста – 6,7 лет, в Ставропольском крае – $8,1 \pm 4,8$ года, медиана возраста – 9,0. В группе здоровых детей достоверных различий по возрасту и полу не отмечено.

На момент забора крови все дети были здоровы. Детям этой группы было проведено биохимическое обследование – определение уровня витамина D в сыворотке крови и уровня АМП, генетическое обследование (определение генотипов полиморфизмов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и тестирование вариантов гена) и антропометрическое обследование. Одновременно с забором крови фиксировалась доза холекальциферола, принимаемая ребенком (Таблица 18).

Таким образом, проведена комплексная клиничко-лабораторная оценка состояния здоровья детей, составивших контрольные группы в представленном исследовании.

3.1.2. Статус витамина D у здоровых детей 3 регионов РФ

Результаты исследования показали, что уровень витамина D в изучаемой выборке здоровых детей составил $32,7 \pm 17,5$ ($29,6$ ($21,7-39,7$)) нг\мл. В целом нормальное

содержание 25(OH)D отмечено в 48,5% случаях, недостаточность – 30,1%, дефицит 19,8%, выраженный дефицит – 1,6% (Таблица 13).

Содержание витамина D в крови здоровых детей различных регионов отличалось (Таблица 13). Количество детей с нормальным содержанием 25(OH)D было достоверно выше в Московском регионе и Ставропольском крае по сравнению с Красноярским краем ($p < 0,05$).

Таблица 13 – Частота здоровых детей и подростков с различным уровнем обеспеченности витамином D (n, %) в различных регионах.

Регион	Количество детей, (n, %)				p
	Нормальное содержание	Недостаточность	Дефицит	Выраженный дефицит	
Москва (1)	76 (50,3%)	46 (30,5%)	27 (17,9%)	2 (1,3%)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Красноярск (2)	51 (37,2%)*	48 (35,1%)	33 (24,1%)	5 (3,6%)	
Ставрополь (3)	89 (56,7%)	40 (25,5%)	28 (17,8%)	0	
Всего в РФ	216 (48,5%)	134 (30,1%)	88 (19,8%)	7 (1,6%)	
<i>Примечание.</i> Применялся Z критерий сравнения долей					

При сравнительном анализе среднего уровня 25(OH)D у детей разного возраста и пола достоверное отличие получено между девочками и мальчиками старшей возрастной группы ($p = 0,033$). Мальчики-подростки имели более низкие значения данного показателя, который составил $25,70 \pm 11,21$, Me 24,10 (17,40–30,51) нг/мл, по сравнению с девочками-подростками $28,70 \pm 14,01$, Me 26,18 (18,80–33,56) нг/мл, что позволяет их в этом возрасте отнести к группе риска (Таблица 14).

Таблица 14 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у детей разных возрастных групп с учетом гендерных различий, $M \pm m$, Me (Q1–Q3)

Возраст, годы	Девочки		Мальчики	
	$M \pm m$	Me (Q1–Q3)	$M \pm m$	Me (Q1–Q3)
0–3	$40,83 \pm 26,92$	33,59 (24,40–48,71)	$41,82 \pm 22,32$	39,00 (25,39–54,65)
4–10	$32,16 \pm 14,49$	31,04 (22,00–38,80)	$32,57 \pm 13,44$	31,30 (23,50–38,60)
11–18	$28,70 \pm 14,01$	26,18* (18,80–33,56)	$25,70 \pm 11,21$	24,10 (17,40–30,51)
Всего	$33,27 \pm 18,70$	29,92 (21,00–39,70)	$32,30 \pm 16,40$	28,40 (21,70–39,73)
<i>Примечание:</i> * $p = 0,033$ между мальчиками и девочками в возрастной группе 11–18 лет; применялся критерий Манна–Уитни				

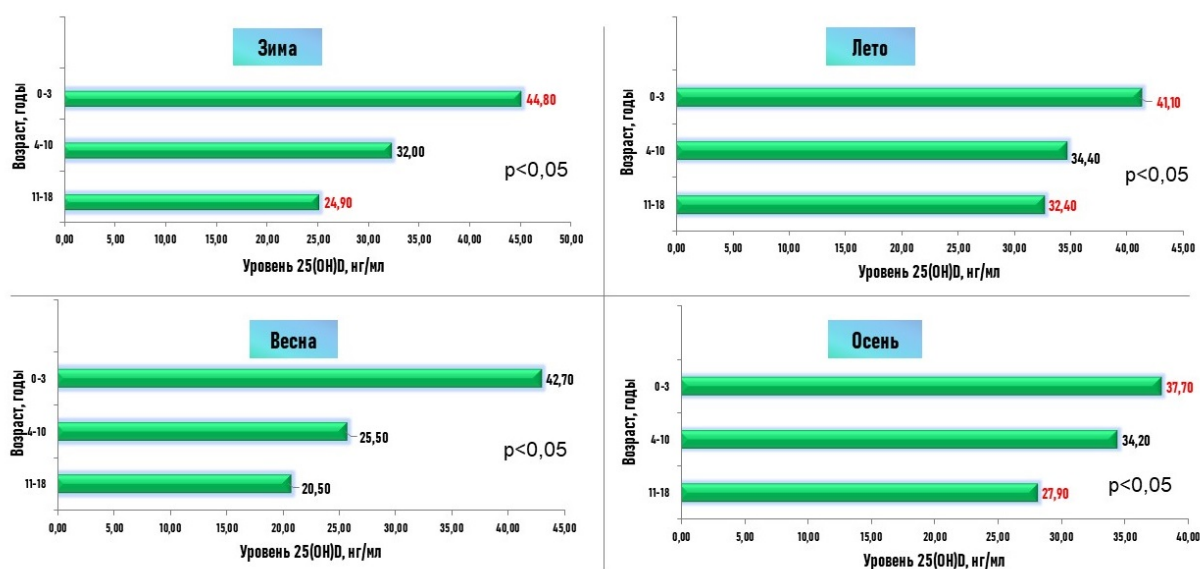
Установлено, что с возрастом уровень кальцидиола у здоровых детей снижается с 41,36 нг/мл в раннем возрасте до 26,94 нг/мл у подростков ($p < 0,001$) (Таблица 15).

Таблица 15 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у детей в зависимости от возраста, $M \pm m$, Me (Q1–Q3)

Возраст, годы	$M \pm m$	Me (Q1–Q3)	p
0–3 (1)	41,36±24,48	35,85 (24,40–50,10)	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
4–10 (2)	32,37±13,92	31,12 (22,82–38,80)	
11–18 (3)	26,94±12,49	24,60 (18,30–31,55)	
Всего	32,74±17,47	29,60 (21,68–39,70)	

Примечание. p – уровень значимости различий, применялся критерий Манна – Уитни

У здоровых детей в возрасте 0–3 лет средний уровень витамина D соответствовал норме во всех сезонах. В группе детей 4–10 лет достоверно низкий уровень витамина D наблюдался весной по сравнению с летом. У детей старшей возрастной группы средний уровень 25(OH)D был ниже нормы во всех сезонах (Рисунок 5). Самый низкий уровень отмечен весной и зимой у подростков.



Примечание. p – уровень значимости различий, применялся критерий Манна – Уитни

Рисунок 5 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у детей в зависимости от возраста и сезона года

При изучении результатов исследования концентрации 25(OH)D выявлено большее число наблюдений с дефицитом ($25(OH)D < 20,0$ нг/мл) в Красноярском крае по

сравнению с Московским регионом ($p < 0,05$). Количество детей с нормальным содержанием 25(OH)D было достоверно выше в Московском регионе и Ставропольском крае по сравнению с Красноярским краем ($p < 0,05$).

Средние уровни 25(OH)D (нг/мл) в сыворотке детей в разные сезоны года в трех изучаемых регионах РФ представлены в Таблице 16. Достоверные различия были получены при сравнении значений витамина D между регионами весной и осенью, что соответствует большему количеству солнечных дней в Ставрополе по сравнению с Московским регионом и Красноярским краем. Так, ПСС весной в Московском регионе составила 742,2 часа, в Красноярском крае 561,3 часа, в Ставропольском крае 687 часов. ПСС летом в Московском регионе составила 883,8 часа, в Красноярском крае 896,6 часа, в Ставропольском крае 1013,3 часа. Осенью ПСС в Московском регионе составила 391,7 часа, в Красноярском крае 345,2 часа, в Ставропольском крае 559,3 часа.

Таблица 16 – Уровень 25(OH)D (нг/мл) у детей трех регионов РФ в разные сезоны года, $M \pm m$, $Me(Q1-Q3)$

Сезон	Москва (M)	Красноярск (K)	Ставрополь (C)	Общая группа	P регионы между собой
Зима (1)	31,7±14,4 29,2 (22,9–39,2)	38,4±29,4 29,5 (22,7–40,0)	30,1±12,6 31,7 (18,2–36,0)	33,4±19,8 29,2 (22,9–39,1)	$p > 0,05$
Весна (2)	26,4±26,4 15,1 (10,7–36,7)	23,2±9,6 21,2 (15,5–28,5)	35,7±19,6 32,0 (21,6–43,4)	28,7±18,2 23,5 (16,4–34,1)	$p_{M2-C2} = 0,031$ $p_{K2-C2} = 0,005$
Лето (3)	39,0±16,0 31,7 (26,8–48,5)	32,2±14,6 29,2 (22,5–34,5)	35,2±14,3 31,1 (24,6–44,6)	35,0±14,9 30,7 (24,6–42,6)	$p > 0,05$
Осень (4)	34,7±15,6 31,3 (24,0–40,8)	27,3±22,1 21,2 (15,1–30,3)	34,3±13,2 31,6 (24,1–43,9)	32,9±16,3 30,3 (21,7–40,)	$p_{M4-K4} = 0,002$ $p_{C4-K4} = 0,000$
Всего	33,3±16,4 30,1 (22,2–41,6)	30,5±21,2 25,0 (19,5–35,3)	34,2±14,7 31,6 (23,5–43,6)	32,7±17,5 29,6 (21,7–39,7)	$p_{M-K} = 0,008$ $p_{K-C} = 0,000$
p в регионе между сезонами	$p_{M1-2} = 0,025$ $p_{M2-3} = 0,008$ $p_{M2-4} = 0,016$	$p_{K1-2} = 0,002$ $p_{K1-4} = 0,006$ $p_{K2-3} = 0,002$ $p_{K3-4} = 0,008$	$p > 0,05$	$p_{1-2} = 0,008$ $p_{2-3} = 0,000$ $p_{2-4} = 0,005$	
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Манна – Уитни					

В Ставропольском регионе достоверных различий при сравнении концентрации 25(OH)D в разные сезоны не обнаружено, что, в первую очередь, связано с тем, что дети края чаще принимали профилактические дозы холекальциферола, чем в других регионах. В Московском регионе достоверно высокий показатель 25(OH)D наблюдался в летнее время года, а низкий – весной. В Красноярском регионе зимой у детей регистрировался самый высокий средний уровень витамина D, в то время как низкий был выявлен весной. Что, возможно, обусловлено большей приверженностью к профилактике дефи-

цита витамина D у пациентов в зимний период. Кроме того, ПСС зимой была в 2 раза больше в Красноярском крае по сравнению с другими регионами и составила 185,8 часа, в Московском регионе этот показатель был 96,2 часа, в Ставропольском крае – 114,3 часа. При сравнении уровня витамина D в общей группе детей достоверно низкое значение 25(OH)D отмечается также весной.

Важнейшим этапом анализа явилось сравнение уровней кальцидиола у здоровых детей в зависимости от приёма суточной дозы холекальциферола (Таблица 17).

Таблица 17 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у здоровых детей и подростков в зависимости от принимаемой профилактической дозы холекальциферола, $M \pm m$ Me (Q1–Q3)

Доза холекальциферола, МЕ	Зима	Весна	Лето	Осень
0 (1)	26,6±11,1 25,0 (18,6–32,7)	19,9±7,9 17,7 (14,7–25,7)	35,4±16,7 30,0 (23,2–43,8)	25,3±9,4 24,4 (19,5–30,2)
1–1000 (2)	40,2±26,5 35,3 (27,1–45,6)	32,5±22,3 22,1 (16,5–48,9)	35,6±13,5 32,4 (28,4–44,7)	35,1±15,5 32,8 (24,0–42,4)
1001–1500 (3)	53,78±11,02 50,6 (46,05–61,50)	34,6±13,5 32,9 (24,6–40,9)	34,0±14,4 33,0 (24,6–39,2)	40,3±21,5 39,9 (20,2–55,5)
1500+	57,2±19,3 54,7 (40,3–74,3)	54,1±38,0 40,4 (24,8–97,0)	28,9±10,2 25,7 (20,6–35,6)	41,9±19,0 34,6 (30,9–43,6)
p	p31-2 < 0,0001 p31-3 < 0,0001 p31-4 < 0,0001 p32-3 < 0,019 p32-4 < 0,009	pB1-3 < 0,0001 pB1-4 < 0,015	pЛ2-3 < 0,05	pO1-2 < 0,0001 pO1-3 < 0,001 pO1-4 < 0,001
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Манна – Уитни				

Уровень 25(OH)D достоверно увеличивается в зависимости от профилактической дозы холекальциферола в зимнее время года. Весной и осенью достоверно низкая доза получена у детей, принимавших 500 МЕ холекальциферола и менее. Летом концентрация 25(OH)D в сыворотке крови детей достигает большего значения при приеме дозы 500–1000 МЕ холекальциферола. Однако только при дозе более 1000 МЕ в зимнее время достигаются нормальные показатели с учетом квартильного размаха (44,60–69,30). Таким образом, доза холекальциферола 1000 МЕ и более в сутки позволяет достичь нормального уровня 25(OH)D у здоровых детей.

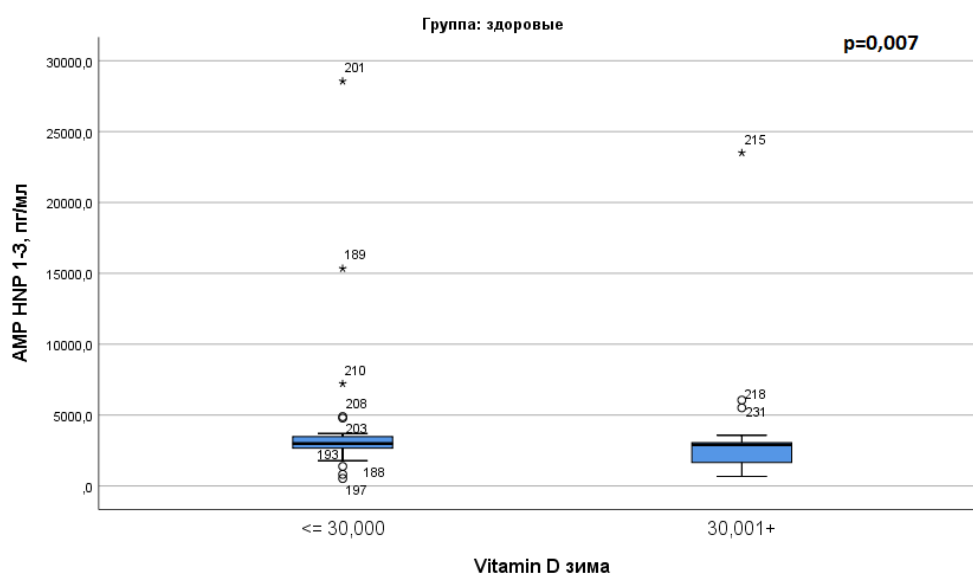
Высокие показатели 25(OH)D в Ставропольском крае можно объяснить высокой комплаентностью в группе обследованных детей, часть из которых принимала участие в исследованиях по распространенности недостаточности и дефицита витамина D в РФ (Родничок, Родничок 2 [51]). Кроме того, около половины обследованных детей не получали препараты витамина D (Таблица 18).

Таблица 18 – Распределение образцов здоровых детей в трех регионах в зависимости от профилактической дозы холекальциферола

Доза холекальциферола, МЕ	Москва, n (%)	Красноярск, n (%)	Ставрополь, n (%)	Всего, n (%)
0	90 (59,6%)	65 (47,4%)	51 (32,9%)	206 (46,4%)
1–1000	53 (35,1%)	47 (34,3%)	49 (31,0%)	149 (33,4%)
1001–1500	0 (0%)	16 (11,7%)	45 (28,5%)	61 (13,7%)
1500 и более	8 (5,3%)	9 (6,6%)	12 (7,6%)	29 (6,5%)

Примечание. Применялся критерий Краскала – Уоллиса

В ходе исследования проведена оценка уровня АМП у здоровых детей в зависимости от статуса витамина D (Рисунок. 6). Здоровые дети с уровнем 25(OH)D > 30нг/мл имели достоверно более низкий уровень дефензина – 3468,8±4419,4 (1649,6–3153,9) пг/мл по сравнению с детьми с недостаточностью витамина D (25(OH)D < 30нг/мл) – 4480,5±5619,2 (2663,3–3535,0) пг/мл (p = 0,007).



Примечание. Применялся критерий Манна – Уитни

Рисунок 6 – Распределение показателей ННР 1–3 (пг/мл) у здоровых детей в зависимости от наличия недостаточности и дефицита витамина D (25(OH)D < 30 нг/мл)

Для кателицидина получена схожая тенденция, но без достоверных отличий (p > 0,05). Дети с уровнем 25(OH)D > 30нг/мл имели более низкий уровень кателицидина – 36,9 нг/мл по сравнению с детьми с недостаточностью витамина D (25(OH)D < 30нг/мл) – 41,5 нг/мл.

Поиск ассоциативных связей содержания у здоровых детей 25(OH)D с вариантами CYP2C9*3 (1075A > C; I359L, rs1057910), CYP3A4*3 (с.1334T > C; M445T, rs4986910),

*CYP2C9*2* (с.430С > Т; R144С, rs1799853), *CYP2D6*4* (с.1846G > А, rs3892097), *CYP3A4*1B* (с.-392С > Т, rs2740574) проводился в зимний и весенний период в связи с низкими показателями кальцидиола в этот сезон года. Генотипы представлены следующими гаплотипами: *CYP2C9*3* – АА, СА; *CYP3A4*3* – ТТ; *CYP2C9*2* – СС, СТ; *CYP2D6*4* – АА, АG, GГ; *CYP3A4*1B* – ТТ, СС, СТ. Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди – Вайнберга, кроме *CYP3A4* за счет малого количества гомозигот СС (n = 1) (Таблица 19).

Таблица 19 – Соответствие распределения частот генотипов полиморфизмов генов цитохрома у здоровых детей (согласно уравнению Харди – Вайнберга)

Полиморфизмы	Генотип аллель	n	%	χ^2	p
<i>CYP2C9</i> (1075A > C; I359L)	АА	106	88,33	0,4605	> 0,05
	АС	14	11,67		
	СС	0	0		
	А	226	94,17		
	С	14	5,83		
<i>CYP3A4</i> (с.1334Т > С; M445Т)	ТТ	94	100,00	–	–
	ТС	0	0		
	СС	0	0		
	Т	188	100,00		
	С	0	0		
<i>CYP2C9</i> (с.430С > Т; R144С)	СС	98	81,67	1,2221	> 0,05
	СТ	22	18,33		
	ТТ	0	0		
	С	218	90,83		
	Т	22	9,17		
<i>CYP2D6</i> (1846G > А)	GГ	79	67,52	2,5313	> 0,05
	GA	31	26,49		
	АА	7	5,99		
	G	189	80,77		
	А	45	19,23		
<i>CYP3A4</i> (с.-392С > Т)	СС	1	0,83	6,0285	< 0,05
	СТ	6	5,00		
	ТТ	113	94,17		
	С	8	3,33		
	Т	232	96,67		

Взаимосвязей изучаемых полиморфизмов с уровнем 25(ОН) D не было установлено (Приложение А, Таблица А.1).

Распределение генотипов гена *VDR* также соответствовало равновесию Харди – Вайнберга (Таблица 20).

Таблица 20 – Соответствие распределения частот генотипов полиморфизмов генов гена *VDR* у здоровых детей (согласно уравнению Харди – Вайнберга)

	<i>Генотип аллель</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	χ^2	<i>p</i>
TaqI	TT	74	47,74	0,6560	> 0,05
	TC	63	40,65		
	CC	18	11,61		
	T	211	68,06		
	C	99	31,94		
FokI	TT	28	17,83	0,1284	> 0,05
	TC	74	47,14		
	CC	55	35,03		
	T	130	41,40		
	C	184	58,60		
BsmII	AA	19	12,75	0,4746	> 0,05
	GA	63	42,28		
	GG	67	44,97		
	A	101	33,89		
	G	197	66,11		

Уровень витамина D у детей не зависел от генотипов по трем полиморфным вариантам FokI, TaqI, BsmI гена *VDR* (Приложение А, Таблица А.2).

Таким образом, основной группой риска по недостаточности витамина D среди здоровых детей изучаемой выборки из трёх регионов России являются подростки, особенно мужского пола. В зимнее время года и весной наблюдаются самые низкие уровни витамина D, независимо от региона проживания. Дети Московского региона и Ставропольского края имели лучшие показатели сывороточного 25(OH)D по сравнению с детьми Красноярского края. Профилактическая доза холекальциферола 1000 МЕ и более в сутки позволяет достичь нормального уровня 25(OH)D у здоровых детей.

Следовательно, для здоровых детей РФ экзогенные факторы, такие как время года, место проживания, возраст и пол, а также профилактический приём холекальциферола, играют определяющую роль в развитии недостаточности и дефицита витамина D, в отличие от генетических – полиморфных вариантов генов ферментов 1-й фазы метаболизма ксенобиотиков (*CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A4*1B*) и гена *VDR* (FokI, TaqI, BsmI).

3.2. Витамин D у детей с муковисцидозом

3.2.1. Общая характеристика группы детей с муковисцидозом

Было обследовано 283 больных с МВ, из них из Московского региона – 211 пациентов, из Красноярска – 34 пациента, из Ставрополя – 38 пациентов.

Среди обследованных в 2018 году пациентов с МВ Московского региона 211 человек, 117 (57%) мальчики и 94 (43%) – девочки, средний возраст пациентов составил $7,5 \pm 4,8$ лет, медиана возраста – 8,2 года. Дети были распределены возрасту на группы: 74 (24%) ребенка составили 1 группу (от 0–3 лет), 148 (48%) детей вошли во 2-ю группу (4–10 лет), 86 (28%) детей – в 3-ю группу подростков (11–18 лет).

Распределение по сезону всех больных происходило следующим образом: в весенний период исследовано 33% образцов, 23% образцов – летом, 21% образцов – осенью, 23% образца – зимой.

Учитывая повторные обследования одних и тех же детей в разные сезоны года, характеристика пациентов проводилась по результатам первого (зимнего) набора пациентов. Среди обследованных: пациенты Московского региона ($n = 78$, из них 35 мальчиков и 43 девочки), средний возраст составил $8,0 \pm 5,0$ лет, $Me - 7,1$ года (3,6–11,3); пациенты Красноярского края ($n = 34$, из них 18 мальчиков и 16 девочек), средний возраст составил $6,6 \pm 3,9$ лет, $Me - 6,6$ лет (3,1–8,7); пациенты Ставропольского края ($n = 30$, из них 15 мальчиков и 15 девочек), средний возраст составил $8,4 \pm 5,1$ лет, $Me - 6,7$ лет (3,9–12,8).

Пациенты с МВ, включенные в исследование, в сравниваемых регионах РФ, не имели достоверных отличий по возрасту и полу. Диагноз МВ у всех детей верифицирован на ранних сроках. Возраст постановки диагноза составил: в Московском регионе $2,5 \pm 4,7$ лет ($Me - 0,3$, $Q_{25} - 0,1$, $Q_{75} - 1,3$), в Красноярском крае $0,8 \pm 2,3$ года ($Me - 0,3$, $Q_{25} - 0,1$, $Q_{75} - 0,3$), в Ставропольском крае $1,4 \pm 3,0$ лет ($Me - 0,2$, $Q_{25} - 0,1$, $Q_{75} - 0,9$). Статистической разницы между регионами не зарегистрировано ($\chi^2 = 1,174$).

Среднее содержание хлоридов пота при проведении потового теста во время постановки диагноза в регионах достоверно не отличалось и составило: в Московском регионе – $107,8 \pm 19,5$ ммоль/л ($Me - 108$, $Q_{25} - 99$, $Q_{75} - 120$), в Красноярском крае – $107,1 \pm 22,3$ ммоль/л ($Me - 109,5$, $Q_{25} - 96$, $Q_{75} - 125$), в Ставропольском крае – $102,5 \pm 43,4$ ммоль/л ($Me - 101$, $Q_{25} - 71$, $Q_{75} - 132$) ($p > 0,05$).

Таблица 21 – Характеристика больных МВ в сравниваемых регионах РФ (возраст постановки диагноза, уровень хлоридов пота), $M \pm m$, Me (Q_1 – Q_3)

Показатель	Московский регион	Красноярский край	Ставропольский край	Общая группа
Возраст постановки диагноза, годы	$2,5 \pm 4,7$ 0,3 (0,1–1,3)	$0,8 \pm 2,3$ 0,3 (0,1–0,3)	$1,4 \pm 3,0$ 0,2 (0,1–0,9)	$1,8 \pm 3,9$ 0,3 (0,1–0,7)
Уровень хлоридов, проводимость (ммоль/л)	$107,8 \pm 19,5$ 108,0 (99,0–120,0)	$107,1 \pm 22,3$ 109,5 (96,0–125,0)	$102,6 \pm 43,4$ 101,0 (71,0–132,0)	$106,6 \pm 26,3$ 108,0 (92,0–122,5)

Основные клинико-лабораторные показатели обследованных в зимний сезон пациентов с муковисцидозом ($n = 211$), представлены в Таблице 22. Зимний период был выбран с учетом того, что в данный период регистрируются самые низкие значения 25(OH)D по данным литературы [31; 35] и согласно показателям здоровой группы. Отдельно изучалось влияние экзогенных и генетических факторов в зимний период согласно дизайна исследования. Характеристика общей группы приведена в Таблице 22.

Таблица 22 – Клинико-лабораторные показатели обследованных в зимний сезон пациентов с муковисцидозом, n (%)

Показатель	Значение, $n = 211$
Возраст	7,2±4,7
Пол мальчики/девочки	117/94
Возраст установления диагноза, года (M)	1,81±3,89
Панкреатическая недостаточность, %	89 (75,4%)
«Мягкие» мутации, %	28 (20,6%)
«Тяжелые» мутации, %	108 (79,4%)
Мекониальный илеус, %	13 (9,3%)
<i>S. aureus</i> (хр. инфицирование), %	117 (79,6%)
<i>MRSA</i> , %	3 (2,1%)
<i>P. aeruginosa</i> (хр. инфицирование), %	34 (23,9%)
АБЛА, %	3 (18%)
Полипоз околоносовых пазух, %	39 (26,4%)
Сахарный диабет, %	0 (0%)
Цирроз печени, %	12 (12,7%)

Генетическое тестирование проведено всем пациентам с МВ. В Московском регионе два патогенных варианта в гене *CFTR* выявлены у 74 (93,6%) пациентов, один патогенный вариант у 3 (3,8%), ни одного не выявлено у 2 (2,6%) детей; в Красноярском крае два патогенных варианта выявлены у 22 (64,7%) пациентов, один вариант у 9 (26,5%), ни одного – у 3 (8,8%) детей; в Ставропольском крае два патогенных варианта выявлены у 23 (76,7%) пациентов, один – у 6 (20,0%), ни одного – у 1 (3,3%) ребенка.

При сравнении генотипов больных МВ были получены достоверные отличия по регионам: число пациентов с генотипом F508del/F508del в Красноярском крае было зна-

чительно выше, чем в Московском регионе и Ставропольском крае (в Красноярском крае – 16 (47,1%) детей, в Московском регионе 23 (29,5%) и Ставропольском крае 5 (16,7%)), ($p = 0,029$) (Таблица 23).

Таблица 23 – Характеристика генетических вариантов гена *CFTR* больных МВ в сравниваемых регионах РФ, n (%)

Генетический вариант гена <i>CFTR</i>	Московский регион	Красноярский край	Ставропольский край	<i>p</i>
2 патогенных генетических варианта	74 (93,6%)	22 (64,7%)	23 (76,7%)	
1 патогенный генетический вариант	3 (3,8%)	9 (26,5%)	6 (20,0%)	
Ни одного патогенного варианта	2 (2,6%)	3 (8,8%)	1 (3,3%)	
F508del / F508del	23 (29,5%)	16 (47,0%)	5 (16,7%)	$p = 0,02$
F508del / не F508del	41 (52,6%)	14 (41,2%)	16 (53,3%)	$p = 0,03$
Не F508del / не F508del	14 (17,9%)	4 (11,8%)	9 (30,0%)	$p > 0,05$
<i>Примечание.</i> Применялся z-критерий сравнения долей				

Анализ данных генотипирования выявил, что у включенных в исследование больных МВ в Московском регионе и Ставропольском крае наиболее часто встречаются «мягкие» патогенные варианты, которые определяют сохранную функцию поджелудочной железы у больных МВ, в то время как в Красноярском крае преобладают пациенты с «тяжелыми» патогенными вариантами (Приложение А, Таблица А.3).

Однако, проведенный анализ уровня фекальной эластазы указывает на отсутствие достоверных отличий между пациентами в изучаемых регионах (Таблица 24).

При оценке микробиологического профиля респираторного тракта выявлены некоторые различия (Таблица 25). Так, хронический высеv *Pseudomonas aeruginosa* достоверно чаще встречался у пациентов Красноярского края – 15 (44,1%), в то время как у детей Московского региона 14 (17,9%), Ставропольского края 5 (16,7%) ($p = 0,000$).

Таблица 24 – Уровень фекальной эластазы 1 среди пациентов с МВ в изучаемых центрах

Регион	< 200 мкг/г/к		> 200 мкг/г/к	
	n	%	n	%
Московский регион	54	77,1	16	22,9
Красноярский край	18	64,3	10	35,7
Ставропольский край	17	85	3	15
Всего	89	75,4	29	26,4
<i>Примечание.</i> Применялся Хи-квадрат Пирсона ($\chi^2 = 2,975$, $p > 0,05$)				

Таблица 25 – Сравнительный анализ микробной флоры верхних дыхательных путей в сравниваемых регионах, n (%)

Микробная флора	Московский регион (1), n = 78	Красноярский край (2), n = 34	Ставропольский край (3), n = 30	p
Хроническая <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14 (17,9%)	15 (44,1%)	5 (16,7%)	p ₁₋₂ = 0,000 p ₂₋₃ = 0,000
Интермиттирующая <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16 (20,5%)	5 (14,7%)	3 (10,0%)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	64 (82,1%)	30 (88,2%)	19 (63,3%)	
<i>MRSA</i>	2 (2,6%)	0	1 (3,3%)	
<i>Achromobacter spp</i>	2 (2,6%)	7 (20,6%)	0	p ₁₋₂ = 0,000
Неферментирующая грамм-отрицательная флора (НФГОФ)	8 (10,3%)	1 (2,9%)	1 (3,3%)	
Примечание. Применялся χ^2				

Далее, интермиттирующий высев *Pseudomonas aeruginosa* у пациентов Московского региона встречался у 16 (20,5%) детей, Красноярского края у 5 (14,7%) детей, Ставропольского края у 3 (10,0%) детей; хроническая колонизация *Staphylococcus aureus* встречалась у 64 (82,1%) пациентов Московского региона, 30 (88,2%) пациентов Красноярского края, 19 (63,3%) пациентов Ставропольского края; *MRSA* встречалась у 2 (2,6%) пациентов Московского региона, не встречалась среди пациентов Красноярского края и у 1 (3,3%) пациента Ставропольского края; высева *Burkholderia ceracia*, нетуберкулезной *Micobacteria* не отмечалось среди включенных в исследование пациентов; *Achromobacter spp* достоверно чаще встречался у пациентов Красноярского края – 7 (20,6%), в то время как у детей Московского региона 2 (2,6%), не встречался среди пациентов Ставропольского края (p = 0,000); неферментирующая грамм-отрицательная флора (НФГОФ) встречалась у 8 (10,3%) пациентов Московского региона, 1 (2,9%) пациента Красноярского края и у 1 (3,3%) пациента Ставропольского края.

При оценке физического развития достоверных отличий среди пациентов Московского региона, Красноярского и Ставропольского края выявлено не было (Таблица 26).

Измерение показателей функции легких (ЖЕЛ и ОФВ₁) проведены 274 пациентам с муковисцидозом. Нормальная функция легких (ЖЕЛ > 80% и ОФВ₁ > 80%) чаще встречались у пациентов Московского региона и Красноярского края по сравнению с Ставропольским краем (Таблица 27).

Таблица 26 – Сравнительный анализ данных физического развития детей с МВ в сравниваемых регионах, $M \pm m$, $Me(Q1-Q3)$

Показатель	Московский регион	Красноярский край	Ставропольский край
Вес, процентиля	48,9±33,9 55,5 (16,0–76,5)	44,1±30,7 41,8 (16,1–75,0)	50,6±28,7 48,0 (26,6–74,1)
Вес, z-score	0,2±1,6 0,0 (0,1–0,7)	0,1±1,3 0,1 (0,2–0,7)	0,09±1,3 0,05 (0,2–0,6)
ИМТ процентиля	44,9±23,6 52,5 (21,3–68,5)	41,1±27,5 41,8 (13,6–68,6)	46,6±25,6 44,0 (21,0–72,2)
ИМТ z-score	0,5±1,6 0,0 (0,2–0,8)	0,4±1,5 0,1 (0,2–0,7)	0,6±1,8 0,05 (0,2–0,6)
Рост процентиля	51,9±33,9 53,0 (20,0–85,0)	47,5±34,6 44,5 (13,0–80,0)	56,8±29,9 61,6 (35,3–82,0)
Рост z-score	0,1±1,6 0,1 (0,9–0,9)	0,1±1,4 0,1 (1,0–1,0)	0,1±1,3 0,3 (0,4–0,9)
<i>Примечание:</i> достоверных отличий между группами нет			

Таблица 27 – Распределение детей в зависимости от показателей функции легких (ЖЕЛ и ОФВ₁) в трех регионах

Показатель	Московский регион, <i>n</i> = 150 (1)	Красноярский край <i>n</i> = 62 (2)	Ставропольский край <i>n</i> = 62 (3)	<i>p</i> между регионами
ОФВ ₁ < 80%	21 (14%)	24 (38,7%)	40 (64,5%)	$p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,001$
ОФВ ₁ > 80%	129 (86%)	38 (61,3%)	22 (35%)	$p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,001$
ЖЕЛ < 80%	37 (25,7%)	7 (11,3%)	29 (46,8%)	$p_{1-3} = 0,001$
ЖЕЛ > 80%	113 (74,3%)	55 (88,7%)	33 (53,2%)	$p_{1-3} = 0,001$
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Манна – Уитни				

Анализ терапии включенных в исследование пациентов с МВ показал следующие особенности (Таблица 28): количество пациентов, получающих гипертонический раствор натрия хлорида в ингаляциях, в Ставропольском крае был самым низким (13,3%) среди изучаемых регионов, также обращает на себя внимание частое назначение антибактериальных препаратов с внутривенным способом введения в Красноярском и Ставропольском краях (52,9% и 56,7% соответственно). Прием бронходилататоров достоверно чаще зафиксирован среди пациентов Ставропольского края и составил 90%. Дети Красноярского края использовали панкреатические ферменты в 100% случаев, что можно объяснить наибольшей частотой встречаемости «тяжелых» мутаций и наличием тяжелой степени панкреатической недостаточности.

Таблица 28 – Сравнительный анализ объема получаемой терапии, %

<i>Регион</i>	<i>Московский регион</i>	<i>Красноярский край</i>	<i>Ставропольский край</i>
Гипертонический раствор натрия хлорида	89,7%	97,1%	13,3%
Антибиотики ингаляционные	46,2%	47,1%	26,7%
Антибиотики внутривенные	16,7%	52,9%	56,7%
Антибиотики пероральные	74,4%	91,2%	20,0%
Бронходилататоры	47,4%	17,6%	90,0%
Стероиды ингаляционные	16,7%	0,0%	0,0%
Стероиды системные	1,3%	8,8%	6,7%
Дорназа альфа	87,2%	100,0%	100,0%
Азитромицин в субингибирующей дозе	16,7%	32,4%	23,3%
Урсодезоксихолевая кислота	89,7%	100,0%	90,0%
Панкреатические ферменты	80,8%	100,0%	96,7%
Кислородотерапия	0,0%	0,0%	0,0%

Таким образом, сравнительный анализ осложнений в регионах не выявил достоверных отличий (Приложение А, Таблица А.4).

3.2.2. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от возраста и пола

По результатам исследования, уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом составил $30,2 \pm 15,7$ 28,7 (19,6–39,2) нг\мл. В целом, нормальное содержание 25(ОН)D отмечено в 49,3% случаях, недостаточность – 26,3%, дефицит 16,7%, выраженный дефицит – 7,7%.

При сравнительном анализе среднего уровня 25(ОН)D у детей разного возраста были получены достоверно более низкие значения в старшей возрастной группе (Таблица 29).

При сравнительном анализе среднего уровня 25(ОН)D у детей разного возраста и пола достоверных отличий получено не было (Таблица 30).

Таблица 29 – Уровень 25(OH)D (нг/мл) у детей с муковисцидозом в зависимости от возраста (M±m, Me (Q1–Q3))

<i>Возраст детей, годы</i>	<i>Здоровые дети</i>	<i>Пациенты с муковисцидозом</i>
0–3 (1)	41,4±24,5 35,9 (24,4–50,1)	35,7±18,2 34,7 (23,9–43,8) p > 0,05
4–10 (2)	32,4±13,9 31,1 (22,8–38,8)	31,1±14,9 29,4 (20,6–39,7)
10–8 (3)	26,9±12,5 24,6 (18,3–31,6)	24,7±13,6 23,4 (14,5–33,3)
Всего	32,7±17,5 29,6 (21,7–39,7)	30,2±15,7 28,7 (19,6–39,2)
p между возрастными группами	P ₁₋₂ < 0,05 P ₂₋₃ < 0,05 P ₁₋₃ < 0,05	P ₁₋₂ < 0,05 P ₂₋₃ < 0,05 P ₁₋₃ < 0,05
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Манна – Уитни		

Таблица 30 – Уровень 25(OH)D (нг/мл) у детей с МВ и здоровых детей в зависимости от пола (M±m, Me (Q1–Q3))

<i>Возраст детей, годы</i>	<i>Здоровые дети</i>		<i>Пациенты с муковисцидозом</i>	
	<i>Мальчики (1)</i>	<i>Девочки (2)</i>	<i>Мальчики (1)</i>	<i>Девочки (2)</i>
0–3	41,8±22,3 39,0 (25,4–54,7)	40,8±26,9 33,6 (24,4–48,7)	32,4±18,2 33,6 (20,8–41,2)	38,9±17,7 38,2 (28,0–50,1)
4–10	32,6±13,4 31,3 (23,5–38,6)	32,2±14,5 31,0 (22,0–38,8)	29,8±13,1 28,2 (21,3–36,0)	32,5±16,6 31,9 (20,1–42,1)
10–8	25,7±11,2 24,1 (17,4–30,5)	28,7±14,0* 26,2 (18,8–33,6)	23,9±13,5 22,7 (14,1–31,7)	25,7±13,7 24,0 (15,8–35,5)
Всего	32,3±16,4 28,4 (21,7–39,7)	33,3±18,7 29,9 (21,0–39,7)	28,4±14,6 26,6 (18,8–36,2)	32,1±16,7 30,6 (20,0–42,0)
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Манна – Уитни; *p = 0,033 между здоровыми мальчиками и девочками в возрастной группе 11–18 лет				

3.2.3. Влияние осложнений и терапии муковисцидоза на уровень витамина D

Сравнительный анализ частоты осложнений (сахарный диабет, аспергиллез, пневмоторакс, цирроз печени, мекониевый илеус, остеопороз) у больных МВ не позволил оценить влияния осложнений на уровень 25(OH)D в связи с недостаточным количеством наблюдений (Приложение А, Таблица А.5).

Сравнительный анализ уровня 25(OH)D в зависимости от применяемой терапии (ингаляционные стероиды, системные стероиды, панкреатические ферменты) у больных МВ также не позволил оценить влияния осложнений на уровень 25(OH)D в связи с недостаточным количеством наблюдений (Приложение А, Таблица А.6).

3.2.4. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от сезона года

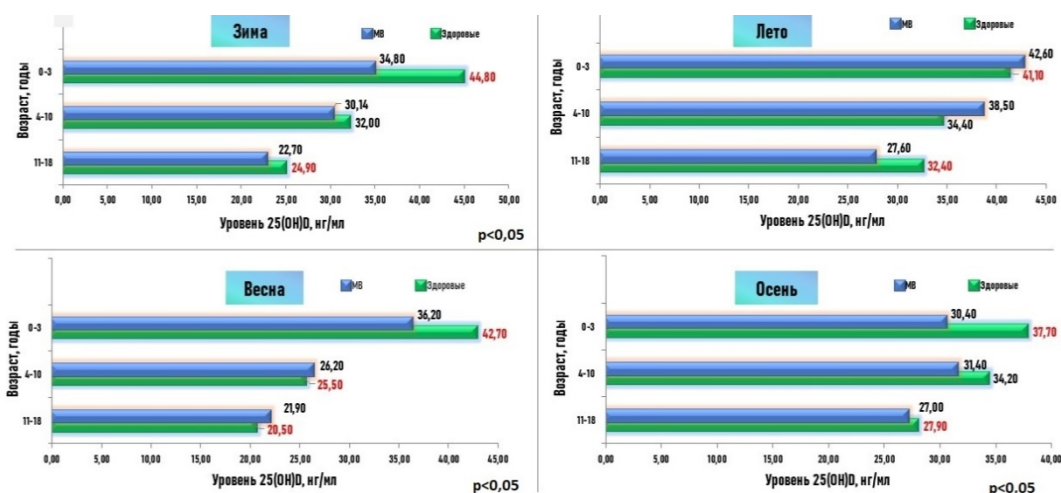
Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от сезона года показало, что самые низкие показатели 25(OH)D регистрировались в зимнее и весеннее время (Таблица 31).

Таблица 31 – Уровень 25(OH)D (нг/мл) у детей с МВ и здоровых детей в зависимости от сезона года (M±m, Me (Q1–Q3))

Сезон	Пациенты с МВ	Здоровые дети	p
Зима (1)	28,4±16,8 29,2 (25,6–31,2)	33,4±19,8 29,2 (22,9–39,1)	p < 0,005
Весна (2)	27,5±13,2 28,4 (25,5–29,5)	28,7±18,2 23,5 (16,4–34,1)	p > 0,05
Лето (3)	36,0±15,9 36,8 (33,2–38,8)	35,0±14,9 30,7 (24,57–42,59)	p > 0,05
Осень (4)	29,8±16,1 30,6 (27,2–32,5)	32,9±16,3 30,3 (21,7–40,1)	p < 0,005
Р между сезонами	p1–3 = 0,001 p2–3 = 0,000 p3–4 = 0,010	p1–2 = 0,008 p2–3 = 0,000 p2–4 = 0,005	

Примечание. Применялся критерий Манна – Уитни

У пациентов с МВ и здоровых детей 0–3 лет средний уровень витамина D соответствовал норме во всех сезонах. У детей старшей возрастной группы (пациентов с МВ и здоровых) средний уровень витамина D был ниже нормы во всех сезонах (Рисунок 6).



Примечание. Применялся критерий Манна – Уитни

Рисунок 6 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у здоровых детей и у пациентов с МВ в зависимости от возраста и сезона года

Самый низкий уровень отмечен во 2-й и 3-й возрастных группах больных МВ зимой и весной, как в группе у здоровых подростков – весной и зимой. Было получено достоверное отличие в содержании 25(ОН)D нг/мл у пациентов с МВ в зимний и летний период ($p < 0,05$), весенний и летний ($p < 0,005$), весенний и осенний период ($p < 0,05$) в средней и старшей возрастной группе.

Изучение проблемы дефицита витамина D у детей с МВ в разные сезоны года показало снижение обеспеченности витамином D в весенний и зимний период, данные нарушения прогрессировали с возрастом, особенно у подростков.

3.2.5. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от продолжительности солнечного сияния

Сравниваемые города расположены на разных географических широтах: Москва на 550 с.ш., Красноярск на 560 с.ш., а Ставрополь на 450 с.ш., и, соответственно, отмечается разное количество солнечных дней в году (Таблица 7. Глава 2). ПСС зимой 2018 года в Московском регионе составила 96,2 часа, в Красноярском крае 185,8 часа, в Ставропольском крае 114,3 часа. ПСС весной 2018 года в Московском регионе составила 742,2 часа, в Красноярском крае 561,3 часа, в Ставропольском крае 687 часа. ПСС летом 2018 года в Московском регионе составила 883,8 часа, в Красноярском крае 896,6 часа, в Ставропольском крае 1013,3 часа. Осенью 2018 года ПСС в Московском регионе составила 391,7 часа, в Красноярском крае 345,2 часа, в Ставропольском крае 559,3 часа. Таким образом, ПСС за 2018 год в Московском регионе составила – 2113,9 часа, в Красноярском крае – 1988,9 часа, в Ставропольском крае – 2373,9 часа.

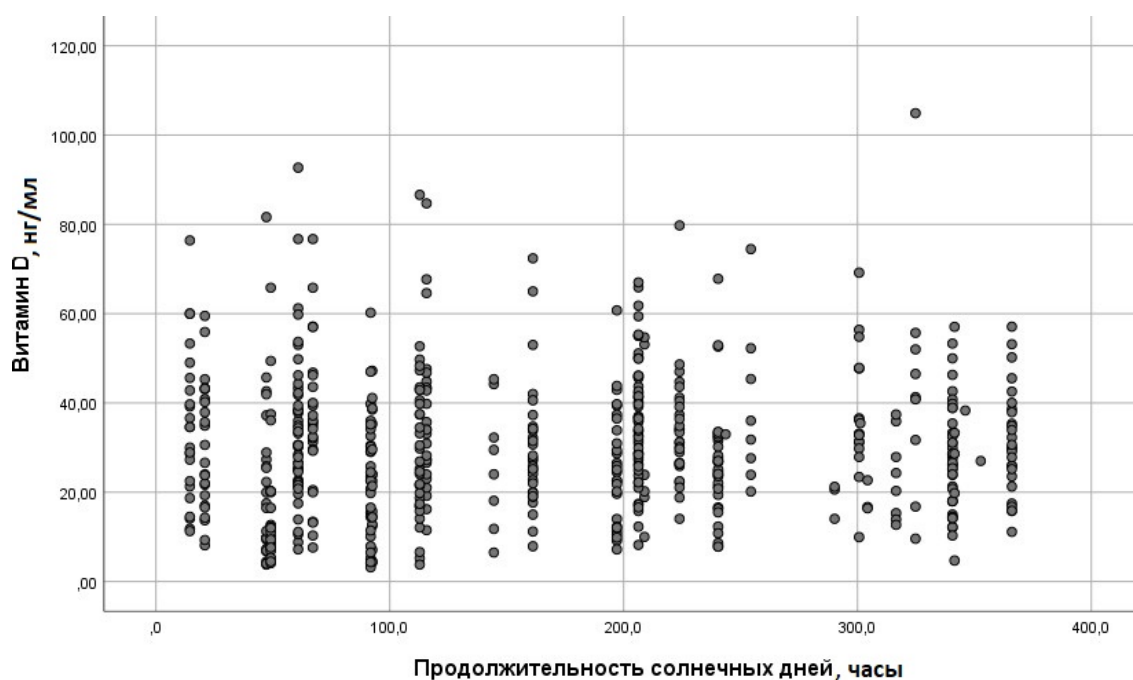
С помощью критерия Краскала – Уоллеса установлено влияние продолжительности солнечного сияния (ПСС) на уровень 25(ОН)D общей группы пациентов с муковисцидозом (Таблица 32, Рисунок 7).

Данный метод позволил разделить пациентов на группы с уровнем 25(ОН)D в зависимости от ПСС в месяц забора крови с интервалом в 100 часов.

При анализе влияния ПСС и различных профилактических доз холекальциферола на уровень витамина D, значимое влияние ПСС было получено только у пациентов, получающих дозу витамина D до 500МЕ (критерий Краскала – Уоллеса, $p = 0,005$) (рисунок 7). При саплементации более высокими дозами зависимости концентрации кальцидиола от ПСС получено не было.

Таблица 32 – Зависимость уровня 25(OH)D от ПСС в общей группе пациентов и при приеме профилактической дозы до 500 МЕ, $M \pm m$; Me (Q1–Q3)

Показатель	Продолжительность солнечного сияния, часы			
	$\leq 100,0$	100,1–200,0	200,1–300,0	300,1+
Общая группа пациентов (профилактика холекальциферолом не проводилась)	28,0 \pm 25,8 17,1 (14,1–38,3)	30,0 \pm 27,5 15,5 (19,7–39,6)	33,0 \pm 31,4 14,2 (23,6–41,2)	31,1 \pm 29,7 14,65 (21,0–38,5)
p	p = 0,008			
Группа пациентов, принимавших профилактическую дозу до 500 МЕ	13,6 \pm 10,1 10,9 (6,7–16,1)	16,4 \pm 15,0 10,4 (6,9–22,2)	21,1 \pm 21,1 6,0(18,8–26,3)	19,4 \pm 16,7 8,1 (15,3–24,0)
p	p = 0,005			
<i>Примечание.</i> Использовался критерий Краскала – Уоллеса				



Примечание. Для статистической обработки применялся метод Краскала – Уоллеса, $p = 0,008$

Рисунок 7 – Влияние продолжительности солнечного сияния (ПСС) на уровень 25(OH)D общей группы пациентов с муковисцидозом

Изучение содержания 25(OH)D у пациентов муковисцидозом в зависимости от ПСС, возраста и профилактической дозы витамина D показало, что значимое отличие было получено у пациентов, получающих дозу витамина D до 500МЕ в возрасте с 3 до 10 лет и старше 10 лет (при применении критерия Краскала – Уоллеса $*p = 0,038$ и $**p = 0,009$ соответственно). При саплементации более высокими дозами такой достоверности получено не было. (Приложение А, Таблица А.7). Не выявлено различий в группе детей до 3 лет.

Таким образом, продолжительность солнечного сияния не оказывает влияния на уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом при адекватной профилактической дозе холекальциферола (более 1500 МЕ).

3.2.6. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от поступления его с пищей

В исследовании проанализирован рацион 82 пациентов с муковисцидозом, рассчитано ежедневное потребление холекальциферола с пищей с помощью программы ЭВМ «Мониторинг нутритивного статуса, рациона питания и ферментной терапии» (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ ФИПС № 2016660762 от 21.09.22016, совместная разработка ФГБНУ «Медико-генетический центр» и Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (РМАНПО)). Основная часть пациентов (1/2) получала витамин D с пищей в дозе до 0,5 мкг в сутки, 1/3 – 0,5–2 мкг в сутки, остальные – более 2 мкг в сутки (Таблица 33). При анализе уровня 25(ОН)D в зависимости от количества витамина D, получаемого с пищей, достоверных отличий получено не было.

Таблица 33 – Уровень 25(ОН)D в зависимости от количества витамина D, получаемого с пищей (M±m, Me (Q1–Q3))

<i>Количество витамина D получаемого с пищей, мкг</i>		
$\leq 0,50$	0,51–2,00	2,01+
30,2±11,3 30,6 (23,7–36,8)	35,2±16,9 28,9 (22,4–46,1)	35,4±15,7 31,5 (22,7–43,2)
p > 0,05		
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Краскала – Уоллеса		

Таким образом, поступление витамина D с пищей не влияло на уровень 25(ОН) D.

3.2.7. Корреляция уровня витамина D и функции легких у пациентов с муковисцидозом

С целью исследования влияния роли витамина D на функцию легких у пациентов с муковисцидозом одновременно с забором крови было проведено 274 спирометрии у детей от 6 до 18 лет (150 у пациентов Московского региона, 62 у пациентов Красноярского края, 62 – у пациентов Ставропольского края). Функция легких оценивалась как нормальная, при показателях ЖЕЛ и ОФВ₁ > 80% от должного.

Уровень витамина D был достоверно ниже у пациентов с функцией легких по $ОФВ_1 < 80\%$, ЖЕЛ $< 80\%$ по сравнению с пациентами с нормальной функцией. Результаты были достоверно значимыми в общей группе детей с муковисцидозом, а также в Московском регионе и Красноярском крае (Таблица 34).

Таблица 34 – Сравнительный анализ среднего уровня 25(ОН)D (нг/мл) и показателей функции внешнего дыхания ($M \pm m$, Me (Q1-Q3))

Показатель	Московский регион, n = 150	Красноярский край, n = 62	Ставропольский край, n = 62	Общая группа, n = 274
ОФВ ₁ > 80% (1)	32,0±13,5 29,6 (22,7–39,2)	28,7±13,3 28,3 (19,6–42,9)	23,0±10,9 22,7 (14,0–29,0)	30,0±13,5 28,2 (21,3–37,4)
ОФВ ₁ < 80% (2)	26,7±17,1 21,3 (16,3–32,5)	21,5±10,5 20,9 (12,2–29,7)	24,3±13,8 23,1(14,2–33,6)	24,7±14,4 22,1 (15,1–32,8)
ЖЕЛ > 80% (3)	31,7±14,5 28,7 (22,0–39,2)	26,8±13,1 25,5(15,8–37,4)	22,8±10,7 22,6 (15,4–29,7)	29,2±14,0 27,5 (20,0–37,3)
ЖЕЛ < 80% (4)	23,4±11,1 20,8 (14,2–32,4)	19,4±6,5 20,2 (12,1–21,8)	25,1±14,9 23,5 (14,1–35,5)	23,8±13,0 21,7 (14,1–33,0)
p	$p_{M1-2} = 0,001$ $p_{M3-4} = 0,001$	$p_{K1-2} = 0,001$ $p_{K3-4} = 0,001$	$p > 0,05$	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{3-4} = 0,001$
<i>Примечание.</i> Применялся t-критерий Стьюдента				

3.2.8. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом и здоровых детей в трех изучаемых регионах

В рамках работы был проведен сравнительный анализ концентрации 25(ОН)D и оценка степени дефицита кальцидиола у больных МВ и здоровых детей сопоставимого возраста и пола, которые наблюдались в трех регионах РФ: Московский регион, Красноярский край, Ставропольский край. Доля пациентов с МВ с нормальным содержанием витамина D была достоверно выше у пациентов Московского региона по сравнению со Ставропольским и Красноярским краем. В Ставропольском крае доля здоровых детей с нормальным содержанием витамина D была достоверно выше данного показателя в Московском регионе и Красноярском крае (Рисунок 8).

При изучении результатов исследования концентрации 25(ОН)D было выявлено большее число наблюдений с тяжелым дефицитом ($25(ОН)D < 10,0$ нг/мл) в Ставропольском крае по сравнению с Московским регионом ($p < 0,05$), несмотря на более высокую продолжительность солнечного сияния, которое связано с отсутствием профилактических мероприятий, направленных на борьбу с гиповитаминозом D. Недостаточность витамина D у пациентов с МВ чаще встречалась в Ставропольском крае, реже в Московском регионе. (Приложение А, Таблица А.8).



Рисунок 8 – Обеспеченность витамином D (25(OH)D нг/мл) пациентов с муковисцидозом и здоровых детей в регионах

При анализе уровня витамина D в различных регионах в каждом сезоне года, наиболее высокие уровни были получены в Московском регионе, далее в Красноярском крае, а самые низкие в Ставропольском крае (Таблица 35).

Таблица 35 – Уровень 25(OH)D (нг/мл) у детей муковисцидозом трех регионов РФ в разные сезоны года, $M \pm m$, Me (Q1–Q3)

Сезон	в Москве, (М)	в Красноярске, (К)	в Ставрополе, (С)	в общей группе	<i>P</i> регионы между собой
Зима (1)	32,1±15,9 30,6 (21,6–40,2)	29,7±16,8 26,1 (17,4–40,6)	19,0±15,5 12,6 (7,8–22,5)	28,4±16,8 25,1 (16,5–38,3)	$p < 0,05$
Весна (2)	28,5±12,8 27,0 (20,0–33,5)	27,2±16,1 25,3 (13,1–36,9)	24,3±11,1 22,7 (15,3–35,3)	27,5±13,2 25,9 (18,0–34,2)	$p_{M2-C2} = 0,030$ $p_{K2-C2} = 0,045$
Лето (3)	36,9±16,2 36,2 (26,3–46,1)	36,4±16,1 33,1 (27,9–47,7)	34,1±14,3 32,3 (25,9–40,0)	36,2±15,7 33,9 (26,3–45,5)	$p > 0,05$
Осень (4)	36,2±17,1 34,0 (23,9–45,6)	20,7±13,8 18,1 (7,30–29,5)	26,4±12,4 26,5 (19,3–34,1)	30,0±16,2 29,1 (19,8–39,7)	$p_{M4-K4} = 0,001$ $p_{C4-K4} = 0,003$
Всего	32,9±15,6 30,7 (22,1–41,3)	28,7±16,5 27,1 (16,9–37,5)	25,7±14,1 24,4 (14,5–35,3)	30,2±15,7 28,7 (19,6–39,2)	$p_{M-K} = 0,040$ $p_{M-C} = 0,008$
р в регионе между сезонами	$p_{M1-2} = 0,035$ $p_{M2-3} = 0,009$ $p_{M2-4} = 0,009$	$p_{K1-3} = 0,001$ $p_{K1-4} = 0,006$ $p_{K2-3} = 0,001$ $p_{K3-4} = 0,009$	$p_{C1-3} = 0,002$ $p_{C1-4} = 0,008$ $p_{C2-3} = 0,009$	$p_{2-3} = 0,000$	
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Манна – Уитни					

В Московском регионе наиболее низкий уровень витамина D был зафиксирован весной, в Красноярском крае – осенью и весной, в Ставропольском крае – зимой.

Таким образом, между детьми в разных регионах проживания уровень витамина D значительно различался. В связи с этим в дальнейшем была оценена адекватность профилактики гиповитаминоза D.

3.2.9. Обеспеченность витамином D пациентов с муковисцидозом в зависимости от профилактической дозы холекальциферола

Важнейшим этапом анализа явилось сравнение уровней кальцидиола больных МВ в зависимости от приёма суточной дозы холекальциферола.

В соответствии с рекомендациями профилактическую дозу витамина D получала большая часть пациентов. Доза более 2000 МЕ в сутки была отмечена при заборе крови у 25,6% пациентов. (Таблица 36).

Таблица 36 – Распределение количества образцов сыворотки крови пациентов с муковисцидозом в трех регионах в зависимости от профилактической дозы холекальциферола

Доза холекальциферола, МЕ	Москва, n (%)	Красноярск, n (%)	Ставрополь, n (%)	Всего, n (%)
0	7 (2,2%)	10 (8,2%)	42 (29,2%)	59 (10,2%)
1–1000	118 (37,7%)	14 (11,5%)	47 (32,6%)	179 (30,9%)
1001–2000	119 (38%)	43 (35,2%)	31 (21,5%)	193 (33,3%)
2001–3000	42 (13,4%)	49 (40,2%)	4 (2,8%)	95 (16,4%)
3001–4000	19 (6,1%)	0	19 (13,2%)	38 (6,6%)
4000+	8 (2,6%)	6 (4,9%)	1 (0,7%)	15 (2,6)

При оценке влияния профилактической дозы холекальциферола на уровень витамина D были получены данные о различном приросте уровня 25(ОН)D у пациентов с МВ. Доза холекальциферола 500–1000 МЕ/сут позволяет достичь нормального уровня 25(ОН)D у здоровых детей, у пациентов с МВ достичь целевого уровня 25(ОН)D 50нг/мл не удастся при назначении от 1000 до 2000 МЕ/сут, и только при дозе 2000 МЕ и более значения кальцидиола приближаются к этому уровню (Таблица 37).

Профилактическая доза холекальциферола дает разный прирост уровня 25(ОН)D в различные сезоны (Рисунок 9). Если в летний период саплементация дозой холекальциферола в 1000МЕ позволяет достичь значения в 30нг/мл у детей с муковисцидозом, в зимний и осенний период эта доза должна быть не менее 2000МЕ, а весной не менее 3000МЕ. С учетом, что на дозе от 1000 до 3000МЕ повышение уровня 25(ОН)D не наблюдалось.

Таблица 37 – Уровень витамина D (нг/мл) при приеме различных профилактических доз у пациентов с муковисцидозом в трех регионах, $M \pm m$, Me (Q1–Q3)

Регион	Доза холекальциферола, ЕД					p в регионе с различными дозами
	≤ 500 (1)	501–1000 (2)	1001–2000 (3)	2001–3000 (4)	3001+(5)	
	Витамин D, нг/мл					
	$M \pm m$ Me (Q1–Q3)	$M \pm m$ Me (Q1–Q3)	$M \pm m$ Me (Q1–Q3)	$M \pm m$ Me (Q1–Q3)	$M \pm m$ Me (Q1–Q3)	
Москва (М)	24,4±11,8 16,6 (22,5–30,9)	31,6±13,6 29,9 (22,1–41,2)	33,1±16,7 32,1 (21,0–42,6)	39,3±17,3 36,5 (28,4–49,8)	33,4±14,9 30,0 (23,9–40,2)	$p_{M1-2} < 0,05$ $p_{M1-3} < 0,05$ $p_{M1-4} < 0,05$ $p_{M1-5} < 0,05$ $p_{M2-4} < 0,05$
Красноярск (К)	12,5±9,5 9,8 (6,5–15,8)	28,5±12,1 28,2 (9,9–30,8)	29,3±15,9 27,3 (18,1–36,2)	30,2±12,7 29,4 (21,8–37,5)	49,1±10,1 45,7 (43,0–47,7)	$p_{K1-2} < 0,05$ $p_{K1-3} < 0,05$ $p_{K1-4} < 0,05$ $p_{K1-5} < 0,05$ $p_{K2-5} < 0,05$ $p_{K3-5} < 0,05$ $p_{K4-5} < 0,05$
Ставрополь (С)	13,6±7,7 12,7 (7,6–16,8)	30,9±10,7 33,4 (22,3–38,3)	34,9±14,4 34,0 (23,6–39,8)	26,2±5,9 26,5 (21,4–27,9)	34,1±10,7 30,9 (26,9–40,6)	$p_{C1-2} < 0,05$ $p_{C1-3} < 0,05$ $p_{C1-4} < 0,05$ $p_{C1-5} < 0,05$ $p_{C4-5} < 0,05$
Всего	15,9±10,2 14,1 (7,6–21,3)	31,8±13,9 30,5 (22,2–40,7)	32,5±16,2 31,3 (21,3–39,8)	34,0±15,3 31,5 (22,5–43,1)	35,4±13,7 31,3 (26,6–43,3)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$ $p_{1-5} < 0,05$ $p_{2-5} < 0,05$
p регионы между собой	$p_{MK1} < 0,05$ $p_{MC1} < 0,05$	$P > 0,05$	$p_{MK3} < 0,05$ $p_{KC3} < 0,05$	$p_{MK4} < 0,05$ $p_{MC4} < 0,05$ $p_{KC4} < 0,05$	$p_{MK5} < 0,05$ $p_{KC5} < 0,05$	

Примечание: применялся критерий Манна–Уитни

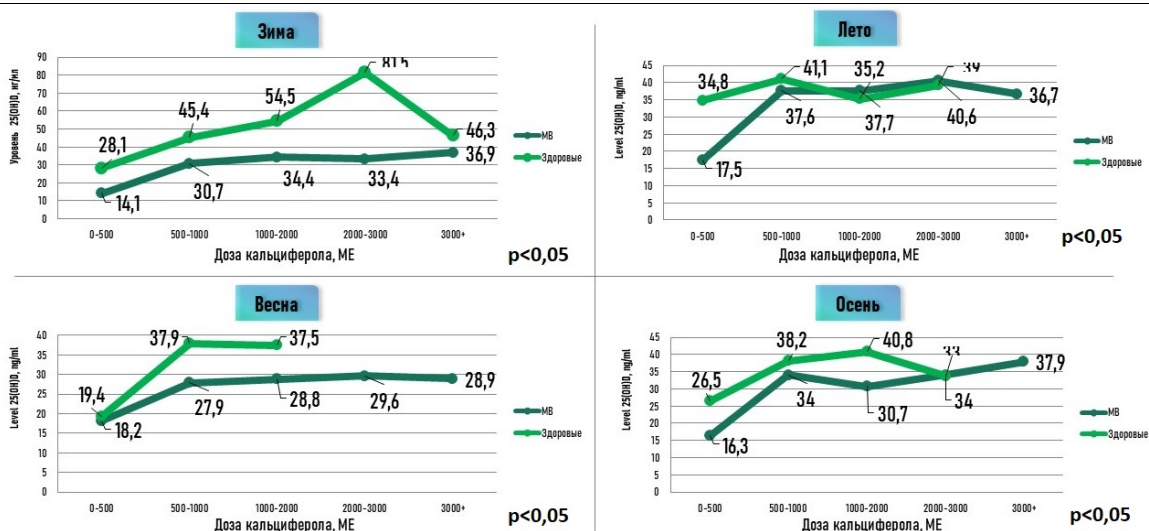


Рисунок 9 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у пациентов с муковисцидозом в зависимости от принимаемой профилактической дозы холекальциферола в разные сезоны года

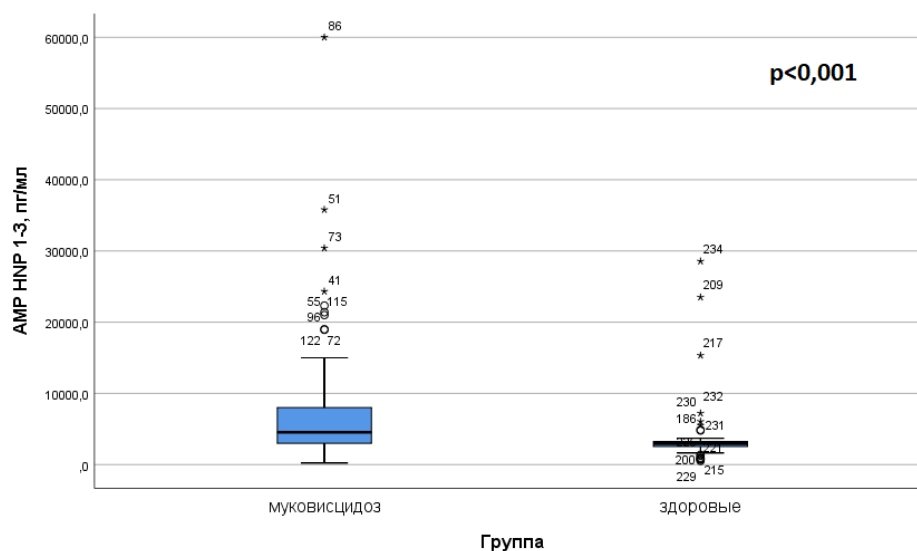
Таким образом, персонифицированная адекватная профилактическая доза витамина D более 2000 МЕ может обеспечить адекватный уровень кальцидиола и профилировать недостаточность витамина D независимо от региона проживания и питания ребенка, в зимний период она может быть более 3000 МЕ.

3.3. Влияние антимикробных пептидов (дефензин HNP1-3, кателицидин LL-37) на уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом

Согласно одной из задач исследования, проведено изучение влияния уровня витамина D на содержание АМП, функцию легких и микробную флору дыхательного тракта у пациентов с МВ.

3.3.1. Содержание АМП у пациентов с муковисцидозом

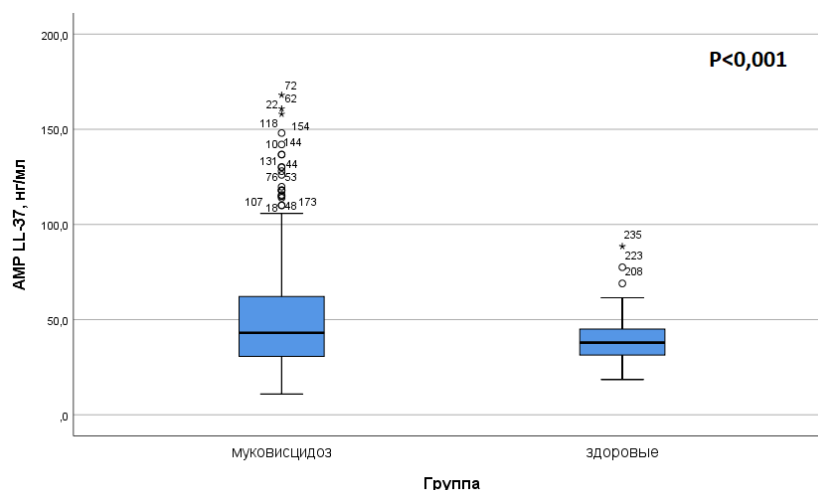
По результатам исследования было выявлено, что средний уровень HNP 1-3 достоверно выше у пациентов с муковисцидозом и составляет $6453,8 \pm 6525,3$ (2985,2–8000,0) пг/мл по сравнению со здоровыми детьми $3984,6 \pm 5022,2$ (2543,3–3253,2) пг/мл ($p < 0,001$) (Рисунок 10).



Примечание. Критерий Манна – Уитни

Рисунок 10 – Содержание HNP 1–3 пг/мл у пациентов с МВ и здоровых детей.

Средний уровень LL-37 был достоверно выше у пациентов с муковисцидозом $53,7 \pm 32,9$ (30,6–62,3) нг/мл по сравнению с здоровыми детьми $39,2 \pm 14,1$ (31,3–45,4) нг/мл ($p < 0,001$) (Рисунок 11).



Примечание. Критерий Манна – Уитни кальцидиола
Рисунок 11 – Содержание LL-37 нг/мл у пациентов с МВ и здоровых детей.

3.3.2. Уровень АМП у здоровых детей и детей с муковисцидозом в зависимости от возраста

Анализ уровня АМП в разных возрастных группах (0–3, 4–10, 11–18 лет) показал, что средний уровень НРР 1–3 увеличивается с возрастом и достоверно выше у подростков ($p = 0,020$) (Таблица 38). У здоровых детей наблюдалась обратная взаимосвязь возраста и НРР 1–3 ($p < 0,020$).

Таблица 38 – Содержание НРР 1–3 (пг/мл) у детей в разных возрастных группах (М±m, Ме (Q1–Q3))

Возраст, годы	Пациенты с МВ	Здоровые	p
	М±m, Ме (Q1–Q3)	М±m, Ме (Q1–Q3)	
0–3 (1)	4953,1±3942,1 3872,5 (2260,7–6411,1)	4808,76±6509,4 2784,6 (1576,9–3649,9)	p > 0,050
4–10 (2)	6502,7±6117,0 4400,0 (3000,0–7813,6)	3698,6±5310,6 2955,5 (1649,6–3366,4)	p < 0,001
11–18 (3)	7064,3 ±7868,7 4900,0 (3054,6–8800,0)	3618,7±1357,1 3005,0 (2943,1–4405,5)	p < 0,001
p	p ₁₋₃ < 0,001	p ₁₋₃ < 0,022	
<i>Примечание. Применялся критерий Манна – Уитни</i>			

Уровень кателицидина также достоверно увеличивается с возрастом у детей с МВ с 47,2 нг/мл у детей до 3 лет до 61,2 нг/мл у подростков. У здоровых детей уровень LL-37 не меняется (38,9 нг/мл у детей до 3 лет и 38,1 нг/мл у подростков) (Таблица 39).

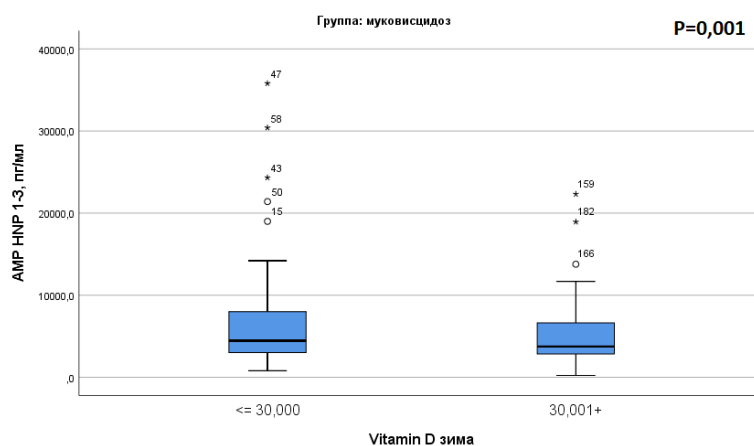
Таким образом, при муковисцидозе уровень АМП выше чем у здоровых детей и увеличивается с возрастом.

Таблица 39 – Содержание LL-37 (нг/мл) у детей в разных возрастных группах, $M \pm m$; Me (Q1–Q3)

Возраст, годы	Пациенты с МВ	Здоровые	p
0–3 (1)	47,2 ±38,1 36,0 (22,1–49,2)	38,9±12,1 38,7 (31,1–43,6)	p > 0,05
4–10 (2)	50,6±28,9 40,0 (30,5–55,9)	40,0±16,8 37,9 (30,3–45,9)	p < 0,05
11–18 (3)	61,1±35,0 47,7 (36,1–77,5)	38,1±10,5 36,3 (31,4–43,7)	p < 0,001
p	p1-3 < 0,008, p2-3 < 0,034	p > 0,05	
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Манна – Уитни			

3.3.3. Уровень АМП у здоровых детей и детей с муковисцидозом в зависимости от содержания витамина D

В нашей работе получена связь между уровнем витамина D и средним уровнем α -дефензина, пациенты с уровнем 25(OH)D > 30 нг/мл имели достоверно более низкий уровень дефензина – 5329,7±4419,4 (2815,0–6650,1) пг/мл по сравнению с пациентами с недостаточностью витамина D (25(OH)D < 30 нг/мл) – 6147,4±5300,1 (3005,0–8000,0) пг/мл (p = 0,001).

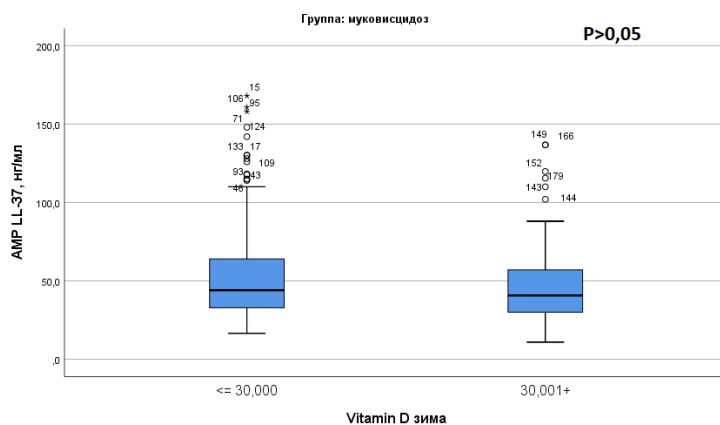


Примечание. Применялся критерий Манна – Уитни

Рисунок 12 – Содержание HNP 1–3 (пг/мл) у пациентов с МВ в зависимости от наличия недостаточности и дефицита витамина D (25(OH)D < 30нг/мл)

Пациенты с уровнем 25(OH)D > 30нг/мл также имели более низкий уровень кателицидина – 50,4 нг/мл по сравнению с детьми с недостаточностью витамина D (25(OH)D < 30нг/мл) – 55,6нг/мл, но без достоверно значимой разницы (Рисунок 13).

Таким образом, дефицит витамина D связан с высоким уровнем HNP 1–3.



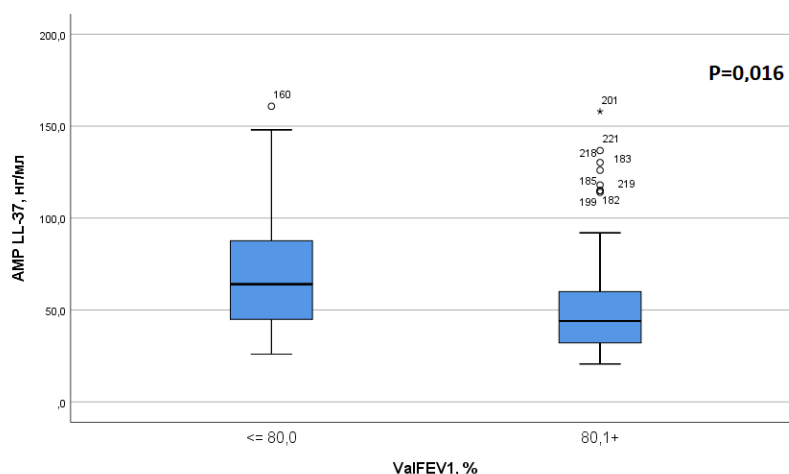
Примечание. Критерий Манна – Уитни

Рисунок 13 – Содержание LL-37 (нг/мл) у пациентов с МВ в зависимости от наличия недостаточности и дефицита витамина D (25(OH)D < 30 нг/мл)

3.3.4. Уровень АМП в зависимости от показателей функции легких и нутритивного статуса

Одним из показателей тяжести течения заболевания у пациентов с муковисцидозом является значение функции легких (ОФВ1).

Получено достоверное отличие уровня кателицидина в зависимости от ОФВ1, при ОФВ1 < 80% уровень LL-37 составил $71,5 \pm 36,02$ нг/мл, при ОФВ1 > 80% уровень LL-37 был $55,3 \pm 32,4$ нг/мл ($p = 0,016$) (Рисунок 14).



Примечание. Применялся критерий Манна – Уитни

Рисунок 14 – Содержание LL-37 нг/мл у пациентов в зависимости от функции легких (ОФВ1 > 80%)

Для дефезинов достоверного отличия их содержания от показателей функции легких получено не было.

При определении нутритивного статуса у пациентов с муковисцидозом и здоровых детей была получена обратная корреляция уровня HNP 1–3 с ростом и ИМТ. У пациентов с

Z-score роста и ИМТ ниже -2δ уровень HNP 1–3 пг/мл был достоверно выше (Таблица 40). Уровень кателицидинов также был достоверно выше у пациентов с муковисцидозом и здоровых детей с Z-score для ИМТ ниже -2δ (Таблица 41).

Таблица 40 – Содержание HNP 1–3 (пг/мл) у пациентов с муковисцидозом в зависимости от показателей физического развития: ИМТ, рост (Z-score) ($M \pm m$; Me (Q1–Q3))

Показатели в группах	Z-score			
	Z-score < -2 (1)	Z-score < -1 > -2 (2)	Z-score < 1 > -1 (3)	Z-score > 1 (4)
Рост				
МВ (М)	6753,4±5064,4 4843,1 (3479,6–8000,0)	5923,1±4556,0 3946,9 (3005,0–7200,0)	6360,9±7238,8 4400,0 (2940,0–7987,1)	5896,7±4746,2 4566,6 (2608,5–8800,0)
Здоровые (З)	6401,3±7800,4 2904,2 (961,4–15338,2)	1676,5±1171,2 1242,1 (818,2–2543,3)	4878,6±6288,5 3021,8 (2831,5–3701,2)	2744,1±1013,1 2858,0 (1782,0–3166,3)
p	$p_{M1-3} < 0,05$, $p_{Z1-3} < 0,05$, $p_{Z2-3} < 0,05$, $p_{Z1-4} < 0,05$, $p_{Z2-4} < 0,05$			
ИМТ				
МВ (М)	7159,8±4097,1 7320,9 (4034,6–9504,6)	5315,3±4235,4 3973,6 (3000,0–5800,0)	7187,4±8124,3 4517,0 (2980,2–8978,5)	5086,8±3679,2 3723,8 (3495,8–6677,8)
Здоровые (З)		3947,0±1843,0 3054,6 (2930,7–5510,1)	4527,6±6287,7 2905,9 (2543,3–3479,6)	2466,8±1244,7 2905,9 (1242,1–3029,8)
p	$p_{M1-4} = 0,046$, $p_{Z2-4} < 0,0001$			
<i>Примечание.</i> Применялся критерий однородности дисперсий				

Таблица 41 – Содержание LL-37(нг/мл) у пациентов с муковисцидозом в зависимости от показателей физического развития (Z-score): ИМТ, рост ($M \pm m$; Me (Q1–Q3))

Показатели в группах	Z-score			
	Z-score < -2(1)	-2 < Z-score < -1 (2)	-1 < Z-score < 1 (3)	Z-score > 1
Рост				
МВ (М)	62,3±40,5 48,0 (34,0–90,0)	64,4±42,9 52,0 (40,0–77,7)	50,5±27,5 40,0 (30,9–60,0)	45,2±28,7 38,5 (26,0–48,0)
Здоровые	50,5±16,1 41,6 (40,8–60,9)	38,9±7,6 38,6 (33,2–46,0)	37,6±11,7 35,8 (29,8–45,6)	39,9±18,6 38,3 (31,6–41,1)
P	$p_{Z1-3} = 0,047$, $p_{M1-3} < 0,05$, $p_{M2-4} < 0,05$, $p_{M2-3} < 0,05$			
ИМТ				
МВ	59,7±37,3 50,5 (29,0–73,4)	63,6±38,7 48,0 (36,0–81,3)	48,0±25,2 41,7 (30,3–55,9)	52,2±40,9 37,4 (30,0 – 54,9)
Здоровые		38,3±10,8 35,8 (32,5–43,7)	39,5±14,9 38,6 (38,6–30,9)	40,1±16,0 36,0 (29,7–46,7)
p	$p_{M1-3} = 0,025$, $p_{M2-3} < 0,05$, $p_{M1-3} < 0,05$			
<i>Примечание.</i> Применялся критерий однородности дисперсий				

В целом, уровень АМП был выше у пациентов с низким нутритивным статусом, уровень кателицидинового АМП (LL-37) был выше у пациентов с низкой функцией легких ($\text{ОФВ1} < 80\%$).

3.3.5. Уровень АМП в зависимости от микробиологического статуса дыхательного тракта пациентов с МВ

Определение микробной флоры у обследованных пациентов ($n = 142$) с муковисцидозом выявило хроническое инфицирование *P. aeruginosa* у 50 (35,2%) пациентов. При анализе уровня АМП у пациентов в зависимости от инфицирования *P. aeruginosa* получена тенденция к увеличению уровня ННР 1–3, от 6301,5 пг/мл при отсутствии данной грамотрицательной микрофлоры до 6861,9 пг/мл при ее хроническом высеве ($p > 0,05$), но без достоверно значимой разницы (Рисунок 15).

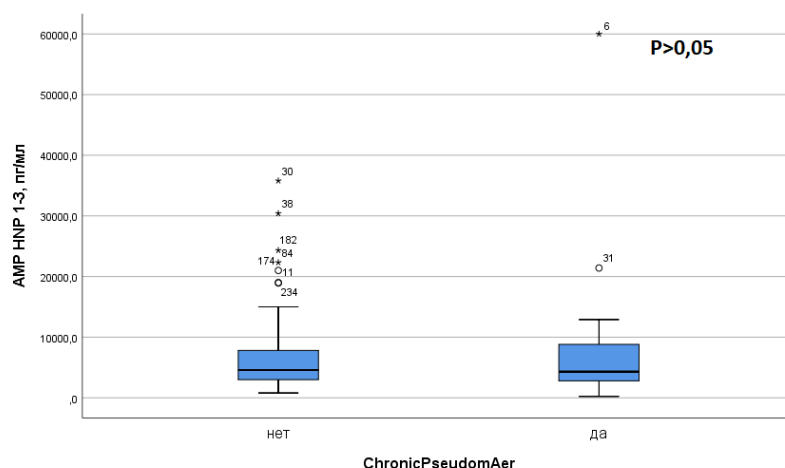


Рисунок 15 – Содержание ННР 1–3 пг/мл у пациентов с муковисцидозом в зависимости от наличия в высеве *P. aeruginosa*

Аналогично, уровень кателицидинов был выше у пациентов с хроническим высевом *P. aeruginosa* 57,9 нг/мл и составил у пациентов без высева синегнойной палочки 52,1 нг/мл ($p > 0,05$) (Рисунок 16).

В целом, уровень АМП при муковисцидозе не зависел от наличия в высеве *P. aeruginosa*. Результаты нашего исследования показали, что уровень АМП (ННР 1–3 и LL-37) достоверно повышен у детей с МВ в общей группе по сравнению со здоровыми детьми. В отличие от здоровых детей, содержание ННР 1–3 и LL-37 увеличивается с возрастом у пациентов с муковисцидозом. При оценке показателей функции дыхания и нутритивного статуса у пациентов с муковисцидозом были получены достоверно более высокие значения кателицидина у пациентов с низкой функцией легких ($\text{ОФВ1} < 80\%$) и

низкими показателями физического развития (Z-score ИМТ, Z-score роста менее -2δ). Также более высокие показатели дефензинов были получены у пациентов с Z-score ИМТ менее -2δ .

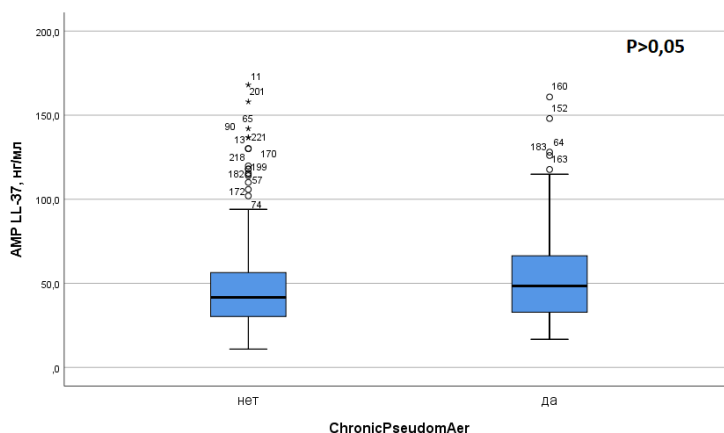


Рисунок 16 – Содержание LL-37 нг/мл у пациентов с муковисцидозом в зависимости от наличия в высеве *P. aeruginosa*

Полученные данные могут указывать на повышение уровня АМП на фоне прогрессирования заболевания с возрастом. Корреляция высокого уровня АМП с низким уровнем витамина D подтверждает гипотезу, что уровень АМП нарастает при неблагоприятном течении заболевания.

3.4. Влияние полиморфизмов генов первой фазы биотрансформации ксенобиотиков на уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом

Определение полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков было проведено 204 пациентам: 88 – дети Московского региона (30 – пациенты с МВ, 58 – здоровые), 66 – дети Красноярского края (30 – пациенты с МВ, 36 – здоровые), 50 – дети Ставропольского края (24 – пациенты с МВ, 26 – здоровые). Исследовались полиморфные варианты генов цитохромов: CYP2C9*3 (1075A > C; I359L), CYP2C9*2 (430C > T; R144C), CYP2D6*4 (1846G > A), CYP3A4*1B (с.-392C > T), CYP3A4 (с.1334T > C). Распределение генотипов у пациентов с муковисцидозом находилось в равновесии Харди – Вайнберга (Таблица 42).

При исследовании гена CYP2C9 (1075A > C; I359L), генотип AA был определен у 66 (78,5%) пациентов, генотип СА у 32 пациентов. Зависимости между генотипом по гену CYP2C9 (1075A > C; I359L) и уровнем витамина D в крови не выявлено (Приложение А, Таблица А.9).

Таблица 42 – Соответствие распределения частот генотипов полиморфизмов генов цитохрома *CYP2C9*3*, *CYP2C9*2*, *CYP2D6*4*, *CYP3A4*1B*, *CYP3A4* у пациентов с МВ (согласно уравнению Харди – Вайнберга)

Полиморфизмы	Генотип аллель	n	%	χ^2	p
<i>CYP2C9</i> (1075A > C; I359L)	AA	66	78,53	1,2096	> 0,05
	AC	18	21,43		
	CC	0	0		
	A	150	89,29		
	C	18	10,71		
<i>CYP3A4</i> (с.1334Т > С; M445Т)	ТТ	84	100,0	–	–
	ТС	0	0		
	СС	0	0		
	Т	168	100,0		
	С	0	0		
<i>CYP2C9</i> (с.430С > Т; R144С)	СС	62	73,81	1,9073	> 0,05
	СТ	22	26,19		
	ТТ	0	0		
	С	146	86,90		
	Т	22	13,10		
<i>CYP2D6</i> (1846G > А)	GG	48	57,65	0,8174	> 0,05
	GA	33	38,82		
	AA	3	3,53		
	G	131	77,06		
	A	39	22,94		
<i>CYP3A4</i> (с.-392С > Т)	СС	0	0	0,0781	> 0,05
	СТ	4	5,88		
	ТТ	80	94,12		
	С	5	2,94		
	Т	165	97,06		

При исследовании варианта *CYP2C9*2* (430С > Т; R144С), генотип СС был определен у 62 (73,8%) пациентов, генотип СТ у 22 (26,2%) пациентов. Взаимосвязи между уровнем 25(ОН)D и генотипом по гену *CYP2C9* (430С > Т; R144С) не выявлено (Приложение А, Таблица А.9).

При исследовании варианта *CYP2D6*4* (1846G > А), генотип АА был определен у 3 (3,5%) пациентов, генотип GG у 48 (57,7%) пациентов, генотип AG у 63 (31%) пациентов.

При исследовании варианта *CYP3A4*1B* (с.-392С > Т) генотип ТТ был определен у 80 (94,1%) пациентов, генотип СТ у 4 (5,9%) пациентов. При исследовании варианта *CYP3A4* (с.1334Т > С; M445Т) генотип ТТ был определен у 84 (100%) пациентов. При анализе генов 1-й фазы биотрансформации ксенобиотиков *CYP2C9*3* (I359L;1075A > С), *CYP2C9*2*(R144С; 430С > Т), *CYP2D6*4* (1846G > А), *CYP3A4* (с.1334Т > С), *CYP3A4*1B* (с.-392С > Т), достоверных отличий по уровню витамина D у пациентов с разными генотипами не выявлено (Приложение А, Таблица А.9).

Все обследованные пациенты имели генотип ТТ гена *CYP3A4* (с.1334Т > С).

Таким образом, на выборке, включающей 84 пациента с МВ, влияния полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (CYP2C9*3 (1075A > C; I359L), CYP2C9*2 (430C > T; R144C), CYP2D6*4 (1846G > A), CYP3A4*1B (-392C > T), CYP3A4 (с.1334T > C)) на уровень 25(OH)D не обнаружено.

3.5. Влияние полиморфизмов гена VDR на уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом

Низкий уровень витамина D у пациентов с муковисцидозом подтвержден в большом количестве исследований. VDR – ядерный транскрипционный фактор, регулирующий активность генов, чувствительных к витамину D. Установлена взаимосвязь некоторых полиморфизмов гена VDR с рядом заболеваний. Полиморфизм с.152T > C (FokI) приводит к синтезу укороченного белка VDR из-за изменения в стартовом кодоне. Полиморфизмы с.1206T > C (TaqI) и с.1174+283G > A (BsmI) не изменяют аминокислотную последовательность белка VDR, однако могут влиять на экспрессию генов через изменение стабильности мРНК, нарушение сайтов сплайсинга для транскрипции мРНК или изменение интронных регуляторных элементов.

Определение полиморфизмов гена VDR (с.1206T > C, с.152T > C, с.1174+283G > A) проведено 211 пациентам МВ (Москва – 138, Красноярск – 42, Ставрополь – 31) и 112 здоровым детям. Распределение генотипов у пациентов с муковисцидозом находилось в равновесии Харди – Вайнберга (Таблица 43).

Таблица 43 – Соответствие распределения частот генотипов полиморфизмов гена VDR (с.1206T > C(A > G), с.152T > C, с.1174+283G > A) у пациентов с МВ (согласно уравнению Харди – Вайнберга)

	Генотип аллель	n	%	χ^2	p
TaqI	TT	98	46,45	0,3060	> 0,05
	TC	89	42,18		
	CC	24	11,37		
	T	285	64,54		
	C	137	32,46		
FokI	TT	44	20,95	0,6195	> 0,05
	TC	98	46,67		
	CC	68	32,38		
	T	186	44,29		
	C	234	55,71		
BsmII	AA	29	14,36	1,0474	> 0,05
	GA	86	42,57		
	GG	87	43,07		
	A	144	35,64		
	G	260	64,36		

Исследовали уровень витамина D в зависимости от полиморфизмов гена *VDR* с.1206Т > С (А > G) – TaqI, с.152Т > С – FokI и с.1174+283G > А – BsmI. Выявлена статистически значимая взаимосвязь между диагнозом и уровнем витамина D при МВ (р = 0,04) (Таблица 44).

Таблица 44 – Достоверности различий уровня витамина D при исследовании полиморфизмов гена *VDR* (с.1206Т > С(А > G), с.152Т > С, с.1174+283G > А)

Группы для сравнения	Уровень значимости <i>p</i>		
	параметрический дисперсионный анализ	непараметрический дисперсионный анализ	χ^2
VDR (с.1206Т > С (А > G)-TaqI , rs731236)			
здоровые	0,58	0,86	0,42
МВ	0,08	0,04	0,31
всего	0,07	0,06	0,22
VDR (с.152Т > С) - FokI (Allele F/f, SNP C > T, rs2228570)			
здоровые	0,84	0,45	0,31
МВ	0,19	0,27	0,17
всего	0,73	0,90	0,70
VDR(с.1174+283G > А) Bsm I (Allele B/b, SNP G > А, rs1544410)			
здоровые	0,67	0,31	0,79
МВ	0,85	0,36	0,89
всего	0,59	0,73	0,74

При муковисцидозе у пациентов с генотипом СС полиморфизма TaqI (с.1206Т > С(А > G)) содержание витамина D было достоверно ниже, чем у пациентов с генотипами ТТ, ТС (Таблица 45), что коррелирует с данными литературы. Достоверных различий статуса витамина D по полиморфизмам FokI (с.152Т > С) и BsmI (с.1174+283G > А) не установлено (Приложение А, Таблица А.10).

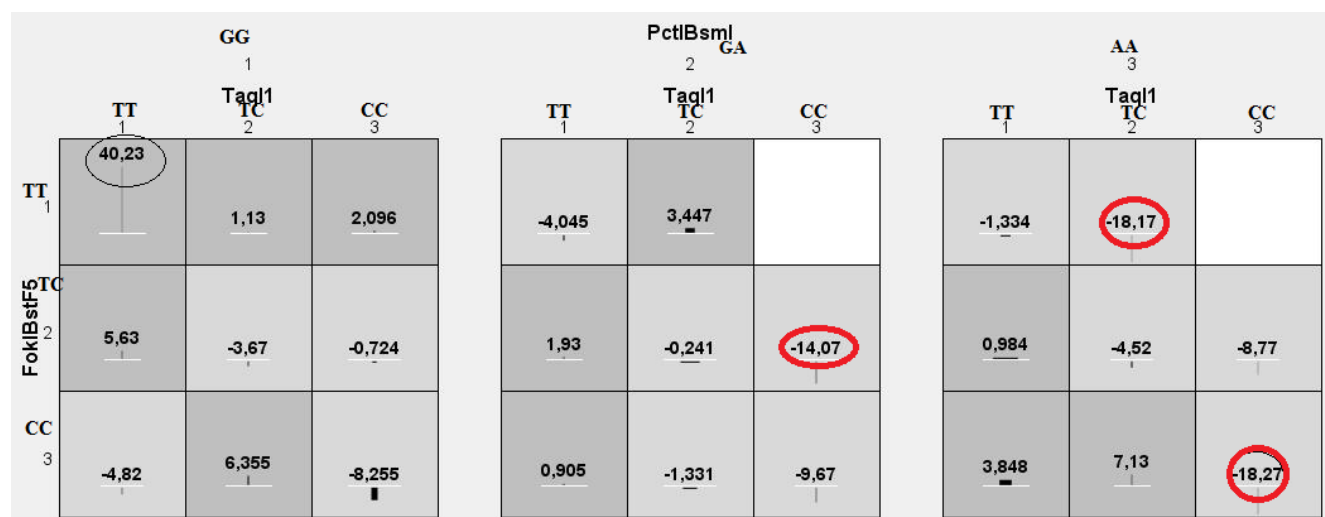
Был исследован уровень витамина D в зависимости от совместного влияния полиморфизмов (TaqI, FokI, BsmI). Использовали метод многофакторного уменьшения размерности (Multifactor dimensionality reduction – MDR) [37].

При совместном влиянии трех полиморфизмов гена *VDR* наибольший уровень витамина D наблюдается при сочетанном генотипе TaqI (ТТ) – FokI (ТТ) – BsmI (GG) в виде увеличения уровня 25(ОН)D на 40,23 нг/мл от среднего у детей исследуемой группы с МВ,

а выраженный дефицит отмечен при гаплотипах: TaqI (CC) – FokI (CC) – BsmI (AA) в виде снижения уровня 25(OH)D на 18,27 нг/мл от среднего детей исследуемой группы с МВ, TaqI (TC)– FokI (TT)–BsmI (AA) на 18,17 нг/мл и TaqI (CC)–FokI (TC) – BsmI (GA) на 14,07 нг/мл (Рисунок 17).

Таблица 45 – Содержание витамина D (нг/мл) по группе детей с МВ в зависимости от генотипов полиморфизма *VDR* с.1206T > C (A > G) – TaqI (M±m; Me (Q1–Q3))

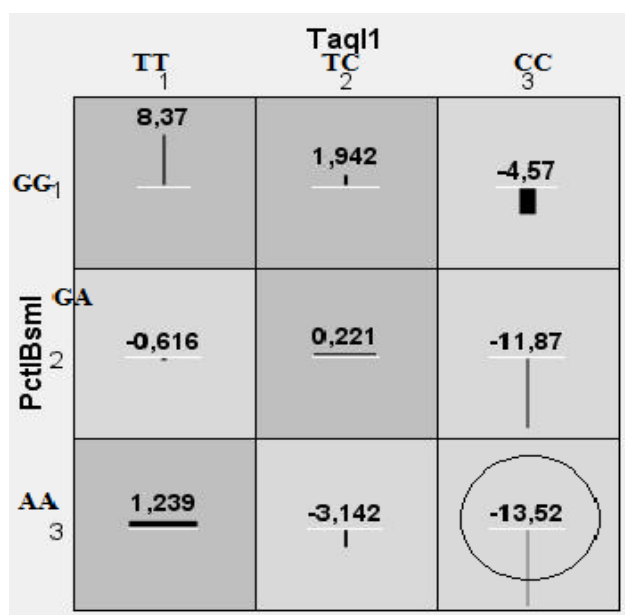
Генотип	N	25(OH)D, нг/мл	Значимость различий, тест Шеффе / Манна–Уитни		
			p1-2	p1-3	p2-3
TT (1)	98	30,0±16,6 28,0 (26,6–33,3)	0,917/0,769	0,085/0,014	0,153/0,017
TC (2)	89	29,0±15,6 27,0 (25,7–32,3)			
CC (3)	24	21,9±12,8 24,7 (16,5–27,3)			
Всего	211	28,7±15,9 26,8 (26,5–30,8)			



Примечание. Применялся метод MDR, светло–серые – низкие показатели 25(OH)D, темно–серые – высокие показатели 25(OH)D

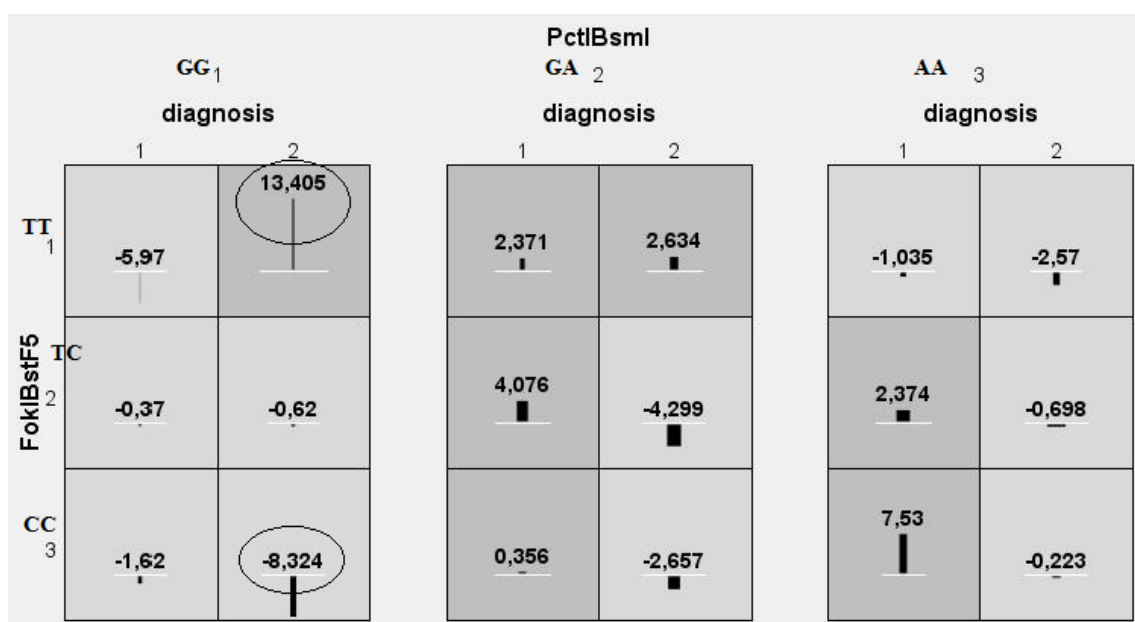
Рисунок 17 – Изменение уровня 25(OH)D (нг/мл) в зависимости от генотипов полиморфизмов *VDR*– FokI, BsmI и TaqI

Также группой риска по дефициту витамина D являются сочетание генотипов TaqI (CC) –BsmI (AA), при которых наблюдается снижение уровня 25(OH)D на 13,52 нг/мл от среднего значения у детей исследуемой группы с МВ, и гаплотип – FokI (CC) – BsmI (GG), при котором уровень 25(OH)D ниже на 8,32 нг/мл от среднего значения исследуемой группы детей с МВ (Рисунки 18, 19).



Примечание. Применялся метод MDR, светло-серые – низкие показатели 25(OH)D, темно-серые – высокие показатели 25(OH)D.

Рисунок 18 – Изменение уровня 25(OH)D (нг/мл) в зависимости от генотипов полиморфизмов TaqI и BsmI



Примечание. 1 – здоровые, 2 – пациенты с МВ. Применялся метод MDR, светло-серые – низкие показатели, темно-серые – высокие

Рисунок 19 – Содержание витамина D (нг/мл) в зависимости от генотипов полиморфизмов VDR– FokI и BsmI

Приводим клинический пример влияния генетических факторов на уровень витамина D.

Клинический случай 1

Пациент 9 лет, место проживания – г. Москва

Диагноз: муковисцидоз (E84.8), смешанная форма. Хронический обструктивный бронхит. Хроническая панкреатическая недостаточность.

Микробиологический диагноз: Хронический высев *P. aeruginosa*.

Генетический диагноз: F508del/F508del.

Диагноз установлен по неонатальному скринингу (повышение ИРТ), в возрасте 1 месяца проведена потовая проба на аппарате Нанодакт, проводимость пота составила 112 ммоль/л (норма до 50 ммоль/л), при проведении ДНК диагностики в гене *CFTR* выявлена мутация F508del в гомозиготном состоянии.

С возраста 1 месяца наблюдается в Российском центре муковисцидоза. С этого времени получает базисную терапию в виде дорназы альфа, заместительной терапии панкреатическими ферментами, жирорастворимые витамины (А, Е, D). Течение заболевания стабильное. ОРВИ 2-3 раза в год, лечение амбулаторное. Получает постоянную ингаляционную антибактериальную терапию с 5 лет по поводу хронического высева синегнойной инфекции.

При осмотре 18.02.2018: вес 31 кг, рост 142 см, ИМТ 16,8. Общее состояние удовлетворительное. Кашель редкий, малопродуктивный. Одышки нет. Тоны сердца ясные, ритмичные. В легких дыхание везикулярное, проводится во все отделы, хрипов нет. Живот мягкий, безболезненный. Печень +2см от края реберной дуги. Селезенка не пальпируется. Стул оформлен, 1-2 раза в день, без жира.

Функция легких при проведении спирометрии – ЖЕЛ– 120%, ОФВ₁– 116%. SatO₂ – 99%. Общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови – в пределах нормы. В копрологии нейтральный жир не обнаружен. На УЗИ органов брюшной полости увеличение и диффузные изменения печени, характерные для муковисцидоза. Состояние без отрицательной динамики.

При заборе сыворотки крови 18.02.2018 (зима) для определения 25(ОН)D был получен результат 25 нг/мл, что соответствует недостаточности витамина D. На момент забора крови ребенок постоянно получал 2000МЕ холекальциферола в сутки. По результатам анализа профилактическая доза была увеличена до 3000 МЕ в сутки.

Во время последующего забора сыворотки крови при определении 25(ОН)D 18.05.2018 (весна) был получен результат 21,3нг/мл, что соответствует недостаточности витамина D. Профилактическая доза холекальциферола была увеличена до 4000МЕ в сутки. Контрольный анализ на содержание витамина D в крови от 19.10.2018 (осень) показал уровень 25(ОН)D– 23 нг/мл, который также соответствует недостаточности витамина D. Для обоснования назначения терапевтических доз холекальциферола, была про-

ведена диагностика в гене *VDR* и получен следующий гаплотип TaqI (CC)–FokI (TC) – BsmI (GA), который является фактором риска для развития дефицита витамина D. Соответственно, данному пациенту было рекомендовано: подбор терапевтической дозы холекальциферола и контроль уровня 25(OH)D 4 раза в год. Доза увеличена в 2 раза до 8 000 ЕД. Наблюдение продолжается.

Таким образом, недостаточность витамина Д в данном случае обусловлена временем года, когда проводилось обследование, но в большей мере – генетической предрасположенностью: ребенок носитель гаплотипа гена *VDR* – TaqI (CC) – FokI (TC) – BsmI (GA).

Клинический случай 2

Пациентка 15 лет, Красноярский край.

Диагноз: муковисцидоз (E84.8), смешанная форма. Хронический обструктивный бронхит. Хроническая панкреатическая недостаточность. Хронический полипозно-гнойный риносинусит.

Микробиологический диагноз: Хронический высеv *P. aeruginosa*.

Генетический диагноз: F508del/F508del

Диагноз установлен в возрасте 2 лет по клинической картине (дефицит веса, стеаторея, перенесла пневмонию в возрасте 5 мес., неоднократно обструктивные бронхиты) и положительной потовой пробе на аппарате Нанодакт, проводимость пота составила 104 ммоль/л (норма до 50 ммоль/л), при проведении ДНК диагностики в гене *CFTR* выявлена мутация F508del в гомозиготном состоянии.

Течение заболевания стабильное, постоянно получает ингаляционную антибактериальную терапию антисинегными антибактериальными препаратами. Госпитализации с целью проведения внутривенной антибактериальной противосинегной терапии не чаще 1 раза в год. Последняя госпитализация в 2017 году по месту жительства.

При осмотре 09.02.2018: вес – 58 кг, рост– 154 см., ИМТ 22,9. Общее состояние удовлетворительное. Кашель редкий, малопродуктивный. Одышки нет. Тоны сердца ясные, ритмичные. В легких дыхание ослабленное, проводится во все отделы, хрипов нет. Живот мягкий, безболезненный. Печень +2см от края реберной дуги. Селезенка не пальпируется.

Функция легких – ЖЕЛ – 64%, ОФV₁ – 62%. SatO₂ – 99%. Общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови – в пределах нормы. В копрологии нейтральный жир не обнаружен. На УЗИ органов брюшной полости увеличение и диф-

фузные изменения печени, характерные для муковисцидоза. Диффузные изменения поджелудочной железы.

При заборе сыворотки крови 09.02.2018 (зима) для определения 25(ОН)D был получен результат 21 нг/мл, что соответствует недостаточности витамина D. На момент забора крови ребенок постоянно получал 400 МЕ холекальциферола в сутки. По результатам анализа профилактическая доза была увеличена до 1500 МЕ в сутки. Отмечено снижение показателей спирометрии на фоне недостаточности витамина D.

Во время последующего забора сыворотки крови при определении 25(ОН)D 15.04.2018 (весна) был получен результат 21,9 нг/мл, что также соответствует недостаточности витамина D. Профилактическая доза холекальциферола была увеличена до 2000 МЕ в сутки, и при летнем заборе крови 08.08.2018 был получен результат 36,6 нг/мл, что соответствует норме.

Контрольный анализ на содержание витамина D в крови от 20.10.2018 (осень) показал уровень 25(ОН)D 45,3 нг/мл, который соответствует рекомендуемому содержанию витамина D.

При проведении ДНК диагностики для определения генотипов по трем полиморфизмам гена *VDR* был получен следующий гаплотип TaqI (ТТ) – FokI (ТС), который не является фактором риска для развития дефицита витамина D. Рекомендовано продолжить прием профилактической дозы холекальциферола 2000 ЕД и контроль уровня 25(ОН)D 4 раза в год.

Таким образом, назначение адекватной профилактической дозы витамина D пациентке без генетических факторов риска демонстрирует ее эффективность. В данном примере показано влияние сезона года (зима и весна) и неадекватной дозы холекальциферола на уровень 25(ОН)D. Клинический пример указывает на необходимость контроля уровня 25(ОН)D 4 раза в год с учетом подросткового возраста пациентки.

Заключение. Установлено влияние полиморфизмов гена *VDR* на уровень витамина D, низкое содержание которого зарегистрировано при CC генотипе полиморфизма *VDR* с.1206T > C(A > G) – TaqI. Изучение совместного влияния трех полиморфизмов гена *VDR* позволило выявить гаплотипы, угрожаемые по дефициту витамина D. Полученные данные могут быть полезны при подборе дозы витамина D в случае неэффективности терапевтических доз.

Глава 4. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОФИЛАКТИКИ ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ В ДИНАМИКЕ 2016–2018 годов (на примере Московского региона)

По результатам исследования распространенности дефицита витамина D у детей с муковисцидозом 2016 года, нормальное содержание витамина D отмечено в 41 (35,7%) образце сыворотки крови, недостаточность витамина D обнаружена в 36 (31,3%), дефицит витамина D – в 32 (27,8%), выраженный дефицит – в 6 (5,2%) (Рисунок 20).

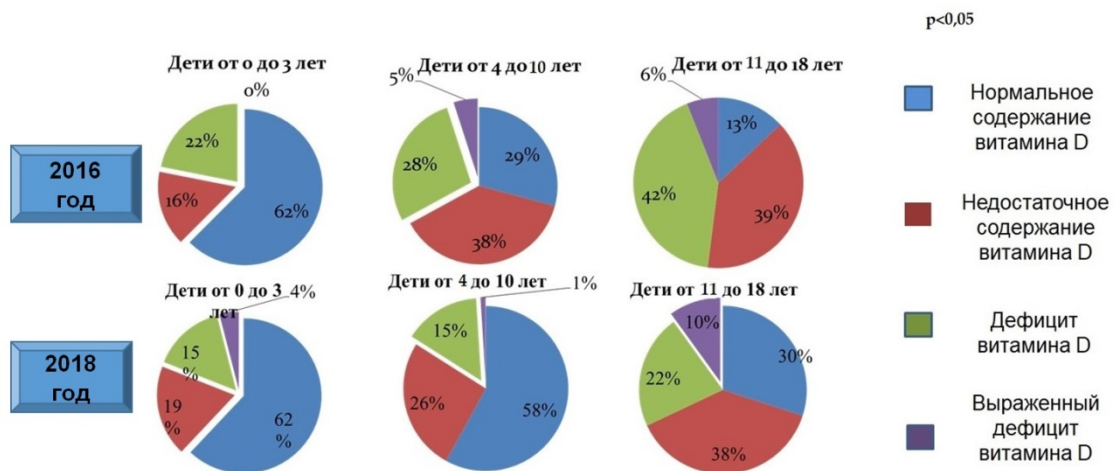


Рисунок 20 – Сравнительная характеристика частоты выявления нормальной и сниженной концентрации витамина D в различных возрастных группах в 2016 г. и в 2018 г., n (%)

В целом, результаты показали, что концентрация 25(OH)D с возрастом снижалась. Нормальный уровень 25(OH)D был только у трети обследованных больных, с возрастом число детей с нормальным уровнем 25(OH)D уменьшалось, при этом увеличивалась частота встречаемости детей с дефицитом и выраженным дефицитом витамина D (Рисунок 20). Изучение обеспеченности витамином D по уровню 25(OH)D в различные сезоны 2016 г. показало, что нормальный уровень кальцидиола чаще встречался весной и летом, реже – в осенний и зимний период (Рисунок 21).

По итогам исследования 2016 г. были пересмотрены профилактические дозы холекальциферола в связи с рекомендациями [23] и собственными исследованиями, проведена просветительская работа с родителями пациентов и детьми о роли витамина D в организме. Профилактические дозы холекальциферола, принимаемые пациентами в 2018 году, отражены в Таблице 5 (Глава 2).

p<0,05

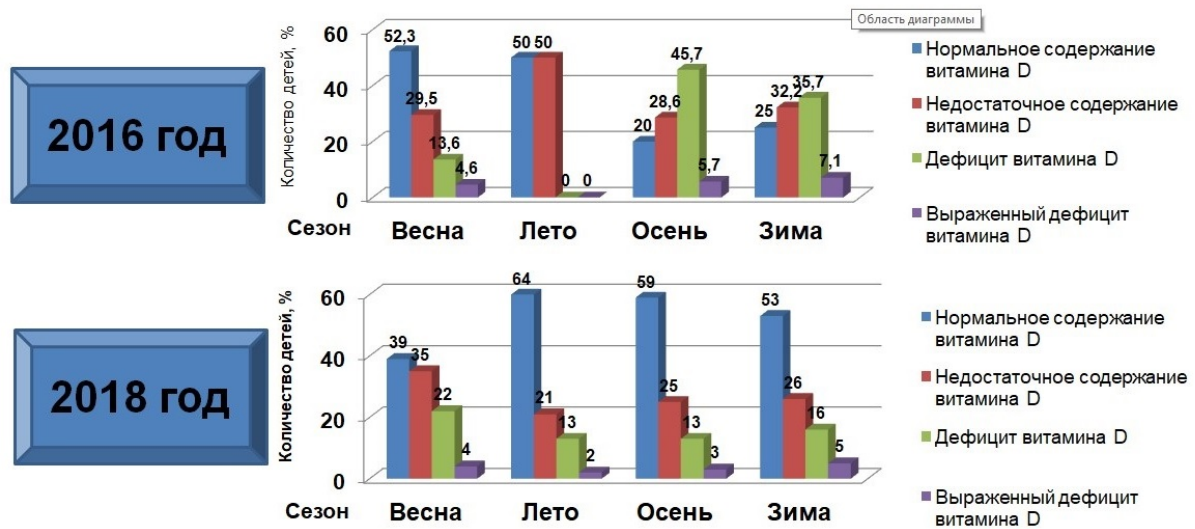


Рисунок 21 – Сравнительная характеристика частоты выявления нормальной и сниженной концентрации витамина D по времени года для сезонов 2016 г. и 2018 г., n (%)

По результатам исследования концентрации 25(OH)D у больных МВ в 2018 г. отмечено, что нормальное содержание витамина D зарегистрировано в половине образцов сыворотки крови в зимний период, несмотря на высокие профилактические дозы, получаемые пациентами. Содержание витамина D в общей группе больных было близко к нижней границе нормы (Таблица 46).

Таблица 46 – Концентрация 25(OH)D (нг/мл) в сыворотке крови детей с муковисцидозом, в 2016 и 2018 гг., $M \pm m$, Me (Q1–Q3)

Показатель	Группа 1 (0–3 лет)	Группа 2 (4–10 лет)	Группа 3 (11–18 лет)	Все дети	p
2016 год	36,4±2,1 32,6 (21,8–36,2)	29,4±2,9 23,7 (15,5–32,4)	19,6±1,2 17,5 (12,4–21,3)	28,1±1,1 22,6 (13,2–32,0)	p ₁₋₂ = 0,007 p ₁₋₃ = 0,004
2018 год	36,0±4,6 34,2 (23,8–45,6)	34,2±5,8 31,6 (22,7–42,2)	25,9±6,7 25,8 (17,0–31,7)	31,8±2,5 28,6 (21,3–40,4)	p ₁₋₃ = 0,005 p ₂₋₃ = 0,005
p между 2016 и 2018 гг. в каждой группе и общей	p > 0,05	p = 0,034	p = 0,015	p = 0,044	
<i>Примечание.</i> Применялся критерий Манна – Уитни					

Обследование детей, страдающих муковисцидозом, в период 2016–2018 гг. показало, что в общей группе детей различного возраста медиана концентрации витамина D в крови статистически значимо выросла в 2018 г. на 21,1 % (p = 0,044). В младшей возрастной группе (0–3 лет) уровень витамина D не изменился, оставаясь в пределах нормы. У детей дошкольного и младшего школьного возраста (4–10 лет) медиана концентрации витамина D выросла в 2018 г. на 33,9% (p = 0,034), а у пациентов подросткового

уровня этот показатель увеличился почти в 1,5 раза в 2018 г. ($p = 0,015$).

Следующим этапом анализа явилось сопоставление числа детей с различным уровнем кальцидиола в зависимости от возраста в 2016 и 2018 гг. Значительных изменений в младшей возрастной группе (0-3 лет) не произошло. В то же время, если в 2016 г. детей с глубоким дефицитом выявлено не было, то в 2018 г. выраженный дефицит был выявлен у 4% детей раннего возраста (Рисунок 22) ($p = 0,001$).

Процент детей средней возрастной группы (4–10 лет) с нормальным уровнем витамина D увеличился в 2 раза ($p = 0,001$). Доля детей с дефицитом сократилась также практически вдвое ($p = 0,003$), с выраженным дефицитом – с 4,5% в 2016 г. до 0,6% в 2018 ($p = 0,001$). Схожие результаты, несмотря на малый объем выборки в 2016 г., получены в старшей возрастной группе (11–18 лет), доля детей с нормальным уровнем витамина D увеличилась в 2,6 раза ($p = 0,001$). Относительное количество детей с дефицитом сократилось в 1,6 раза ($p = 0,015$), а число детей с выраженным дефицитом снизилось в 1,9 раза ($p = 0,027$).

Анализируя содержание витамина D в различные сезоны года 2016 г. и 2018 г., можно отметить, что в 2018 г. дефицит витамина D чаще встречался в зимне-весенний период, реже летом и осенью. Регулярный прием индивидуально подобранных профилактических доз витамина D позволил нивелировать разницу в уровне 25(OH)D в крови между летними и весенне-зимними показателями. В зимний период 2018 г. получено достоверное увеличение доли детей с нормальным содержанием витамина D в 2,1 раза ($p = 0,001$) и снижение доли детей с дефицитом витамина D в 2,2 раза ($p = 0,001$), по сравнению с исследованием 2016 г. В осенний период 2018 г. доля детей с нормальным содержанием витамина D также статистически значимо повысилась в 3,0 раза ($p = 0,001$), а с дефицитом витамина D снизилась в 3,6 раза ($p = 0,001$) по сравнению с исследованием 2016 г. (Рисунок 23).

Таким образом, применение более высоких профилактических доз витамина D в соответствии с рекомендациями Национальной программы «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции», Национального консенсуса по муковисцидозу (2019) и собственными исследованиями, активная просветительская работа среди пациентов и их родителей, при регулярном контроле уровня 25(OH)D в сыворотке крови позволили двукратно снизить процент детей с недостаточностью и дефицитом витамина D в средней (4–10 лет) и старшей (11–18

лет) возрастной группе пациентов с МВ. Тем не менее, доля пациентов с недостаточностью и дефицитом витамина D по-прежнему достигает 42% в средней возрастной группе и 70% у подростков, что показывает необходимость использовать лечебные дозы.

Клинический случай 3

Пациентка 8 лет, место проживания – Московская область, 2016 год.

Диагноз: муковисцидоз (E84.8), смешанная форма. Хронический обструктивный бронхит. Хроническая панкреатическая недостаточность. Хронический риносинусит.

Микробиологический диагноз: Хронический высев *S. aureus*.

Генетический диагноз: F508del/F508del.

Сопутствующий диагноз: Дискинезия желчевыводящих путей.

Диагноз муковисцидоза поставлен по данным положительного неонатального скрининга (ИРТ – 155,1 нг/мл, ретест 76 нг/мл), клинической картины (к 9 месяцам перенесла 3 пневмонии, наблюдался энтеральный синдром в виде частого жирного зловонного стула с рождения, положительной потовой пробы на аппарате Нанодакт – 110 ммоль/л (норма 50 ммоль/л), анализа на панкреатическую эластазу – < 15 мкг/г (норма > 200 мкг/до г). Отмечалось повышение трасаминаз (май 2009 г., 10 мес.) с момента постановки диагноза. При проведении ДНК диагностики в гене *CFTR* выявлена мутация F508del в гомозиготном состоянии. ОРВИ 1-2 раза в год, лечение – амбулаторное.

На осмотре 04.04.2016.: вес 22 кг, рост 132 см, ИМТ 18,6. Общее состояние удовлетворительное. Кашель редкий, малопродуктивный. Одышки нет. Тоны сердца ясные, ритмичные. В легких дыхание везикулярное, проводится во все отделы, хрипов нет. Живот мягкий, безболезненный. Печень +2см от края реберной дуги. Селезенка не пальпируется. На заместительной ферментной терапии стул регулярно 1 раз в день, оформлен, без жира.

Спирометрия – ЖЕЛ – 101%, ОФВ₁ – 97%. SatO₂ – 98%. Общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови – в пределах нормы. В копрологии нейтральный жир не обнаружен. На УЗИ органов брюшной полости увеличение и диффузные изменения печени, характерные для муковисцидоза. Дискинезия желчевыводящих путей.

При анализе 25(ОН)D весной 2016 г. (в день осмотра) в сыворотки крови был получен результат 13,3 нг/мл, что соответствует дефициту витамина D. На момент забора крови ребенок постоянно получал 500МЕ холекальциферола в сутки. По результатам анализа профилактическая доза была увеличена до 2000 МЕ в сутки.

За 2016–2017 гг. в анамнезе перенесенные ОРВИ 3-4 раза в год, лечение амбулаторное, проводилась антибактериальная терапия согласно клиническим рекомендациям.

На осмотре 20.03.2018: вес 26 кг, рост 142 см, ИМТ 16,8. Общее состояние удовлетворительное. Кашель редкий, малопродуктивный. Одышки нет. Тоны сердца ясные, ритмичные. В легких дыхание везикулярное, проводится во все отделы, хрипов нет. Живот мягкий, безболезненный. Печень +2,5 см от края реберной дуги. Селезенка не пальпируется. Стул 1 раз в день, оформлен.

Данные спирометрии – ЖЕЛ – 102%, ОФВ₁ –94%. SatO₂ – 97%. Общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови – в пределах нормы. В копрологии нейтральный жир не обнаружен.

На УЗИ органов брюшной полости увеличение и диффузные изменения печени, характерные для муковисцидоза. Дискинезия желчевыводящих путей. Состояние без отрицательной динамики.

При заборе сыворотки крови 20.03.2018 (весна) для определения 25(ОН)D был получен результат 35,4 нг/мл, что соответствует нормальному содержанию витамина D. На момент забора крови ребенок постоянно получал 2000МЕ холекальциферола в сутки.

Таким образом, применение адекватной профилактической дозы витамина D у пациентки позволило достичь нормального уровня 25(ОН)D в сыворотке крови, несмотря на более подростковый возраст и весенний сезон.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Муковисцидоз является распространенным генетически детерминированным заболеванием, отличающееся прогрессирующим инвалидизирующим течением, что обусловлено как первичным поражением легких и поджелудочной железы, так и присоединением вторично-ассоциированных осложнений, формированием полиорганной недостаточности. Несмотря на большое количество исследований по распространенности дефицита витамина D у пациентов с муковисцидозом во всем мире, а также применяемые рекомендации по профилактике недостаточности и дефицита витамина D в РФ и за рубежом, уровень 25 (ОН)D в сыворотке крови значительной части пациентов с муковисцидозом не достигает нормального уровня (30 нг/мл). Учитывая значение влияния прогормона (витамина) D не только на костную систему и профилактику остеопороза, но и на иммунную систему, разработка программы профилактики дефицита витамина D с учетом всех возможных факторов риска, является особенно актуальной для пациентов с муковисцидозом.

В соответствии с задачами исследования было обследовано 283 пациента с муковисцидозом и 337 здоровых детей в 3 регионах России, расположенных в разных климато-географически зонах, в разные сезоны года.

Обследование пациентов проводили на базе 3 региональных центров муковисцидоза (Московский регион, Красноярский край, Ставропольский край) согласно стандартному плану обследования пациентов с муковисцидозом: генетический анализ, исследование панкреатической эластазы 1, микробиологическое исследование мокроты, спирометрическое исследование (ОФВ1, ФЖЕЛ). Клинико-физиологическая оценка проводилась на основании данных анамнеза, клинического осмотра. Идентификацию бактерий проводили общепринятыми микробиологическими и биохимическими методами, используя алгоритм микробиологической диагностики мокроты, разработанный сотрудниками лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекции ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи [230]. Состояние функции легких анализировали по данным форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) и объема форсированного выдоха за одну секунду (ОФВ1) [231; 232]. Данные о поступлении витамина D с пищей у пациентов с муковисцидозом были получены с помощью анализа 3-дневного меню анкетно-опросным методом. На основании анкет с использованием программы ЭВМ «Мониторинг нутритивного статуса, рациона питания и ферментной терапии» (Свидетель-

ство о государственной регистрации программы для ЭВМ ФИПС № 2016 660762 от 21.09.2016) было рассчитано содержание витамина D в рационе. Данные о продолжительности солнечного сияния (количество солнечных часов в месяц в изучаемые года) были получены из архива метеорологической службы для каждого региона (<http://meteoweb.ru>). Биохимические и генетические исследования осуществлялись в ФГБНУ «МГНЦ». Определение концентрации 25(OH)D в сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы EuroimmunAG (Германия). Определение концентрации АМП (кателицидина LL-37, α -1-3-дефензина (HNP1–3) в сыворотке крови проводилось иммуноферментным методом с помощью наборов Hycultbiotech. Изучение полиморфных вариантов генов 1 фазы биотрансформации ксенобиотиков проводилось с помощью амплификации соответствующих участков генома методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), анализ полиморфных вариантов гена *VDR* проводили методом рестрикционного анализа (ПДРФ). Статистическая обработка проводилась с помощью программы IBM SPSS Statistics и программы MDR 3.0.2 (для исследования ассоциации уровня витамина D с полиморфизмом гена *VDR*).

Результаты исследования в изучаемой выборке здоровых детей показали, что уровень витамина D составил $32,7 \pm 17,5$ нг/мл. В канадском исследовании, географическая широта проведения которого (51°) и белый цвет кожи пациентов позволяют проводить сравнение с российскими данными, средний зимний уровень 25(OH)D составил $23,04 \pm 8,5$ нг/мл [239]. Нормальное содержание 25(OH)D отмечено в 48,5% случаях, недостаточность – 30,1%, дефицит 19,8%, выраженный дефицит – 1,6%. При обследовании 2096 детей от 0–12 лет в Китае дефицит витамина выявлен у 47,47% [240]. Установлено, что с возрастом уровень кальцидиола у здоровых детей снижается с 41,4 нг/мл в раннем возрасте до 26,9 нг/мл у подростков, при этом мальчики-подростки имели достоверно более низкий показатель 25(OH)D по сравнению с девочками этой возрастной группы. Несмотря на полученные результаты, в других российских и европейских исследованиях влияние пола на уровень витамина D не установлено. Отдельно рассматривая возрастные группы нужно отметить, что среди детей младшего возраста снижение содержания 25(OH)D наблюдалось реже, чем в других возрастных группах. Это связано прежде всего с активной индивидуальной профилактикой дефицита витамина D, большинство родителей дают витамин D своим детям только на протяжении первого года жизни, а затем, как правило, профилактика в большинстве случаев прекращается [40–42].

Аналогичная ситуация описана ведущими педиатрами страны, которые считают, что менее проблемной является категория детей младшего возраста, которые получают профилактическую дозу витамина D в течение первого года жизни. Затем старше 1 года наблюдается значительное снижение доли детей, удовлетворительно обеспеченных витамином D, объясняется это массовым прекращением применения профилактических доз препаратов холекальциферола [241]. С завершением профилактики формируется дефицит витамина D, который прогрессирует по мере взросления ребенка. Однако, нужно отметить, что на грудном вскармливании без саплиментации витамином D в первые четыре месяца жизни нарушение метаболизма витамина D манифестирует уже среди 67% детей [51].

Важным фактором, влияющим на уровень витамина D, является сезон года. У здоровых детей от 0–3 лет средний уровень витамина D соответствовал норме во всех сезонах. В группе детей от 4–10 лет достоверно низкий уровень витамина D наблюдался весной по сравнению с летом. У детей старшей возрастной группы средний уровень 25(OH)D был ниже нормы во всех сезонах (Рисунок 5).

Самый низкий уровень отмечен весной и зимой у подростков. Результаты совпадают с проведенными ранее исследованиями [57] и обусловлены с одной стороны максимальной потребностью в витамине D данной возрастной группы, с другой – сниженным поступлением вследствие недостаточной инсоляции, а также низкой физической активностью. Количество детей с нормальным содержанием 25(OH)D было достоверно выше в Московском регионе и Ставропольском крае по сравнению с Красноярским краем (Таблица 16). ($p < 0,05$). В Московском регионе достоверно высокий показатель 25(OH)D наблюдался в летнее время года, а низкий – весной. В Красноярском регионе зимой у детей регистрировался самый высокий средний уровень витамина D, в то время как низкий был выявлен весной. Что, возможно, обусловлено большей приверженностью к профилактике дефицита витамина D у пациентов в зимний период. Высокие показатели 25(OH)D в Ставропольском крае можно объяснить высокой комплаентностью в группе обследованных детей, часть из которых принимала участие в исследованиях по распространенности недостаточности и дефицита витамина D в РФ (Родничок, Родничок 2) [51].

Важнейшим этапом анализа явилось сравнение уровней кальцидиола у здоровых детей в зависимости от приёма суточной дозы холекальциферола (Таблица 17). Уровень 25(OH)D достоверно увеличивается в зависимости от профилактической дозы холекаль-

циферола в зимнее время года. Весной и осенью достоверно низкий уровень зарегистрирован у детей, принимавших 500 МЕ холекальциферола и менее. Летом концентрация 25(OH)D в сыворотке крови детей достигает большего значения при приеме дозы 500–1000 МЕ холекальциферола. Однако только при дозе более 1000 МЕ в зимнее время достигаются нормальные показатели с учетом квартильного размаха (44,60–69,30). Таким образом, доза холекальциферола 1000 МЕ и более в сутки позволяет достичь нормального уровня 25(OH)D у здоровых детей, полученные данные согласуются с проведенными ранее исследованиями и рекомендациями Национальной программы [51, 26, 29].

В данном исследовании не было обнаружено статистически значимой ассоциации между однонуклеотидными полиморфными вариантами генов цитохрома P450: CYP2C9*3, CYP3A4*3, CYP2C9*2, CYP2D6*4, CYP3A4*1B, полиморфизмами TaqI, FokI и BsmI гена *VDR* и уровнем 25(OH)D в сыворотке здоровых детей и подростков, что совпало с данными зарубежных публикаций [192]. Так, в исследовании у 642 здоровых детей Дании не доказано влияние полиморфизма гена *VDR* на уровень витамина D [242]. Аналогичные результаты были получены при обследовании 222 взрослых индивидов в Великобритании [243].

Полученные результаты позволяют заключить, что для здоровых детей, внешние факторы – сезон года, профилактическая доза витамина D, а также возраст, определяют обеспеченность витамином D. Генетические факторы не оказывают влияние на уровень витамина D.

Обеспеченность витамином D детей с муковисцидозом

Впервые в РФ, по результатам исследования содержания витамина D у больных муковисцидозом в 3 регионах, получены данные о высокой частоте недостаточности и дефиците 25(OH)D. При сравнительном анализе данных общей группы вне зависимости от возраста и места проживания уровень 25(OH)D у пациентов с МВ на 7,6% ниже (Таблица 30). Полученные данные сопоставимы с результатами мировых и российских исследований [3–19, 25].

Важным этапом анализа явилось изучение уровня обеспеченности витамином D у детей с МВ с учетом возраста и пола. Обращает на себя внимание тот факт, что уровень кальцидиола становится ниже с возрастом в каждой из изучаемой категории детей: у здоровых он снижается с 41,4 нг/мл в раннем возрасте до 26,9 нг/мл у подростков ($p < 0,001$), а у детей с МВ – с 35,7 нг/мл в раннем возрасте до 24,7 нг/мл соответственно

($p < 0,05$). Совершенно очевидно, что возрастные закономерности обеспеченности витамином D детей с МВ и здоровых в Российской Федерации единообразны – от максимального уровня, достигаемого, как правило, на первом году жизни, на фоне профилактического приёма препаратов холекальциферола, в дальнейшем происходит прогрессирующее снижение, сопровождающееся развитием недостаточности и дефицита витамина D к школьному возрасту и особенно у подростков [18; 25]. При этом подростковый возраст у пациентов с МВ сопровождается снижением ИМТ, показателей ФВД, ростом числа пациентов с грамотрицательной флорой [94].

При муковисцидозе высокая частота недостаточности витамина D связана с нарушением гидроксилирования холе- и эргокальциферола в печени, снижением уровня витамин D-связывающего белка, уменьшением абсорбции витамина D в кишечнике вследствие панкреатической экзокринной недостаточности и синдрома мальабсорбции, ограничением пребывания на солнечном свете из-за фотосенсибилизации при приеме некоторых антибиотиков, снижение возможности депонирования витамина D вследствие недостаточности жировой ткани [23; 87]. Все эти факторы максимально проявляются в подростковом возрасте. Даже в таких странах с высокой инсоляцией, как Бразилия, гиповитаминоз D наблюдается у 60% подростков [56].

Во всем мире существует проблема с низкой информированностью родителей о роли витамина D в организме, источниках его поступления, проявлениях, последствиях дефицита и организации профилактического приема препаратов витамина D. Однако, родители пациентов с муковисцидозом лучше информированы о пользе витамина D в связи с особенностями заболевания.

Подростковый период характеризуется прогрессирующим течением основного заболевания, следствием чего является постепенное снижение уровня кальцидиола в сыворотке крови, которое не может быть компенсировано инсоляцией, как показало наше исследование, или поступлением витамина D с пищевыми продуктами, вследствие чего верифицируется дальнейшее понижение медианы 25(OH)D в интервал, соответствующий дефициту витамина D. Частота тяжелого и умеренного дефицита 25(OH)D у подростков является самой максимальной по сравнению с детьми раннего, дошкольного и младшего школьного возраста.

Данные нарушения у подростков с одной стороны совпадают с временем максимального ростового «скачка» и мощных гормональных изменений в организме ребенка

[38; 144], что может иметь различные негативные последствия, например, увеличение риска реализации метаболического синдрома, сахарного диабета, увеличение риска канцерогенеза во взрослом возрасте и ряда других патологических состояний [244].

Сравнительный анализ частоты осложнений (сахарный диабет, аспергиллез, пневмоторакс, цирроз печени, мекониевый илеус, остеопороз) и применяемой терапии (ингаляционные стероиды, системные стероиды, панкреатические ферменты) у больных МВ не позволил оценить влияния осложнений на уровень 25(ОН)D в связи с недостаточным количеством наблюдений. В аналогичных исследованиях подтверждения влияния панкреатической недостаточности и цирроза на уровень 25(ОН)D у пациентов с муковисцидозом не найдено [14; 245]. Несмотря на то, что Simoneau при обследовании детей в возрасте 6–12 лет с хроническим высевом *P. aeruginosa* выявил достоверное снижение среднего уровня витамина по сравнению с пациентами, неинфицированными синегнойной палочкой (29,6 против 33,2 нг/мл, $p = 0,047$) [245], в нашем исследовании достоверных отличий уровня 25(ОН)D у пациентов с хроническим высевом *P. aeruginosa* не получено.

Установлено, что уровень витамина D оказывает влияние на функцию легких у пациентов с МВ, у пациентов с показателями ЖЕЛ и ОФВ₁ < 80% от должного он был достоверно ниже (Таблица 33). Аналогичные данные были получены в 2011 году при исследовании функции легких у канадских детей и подростков с муковисцидозом, имеющих различный статус витамина D [13]. В исследовании I. Loukoу связь наблюдалась между уровнем 25(ОН)D в сыворотке крови и показателями ОФВ₁ ($p = 0.010$) и FVC ($p = 0.018$), а также лучшим годовым значением ОФВ₁ ($p = 0.034$) [136]. Полученные результаты имеют значение, так как показатели функции легких связаны с уровнем здоровья пациентов и продолжительностью жизни [23; 82–83].

Влияние сезона года, региона проживания и ПСС на обеспеченность витамином D детей с муковисцидозом

При сравнительном анализе данных общей группы вне зависимости от возраста и места проживания в зимний период уровень 25(ОН)D у пациентов с МВ на 20,8% ниже ($p = 0,003$). Статистически достоверных различий по числу обследованных с дефицитом, недостаточностью и нормальной обеспеченностью витамином D в изучаемых регионах, не было.

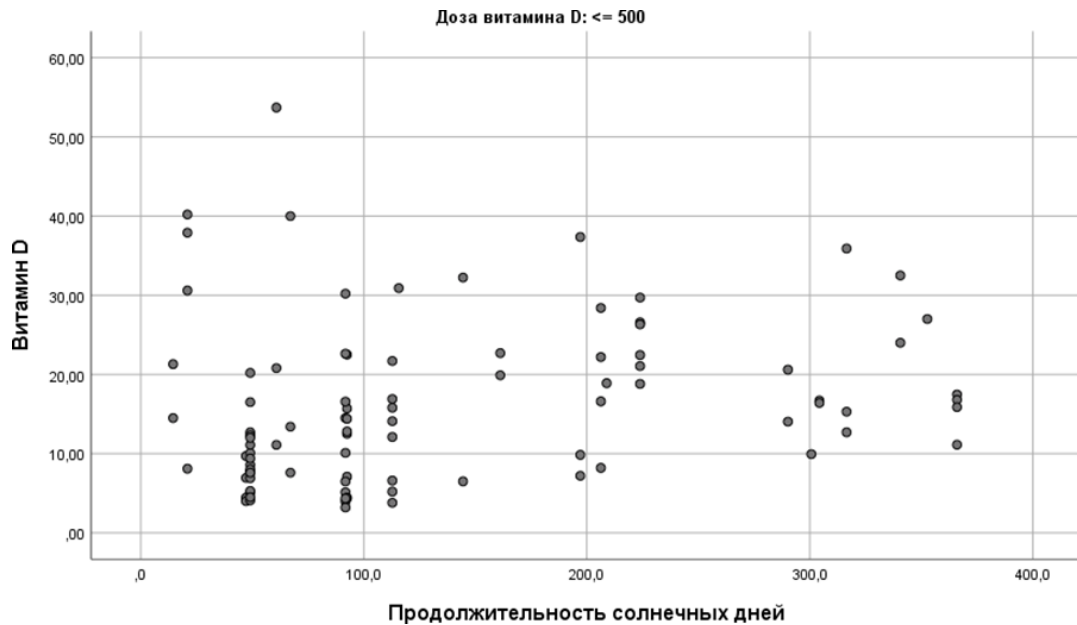
При оценке обеспеченности витамином D пациентов с МВ в различные сезоны года было получено достоверное отличие в содержании 25(OH)D нг/мл у пациентов с МВ в зимний и летний периоды ($p < 0,05$), в весенний и летний периоды ($p < 0,005$), в весенний и осенний периоды ($p < 0,05$) в средней и старшей возрастных группах. Исследования, проведенные в Швеции и Новой Зеландии, подтверждают эти данные [60; 61]. Полученные данные в первую очередь объясняются снижением выработки эндогенного витамина D в коже вследствие недостаточного ультрафиолетового излучения [31; 35; 240], с другой стороны – с сезонными респираторными вирусными инфекциями и бронхо-легочными обострениями, которые характерны для пациентов в зимне-весенний период [246]. При обследовании 92 детей с муковисцидозом в г. Санкт-Петербург с февраля по май 2017 г. у 80% обследованных выявлен гиповитаминоз D менее 30 нг/мл [25].

Наибольшую частоту нормальной обеспеченности витамином D имеют дети московского региона (52%). За Москвой в порядке убывания частота нормального статуса витамина D стоит Красноярск, в котором этот показатель был у 42% детей. Наименьшая доля детей с уровнем кальцидиола более 30 нг/мл выявлена в Ставропольском крае (37%), что связано с организацией профилактики гиповитаминоза D у детей с МВ в регионах.

Не было выявлено очевидной закономерности между уровнем 25(OH)D у детей и широтой расположения региона, при этом минимальный уровень витамина D зафиксирован у детей, проживающих в Ставрополе (43,60 с.ш.), в то время, как у детей, проживающих в Московском регионе и в Красноярском крае он выше. Наибольший уровень 25(OH)D у детей 0–3 лет жизни обнаружен в Москве (29,3 нг/мл). Совершенно очевидно, что вся территория Российской Федерации, находящаяся севернее 420 с.ш., представляет собой зону риска гиповитаминоза D, а его эффективная профилактика должна заключаться в целенаправленном длительном приёме препаратов холекальциферола. Лучшую обеспеченность витамином D в Московском регионе, по сравнению с Красноярским и Ставропольским краем, можно объяснить эффективной организацией динамического наблюдения за пациентами с МВ в Московском регионе с контролем концентрации витамина D в сыворотке крови ежеквартально и использованием адекватных профилактических доз витамина D как базовой составляющей терапии муковисцидоза. Это подтверждает и лучшая обеспеченность витамином D здоровых детей Ставрополь-

ского края в связи с участием в исследовании «Родничок» [51], что коррелировало с количеством дней ПСС в крае.

Установлено влияние продолжительности солнечного сияния (ПСС) на уровень витамина D при отсутствии профилактики и дозе витамина D до 500 МЕ, применение профилактических доз более 500ЕД данное влияние нивелирует (Рисунок 22).



Примечание. Применялся метод Краскала – Уоллеса, $p = 0,005$

Рисунок 22 – Распределение 25(OH)D в зависимости от ПСС в группе больных МВ, получавших профилактическую дозу витамина D до 500МЕ

Таким образом, климато-географическое место проживания пациентов в регионах с различным уровнем инсоляции не имеет значимого влияния на статус витамина D у пациентов с муковисцидозом. Аналогичные выводы были сделаны в исследованиях у здоровых детей в странах с различной инсоляцией [52; 53, 55; 56]. Наибольшее значение имеет организация комплексного лечения пациентов с МВ, включающего профилактику гиповитаминоза витамина D.

Влияние поступления витамина D с пищей и при использовании профилактических доз холекальциферола

При анализе влияния поступления витамина D с пищей и различных профилактических доз холекальциферола на уровень витамина D в сыворотке крови, значимое отличие было получено у пациентов, получающих дозу витамина D 500МЕ и менее ($p = 0,024$ при использовании метода Спирмена). При саплементации более высокими дозами достоверного влияния не получено. Основная часть пациентов (1/2) получала витамин D с пищей в дозе до 0,5 мкг (20МЕ) в сутки, 1/3 – 0,5–2 мкг (20–80 МЕ) в сутки,

остальные – более 2 мкг в сутки (Таблица 34). Учитывая, что на каждые потребленные 40 МЕ (1 мкг) витамина D уровень кальцидиола повышается на 0,5 нг/мл (1,2 нмоль/л) [247], доза витамина D, получаемая с пищей, является незначительной для пациентов с муковисцидозом. Кроме того, программа фортификации продуктов, развитая в европейских странах, не распространена на территории РФ [248].

Важнейшим фактором, определяющим обеспеченность витамином D у детей с муковисцидозом независимо от региона, является лекарственная профилактика гиповитаминоза D, которая в значительной степени зависит от факта, продолжительности приёма и дозировки препаратов холекальциферола. Повсеместное широкое использование в клинической практике Национальной программы с методикой профилактики и лекарственной коррекции позволило существенно сократить частоту гиповитаминоза витамина D у здоровых детей в нашей стране [51].

При оценке влияния профилактической дозы холекальциферола на уровень витамин D были получены данные о различном приросте 25(OH)D у пациентов с МВ и здоровых детей. Доза холекальциферола 500–1000МЕ/сут позволяет достичь нормального уровня 25(OH)D у здоровых детей, у части пациентов с МВ достичь целевого уровня 25(OH)D 50нг/мл удается при назначении более 2000МЕ/сут (Таблица 38, Рисунок 11). Анализ показывает доминирование в структуре использованных доз суточной профилактической дозы 1500–2000 МЕ/сут. Несмотря на проведение профилактических мероприятий, дети с недостаточностью и дефицитом витамина D регистрировались часто, особенно в зимнее время.

Существующие на момент проведения исследования рекомендации по дозированию холекальциферола у детей с муковисцидозом в Российской Федерации [23; 227; 228] не отвечают возрастным потребностям растущего организма, а при достижении подросткового возраста, доза 2000 МЕ/сут, не может считаться эффективной и поддерживать адекватный уровень обеспеченности витамином D. Именно поэтому в возрасте старше 10 лет число детей, получающих витамин D, но имеющих, тем не менее, лабораторно подтверждённый гиповитаминоз, заметно превосходит число детей раннего возраста, принимающих препараты холекальциферола.

Таким образом, результаты исследования показали достоверное влияние возраста, сезона и профилактической дозы холекальциферола на статус витамина D у пациентов с муковисцидозом.

Витамин D и АМП

Эндогенные антимикробные пептиды (АМП) представляют собой небольшие молекулы, построенные из аминокислот, эффективные против широкого спектра бактерий, грибов и вирусов. Действие АМП главным образом приводит к нарушению структуры и функций цитоплазматической мембраны микроорганизмов, что, в свою очередь, ведет к гибели последних. АМП выступают не только в качестве эндогенных антибиотиков, они также играют важную роль в развитии процессов воспаления, поддержании и регуляции адаптивной иммунной системы [158]. Одним из механизмов регуляции иммунной системы витамином D является усиление выработки дефензина $\beta 2$ и кателицидинового антимикробного пептида макрофагами и кератиноцитами (происходят из моноцитов) и повышение их антимикробной активности [163].

Результаты нашего исследования показали, что уровни АМП (HNP 1–3 и LL-37) достоверно повышены у детей с МВ в общей группе по сравнению со здоровыми детьми (Рисунки 12, 13), что связано с иммунным ответом на хронический микробно-воспалительный процесс в дыхательном тракте. В отличие от здоровых детей, содержание HNP 1–3 и LL-37 увеличивается с возрастом у пациентов с муковисцидозом (Рисунок 23), что соответствует литературным данным о повышении АМП при инфекционных заболеваниях и связи с прогрессированием микробно-воспалительного процесса в дыхательном тракте в подростковом возрасте [249; 250].

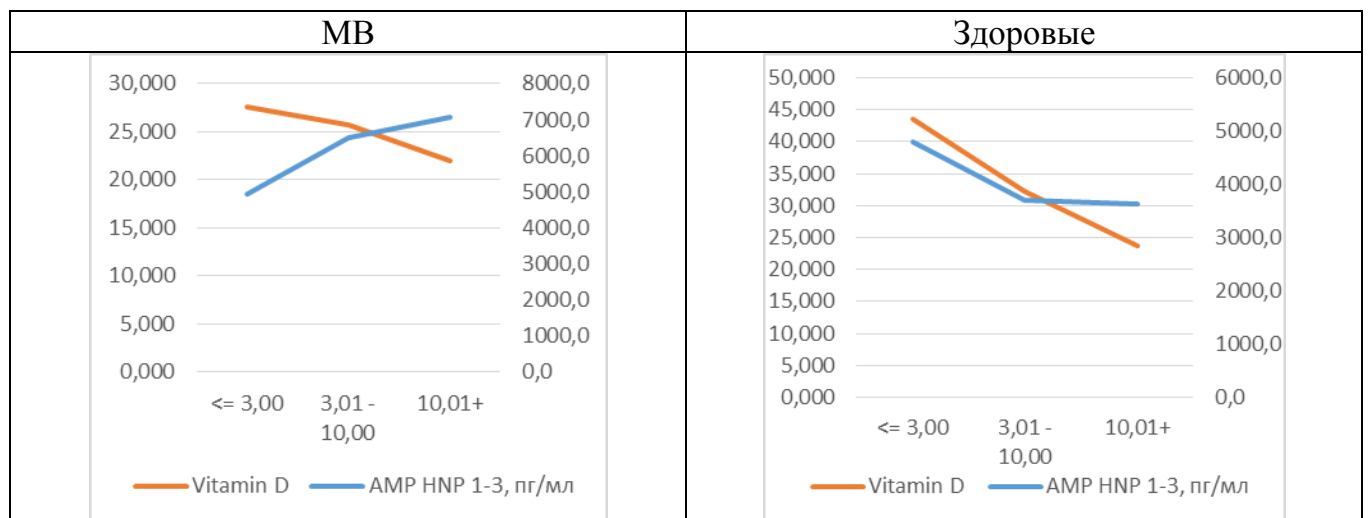


Рисунок 23 – Корреляция уровня витамина D и (HNP1-3, пг/мл) у пациентов с МВ и здоровых детей

При оценке показателей функции дыхания и нутритивного статуса у пациентов с муковисцидозом были получены достоверно более высокие значения кателицидина у

пациентов с низкой функцией ($\text{ОФВ}_1 < 80$) и низкими показателями физического развития (Z -score ИМТ, Z -score роста менее -2δ), а также более высокие показатели дефензинов у пациентов Z -score ИМТ менее -2δ (Рисунок 16, Таблицы 40, 41), что соответствует БЭН. Низкий нутритивный статус при МВ обусловлен высокой степенью катаболизма на фоне хронического воспаления в бронхолегочной системе. Повышение уровня АМП на фоне прогрессирования заболевания является закономерным отражением тяжести состояния пациентов. Уровень α -дефензина был достоверно ниже у пациентов с уровнем $25(\text{ОН})\text{D} > 30$ нг/мл (Рисунок 14), что подтверждает вышеописанные закономерности. Согласно данным Q. Dai и соавт., а также Г. А. Леженко и соавт. у больных (в том числе муковисцидозом) с хроническим высевом *P. aeruginosa* наблюдается более высокий уровень α -дефензинов [251; 252], чем среди неинфицированных пациентов. В нашем исследовании для дефензинов была получена только аналогичная тенденция.

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что уровень АМП (HNP 1–3 и LL-37) достоверно выше у детей с МВ по сравнению со здоровыми детьми и в отличие от здоровых детей, увеличивается с возрастом, что соответствует прогрессированию заболевания. Низкий нутритивный статус и низкая функция легких коррелирует с высоким уровнем кателицидинов и дефензинов. На основании вышеизложенного, уровень АМП (HNP 1–3 и LL-37) можно использовать как маркер тяжести заболевания у пациентов с муковисцидозом.

Влияние генетических факторов на уровень 25(ОН)D

Несмотря на то, что генетические механизмы могут быть причиной дефицита витамина D, генетическое исследование, которое связывает низкий статус витамина D у пациентов с муковисцидозом с полиморфизмом генов 1 фазы биотрансформации и VDR, в нашей стране проведено впервые. Полиморфизм генов витамин D3 25-гидроксилазы или нарушение их экспрессии связывают с дефицитом $25(\text{ОН})\text{D}_3$ в организме [185]. Молекулярные эффекты активированного VDR включают влияние на уровни гормонов, факторов роста и воспаления, белков и, безусловно, на уровни кальция в крови. Установлено существенное воздействие активированного VDR на экспрессию более чем 200 генов; предполагается, что возможно воздействие на экспрессию более 5000 генов [192].

При анализе влияния полиморфных вариантов генов 1 фазы биотрансформации ксенобиотиков *CYP2C9*3*(I359L;1075A > C), *CYP2C9*2*(R144C; 430C > T), *CYP2D6*4*(1846G > A), *CYP3A4* (c.1334T > C), *CYP3A4*1B* (392C > T) на уровень $25(\text{ОН})\text{D}$ здоро-

вых детей и пациентов с МВ зависимости получено не было. Как уже было отмечено выше, ферменты, кодируемые данными генами, участвуют в процессах гидроксирования, однако не влияют на содержание сывороточного витамина D. В обзоре 2016 г. Jolliffe D.A. и соавт. проанализировали связь полиморфизма 11 генов (*DHCR7*, *CYP2R1*, *CYP3A4*, *CYP27A1*, *DBP*, *LRP2*, *CUB*, *CYP27B1*, *CYP24A1*, *VDR* и *RXR α*) с внекостными эффектами и уровнем циркулирующего 25(ОН)D. Статистически значимые ассоциации были зарегистрированы для 55 полиморфных вариантов в 11 исследованных генах [192]. Также в исследовании Elkum N. (1549 человек) было обнаружено, что два полиморфизма *CYP2R1* (rs10500804 и rs12794714) и один GC (rs1155563) были достоверно связаны с уровнем 25(ОН)D в сыворотке крови [253]. Однако, в другом исследовании, Jolliffe D. A., пятнадцати однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в 6 генах (*DBP*, *DHCR7*, *CYP2R1*, *CYP27B1*, *CYP24A1*, *VDR*) ни один из полиморфизмов не подтвердил связь с концентрацией 25(ОН)D в сыворотке крови [243].

Изучение совместного влияния трех полиморфизмов гена *VDR* позволило выявить генотипы, угрожаемые по дефициту витамина D. При муковисцидозе у пациентов с генотипом CC полиморфизма TaqI (с.1206T > C(A > G)) содержание витамина D было достоверно ниже, чем у пациентов с генотипами TT, TC, что сопоставимо с литературными данными [209–212]. Достоверных различий уровня витамина D по полиморфизмам FokI (с.152T > C) и BsmI (с.1174+283G > A) не установлено. При совместном влиянии трех полиморфизмов гена *VDR* наибольший уровень витамина D наблюдается при сочетанном генотипе TaqI (TT) – FokI (TT) – BsmI (GG) в виде увеличения уровня 25(ОН)D на 40,23 нг/мл от среднего у детей исследуемой группы с МВ, а выраженный дефицит отмечен при гаплотипах: TaqI (CC) – FokI (CC) – BsmI (AA), TaqI (TC)– FokI (TT)–BsmI (AA) и TaqI (CC)–FokI (TC) – BsmI (GA).

Результаты проведенного исследования подтверждают влияние на риск дефицита витамина D в первую очередь генотипа CC полиморфизма TaqI (с.1206T > C(A > G)), что неоднократно было описано в литературе [209–212]. В работах отечественных исследователей также установлена ассоциация генотипа VAtVAt и bATbAT полиморфизмов FokI, BsmI, ApaI, TaqI с постменопаузальным остеопорозом и риском остеопоротических переломов [220]. Влияние сочетания трех полиморфизмов гена *VDR* у пациентов с муковисцидозом в РФ на уровень витамина D описано впервые. Полученные данные

могут быть полезны при подборе дозы витамина D в случае неэффективности применения терапевтических доз и выраженном дефиците витамина D.

Исследование эффективности профилактики дефицита витамина D при МВ в 2016–2018 годах

В работе проведен сравнительный анализ обеспеченности витамином D больных с МВ, которые наблюдались в Московском регионе в 2016–2018 году. В соответствии с целью исследования повысить эффективность профилактики недостаточности витамина D, в 2018 году были увеличены профилактические дозы витамина D с учетом вышеописанных рекомендаций [26; 29].

Проводилась активная просветительская работа среди пациентов и их родителей, при регулярном контроле уровня 25(ОН)D в сыворотке крови. Было показано, что в общей группе детей различного возраста содержание витамина D значительно выросло с 22,6 нг/мл в 2016 г. до 28,6 нг/мл в 2018 г. ($p = 0,044$). У детей дошкольного и младшего школьного возраста (4–10 лет) медиана концентрации витамина D выросла в 2018 г. на 33,9% ($p = 0,034$), а у пациентов подросткового уровня этот показатель увеличился почти в 1,5 раза в 2018 г. ($p = 0,015$) (Рисунок 20).

Регулярный прием индивидуально подобранных профилактических доз витамина D позволил нивелировать разницу в уровне 25(ОН)D в крови между летними и весенне-зимними показателями. В зимний период 2018 г. было получено достоверное увеличение доли детей с нормальным содержанием витамина D в 2,1 раза ($p = 0,001$) и снижение доли детей с дефицитом витамина D в 2,2 раза ($p = 0,001$), по сравнению с исследованием 2016 г. (Рисунок 21).

Аналогичные результаты были получены в работе L.Norton при сравнении уровня 25(ОН)D у пациентов с муковисцидозом в 2010 и 2011 году, где доля пациентов с дефицитом витамина D снизилась в результате увеличения профилактических доз холекальциферола [13].

Исследования показали, что применение более высоких профилактических доз витамина D (детям 4–10 лет было рекомендовано использовать дозу 1500–2000 МЕ/сут, с 10 лет – от 2000 МЕ/сут (лето, осень) до 4000 МЕ/сут (зима, весна); активная просветительская работа среди пациентов и их родителей, при регулярном контроле уровня 25(ОН)D в сыворотке крови, позволили сократить долю детей с недостаточностью и дефицитом витамина D в группах пациентов с муковисцидозом 4–10 лет и 11–18 лет. Од-

нако у пациентов средней и подростковой группы нормальные показатели витамина D (> 30 нг/мл) по-прежнему имеют только 58% и 30% детей соответственно.

В результате анализа всех вышеперечисленных данных, на основе изученных молекулярных механизмов, экологических и внутренних факторов, была создана модель развития дефицита витамина D при муковисцидозе (Рисунок 23) и алгоритм диагностики и подбора профилактических доз холекальциферола (Рисунок 24). В модели отражены следующие факторы риска: возраст (дети старше 4 лет), сезон года (зима, весна, осень), отсутствие приема или низкая профилактическая доза холекальциферола, гаплотипы гена *VDR* TaqI (CC) – FokI (CC) – BsmI (AA), TaqI (TC) – FokI (TT) – BsmI (AA) и TaqI (CC) – FokI (TC) – BsmI (GA). Также указано влияние низкого уровня витамина D на содержание АМП как маркера тяжелого течения МВ (повышение) и функцию легких (снижение).



Рисунок 23 – Модель развития дефицита витамина D при муковисцидозе

Алгоритм диагностики и подбора профилактической дозы представлен на Рисунке 24 и учитывает наличие факторов риска в каждой возрастной группе. Детям с муковисцидозом 0–3 лет при отсутствии факторов риска рекомендуется профилактическая доза холекальциферола 1500 МЕ в сутки и обследование в зимний период, при наличии факторов риска – 2000 МЕ в сутки и обследование 2 раза в год. Для детей средней возрастной группы рекомендуемые дозы при наличии и отсутствии факторов риска составляют 2000 МЕ и 3000 МЕ соответственно (обследование зимой и 2 раза в год соответственно), для подростков – 3000 МЕ и 4000 МЕ в сутки соответственно (обследование 4 раза в год).



Примечание. Доза витамина D 500–1000 МЕ в алгоритм не включена из-за отсутствия эффекта

Рисунок 24 – Алгоритм диагностики и подбора профилактической дозы холекальциферола для детей и подростков с муковисцидозом

Таким образом, при проведении многоцентрового исследования обеспеченности здоровых детей и пациентов с муковисцидозом в трех регионах РФ, рекомендуемый уровень 25(OH)D был выявлен у 48,5% здоровых детей и 49,3% детей с муковисцидозом.

Факторами, оказывающими существенное влияние на обеспеченность витамином D детей с муковисцидозом в Российской Федерации, являются возраст (> 3 лет), сезон года (весна, зима), профилактическая доза холекальциферола (менее 500 МЕ для здоровых и 1000МЕ для пациентов с МВ) и гаплотипы полиморфных вариантов гена *VDR*. При этом статус витамина D при МВ не зависит от пола, климато-географических особенностей региона проживания, поступления витамина D с пищей, ПСС и полиморфизмов гена 1 фазы метаболизма ксенобиотиков. На основе комплексного подхода к изучению факторов, влияющих на уровень витамина D была создана модель развития дефицита витамина D при муковисцидозе.

Для решения поставленных задач был создан алгоритм диагностики дефицита витамина D у детей с муковисцидозом в различные возрастные периоды с учетом факторов риска.

Персонализированный подход к подбору профилактической дозы витамина D, указанный в алгоритме, может обеспечить адекватный уровень кальцидиола и профилактировать недостаточность витамина D независимо от региона проживания и питания ребенка.

Выводы

1. Результаты исследования показали, что уровень витамина D у здоровых детей составил $32,7 \pm 17,5$ нг/мл. Нормальное содержание 25(OH)D отмечено в 48,5% случаях, недостаточность – 30,1%, дефицит 19,8%, выраженный дефицит – 1,6%. Уровень 25(OH)D снижается с возрастом: с 41,4 нг/мл в раннем возрасте до 26,9 нг/мл у подростков.

2. Установлено, что среди пациентов с муковисцидозом, проживающих в трех регионах Российской Федерации, дефицит витамина D выявлен в 40,1%, недостаточность – в 27,1%, нормальная обеспеченность зарегистрирована лишь у 32,1%. Уровень 25(OH)D снижается с возрастом: с 35,7 нг/мл у детей от 0–3 лет, 31,1 нг/мл – у детей от 4–10 лет, до 24,7 нг/мл у подростков.

3. Доказано, что сезон года достоверно влиял на обеспеченность детей витамином D: в летний сезон уровень 25(OH)D составлял 36,0 нг/мл, осенью 29,8 нг/мл, зимой 28,4 нг/мл, весной 27,5 нг/мл ($p < 0,05$). Взаимосвязь между обеспеченностью витамином D и географическим расположением исследовательского центра не подтверждена, а определяется организацией профилактики гиповитаминоза D и дозой холекальциферола.

4. Обеспеченность витамином D определяет функцию легких, не зависит от хронической граммотрицательной инфекции. Уровень HNP 1–3 при муковисцидозе повышен 1,6 раза, а LL-37 в 1,4 раза по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$), увеличивается с возрастом ($p < 0,001$) и находится в обратной зависимости от уровня 25(OH)D.

5. Не обнаружено влияние полиморфизмов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков (CYP2C9*3 (1075A > C; I359L), CYP2C9*2 (430C > T; R144C), CYP2D6*4 (1846G > A), CYP3A4*1B (-392C > T), CYP3A4 (c.1334T > C)) на уровень 25(OH)D в группе здоровых детей и при муковисцидозе.

6. Установлено низкое содержание 25(OH)D при CC генотипе (CC – 21,9 нг/мл против TT – 30,0, CT – 29,0, $p = 0,014$) полиморфизма *VDR* с.1206T > C (A > G) – TaqI. Выявлены гаплотипы, угрожаемые по дефициту витамина D, включающие три полиморфизма гена *VDR* (TaqI (CC) – FokI (CC) – BsmI (AA), TaqI (TC) – FokI (TT) – BsmI (AA), TaqI (CC) – FokI (TC) – BsmI (GA)).

7. Предложена модель развития дефицита витамина D при муковисцидозе на основе изученных молекулярных механизмов, экологических и внутренних факторов, а также алгоритм диагностики и профилактики на основе комплекса полученных данных.

8. Показана эффективность организации профилактики гиповитаминоза D при муковисцидозе с помощью разработанного алгоритма в период с 2016 по 2018 гг. в виде увеличения уровня витамина D на 34% у пациентов 4–10 лет и в подростковой группе на 50%, нивелирована разница в уровне витамина в летний, весенний и зимний сезон.

Практические рекомендации

Степень гиповитаминоза D устанавливается в соответствии с рекомендациями Международного общества эндокринологов [Holick M. F., 2011].

Группы риска и сезоны года, угрожаемые по гиповитаминозу D:

1. Пациенты старше 4 лет, особенно подростки.
2. Весенний, зимний и осенний период.
3. Генетические маркеры:
 - носители генотипа CC полиморфизма *VDR* с.1206T > C(A > G) – TaqI; или
 - носители гаплотипов гена *VDR*:
 - TaqI (CC) – FokI (CC) – BsmI (AA)
 - TaqI (TC) – FokI (TT) – BsmI (AA)
 - TaqI (CC) – FokI (TC) – BsmI (GA)

II. Динамический контроль уровня 25(OH)D:

- рекомендован 4 раза в год детям старше 3 лет
- 1-2 раза детям до 3 лет

III. Профилактическая доза витамина D:

- для детей 1 года жизни – 1000 МЕ/сут,
- 1–3 года – 1500 МЕ/сут,
- 3–10 лет – 2000–3000 МЕ/сут,
- 10 лет – от 3000 (лето, осень) до 4000 (зима, весна) МЕ/сут.

V. При отсутствии эффекта от профилактической дозы витамина D терапевтическую дозу рекомендовано назначать после определения генотипа полиморфизма *VDR* с.1206T > C(A > G) – TaqI и /или гаплотипа полиморфизмов гена *VDR* (с.1206T > C(A > G), (с.152T > C), (с.1174+283G > A).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМП – антимикробные пептиды

БЭН – белково-энергитическая недостаточность

ЖЕЛ – жизненная емкость легких

ИМТ – индекс массы тела

МВ – муковисцидоз

МРИ – массо-ростовой индекс

ПТГ – паратиреоидный гормон

ПСС – продолжительность солнечного сияния

СОП – стандартная операционная процедура

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

25(ОН)D – 25-гидроксикальциферол

CFTR – ген муковисцидозного трансмембранного регулятора

FEV₁ – forced expiratory volume 1-second

FVC – functional vital capacity

HNP1-3 – дефензин HNP 1-3

LL-37 – кателицидин LL-37

VDR – ген рецептора витамина D

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громова, О. А. Метаболиты витамина D: роль в диагностике и терапии витамин D-зависимой патологии // О. А. Громова, И. Ю. Торшин, И. К. Томилов [и др.] // Практическая медицина. – 2017. – № 5 (106). – С. 4–10.
2. Пигарова, Е. А. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых / Е. А. Пигарова, Л. Ю. Рожинская, Ж. Е. Белая [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62, № 4. – С. 60–84.
3. Тихонова, О. А. Особенности костно-мышечной патологии у детей / О. А. Тихонова, Н. Ю. Крутикова // Смоленский медицинский альманах. – 2017. – № 3. – С. 107–110.
4. Christakos, S. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and plei-otropic effects / S. Christakos, P. Dhawan, A. Verstuyf [et al.] // *Physiol. Rev.* – 2016. – Vol. 96, N 1. – P. 365–408.
5. Iftikhar, R. Vitamin D deficiency in patients with tuberculosis / R. Iftikhar, S. M Kamar, A. Qadir. // *J. Coll. Physicians Surg. Pak.* – 2013. – Vol. 23, N 10. – P. 780–783.
6. Bergman, P. Vitamin D3 supplementation in patients with frequent respiratory tract infections: a randomised and double-blind intervention study / P. Bergman, A.C. Norlin, S. Hansen [et al.] // *BMJ Open.* – 2012. – Vol. 2, N 6. – P. 1–10.
7. Zheng, Z. H. High prevalence of hypovitaminosis D of patients with autoimmune rheumatic diseases in China / Z. H. Zheng, C. C. Gao, Z. Z. Wu [et al.] // *Am. J. Clin. Exp. Immunol.* – 2016. – Vol. 5, N 3. – P. 48–54.
8. Cairncross, C. The relationship between vitamin D status and allergic diseases in New Zealand preschool children / C. Cairncross, C. Grant, W. Stonehouse [et al.] // *Nutrients.* – 2016. – Vol. 8, N 6. – P. 1–13.
9. Turkeli, A. Effects of vitamin D levels on asthma control and severity in pre-school children / A. Turkeli, O. Ayaz, A. Uncu [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol. 20, N 1. – P. 26–36.
10. Castro, F. D. Lower levels of vitamin d correlate with clinical disease activity and quality of life in inflammatory bowel disease / F. D. Castro, J. Magalhães, P. B. Carvalho [et al.] // *Arq. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 52, N 4. – P. 260–265.
11. Antico, A. Hypovitaminosis D as Predisposing Factor for Atrophic Type A Gastritis: a Case–Control Study and Review of the Literature on the Interaction of Vitamin D with the Immune System / A. Antico, R. Tozzoli, D. Giavarina [et al.] // *Clin. Rev. Allergy. Immunol.* – 2012. – Vol. 42, N 3. – P. 355–364.
12. Manson, J. E. Vitamin D supplements and prevention of cancer and cardiovascular disease / J. E. Manson, N. R. Cook, I.-M. Lee, [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2018. – Vol. 3. – P. 33–44.
13. Norton, L. [et al.] Prevalence of inadequate vitamin d status and associated factors in children with cystic fibrosis / L. Norton [et al.] // *Nutr. Clin. Pract.* – 2015. – N 30. – P. 111–116.
14. Rovner, A. J. Vitamin D insufficiency in children, adolescents, and young adults with cystic fibrosis despite routine oral supplementation / A. J. Rovner, V. A. Stallings, J. I. Schall [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2007. – N 86. – P. 1694–1699.
15. Holick, M. F. Disorders, the vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention / M. F Holick // *International Journal of endocrinology.* – 2017. – N 18. – P. 153–165.
16. Угай, Л. Г. Витамин D и болезни органов дыхания: молекулярные и клинические аспекты / Л. Г Угай, Е. А. Кочеткова, В. А. Невзорова // *Дальневосточный медицинский журнал.* – 2012. – № 3. – С. 115–119.
17. Баранова, И. А. Остеопороз при муковисцидозе: меры профилактики и терапевтические возможности / И. А. Баранова, Е. И. Кондратьева, С. А. Красовский // *Пульмонология.* – 2017. – Т. 27, № 4. – С. 537–545.
18. Ашерова, И. К. Нарушение обмена витамина D у детей и подростков с муковисцидозом / И. К. Ашерова, О. Б. Ершова, Е. А. Охупкина, К. Ю. Белова // *Педиатрия.* – 2012. – Т. 91, № 2. – С. 36–39.

19. Chesdachai, S. Treatment of vitamin D deficiency in cystic fibrosis / S. Chesdachai, V. Tangpricha // *J. Steroid. Biochem. Mol.* – 2016. – N 164. – P. 36–39.
20. Sexauer, W. P. Vitamin D deficiency is associated with pulmonary dysfunction in cystic fibrosis / W. P. Sexauer, A. Hadeh, P. A. Ohman-Strickland [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2015. – N 14. – P. 497–506.
21. Timmers, N. Vitamin D intake, serum 25-hydroxy vitamin D and pulmonary function in paediatric patients with cystic fibrosis: a longitudinal approach / N. Timmers, R.K. Stellato, C.K. Van der Ent [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2019. – Vol. 121, N 2. – P. 195–201.
22. Abu-Fraiha, Y. Increasing Vitamin D Serum Levels Is Associated With Reduced Pulmonary Exacerbations in Patients With Cystic Fibrosis / Y. Abu-Fraiha, H. Elyashar-Earon, D. Shoseyov [et al.] // *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* – 2019. – Vol. 68, N 1. – P. 110–115.
23. Кондратьева, Е. И. Национальный консенсус. Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия / Е. И. Кондратьева, Н. Ю. Каширская, Н. И. Капранов (коорд.). – М. : Боргес, 2016. – 205 с.
24. Габруская, Т. В. Влияние ТаqI-генетического полиморфизма гена рецептора витамина D на состояние костного метаболизма у детей с воспалительными заболеваниями кишечника / Т. В. Габруская, М. М. Костик, Ю. А. Насыхова [и др.] // *Педиатр.* – 2017. – Т. 8, № 3. – С. 111–115.
25. Пашкевич, А. А. Дефицит витамина D у детей с муковисцидозом / А. А. Пашкевич, Т. С. Борисенко, И. В. Кайстря [и др.] // *Лечение и профилактика.* – 2018. – Т. 8, № 25. – С. 5–12.
26. Национальная программа «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» / Союз Педиатров России [и др.]. – М. : ПедиатрЪ, 2018. – 96 с.
27. Рожинская, Л. Я. Роль кальция, витамина D и его активных метаболитов в профилактике и лечении остеопороза. Эффективная фармакотерапия / Л. Я. Рожинская. // *Эндокринология.* – 2007. – № 2. – С. 10–12.
28. Петрушкина, А. А. Эпидемиология дефицита витамина D в Российской Федерации / А. А. Петрушкина, Е. А. Пигарова, Л. Я. Рожинская // *Остеопороз и остеопатии.* – 2018. – Т. 21, № 3. – С. 15–20.
29. Tangpricha, V. An update on the screening, diagnosis, management, and treatment of vitamin D deficiency in individuals with cystic fibrosis: evidence-based recommendations from the Cystic Fibrosis Foundation / V. Tangpricha, A. Kelly, A. Stephenson [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – N 97 (4). – P. 1082–1093.
30. Rizzoli, R. Vitamin D supplementation in elderly or postmenopausal women: a 2013 update of the recommendations from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) / R. Rizzoli, S. Boonen, M.-L. Brandi [et al.] // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2013. – Vol. 29, N 4. – P. 305–313.
31. Cashman, K. D. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? / K. D. Cashman, K. G. Dowling, Z. Škrabáková [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2016. – Vol. 103, N 4. – P. 1033–1044.
32. Crowe, F. L. Trends in the incidence of testing for vitamin D deficiency in primary care in the UK: a retrospective analysis of The Health Improvement Network (THIN), 2005–2015 / F.L. Crowe, K. Jolly, C. MacArthur [et al.] // *BMJ Open.* – 2019. – Vol. 9, N 6.
33. Roth, D. E. Are national vitamin D guidelines sufficient to maintain adequate blood levels in children? / D.E. Roth, P. Martz, R. Yeo. [et al.] // *Can. J. Public. Health.* – 2005. – N 96. – P. 443–449.
34. Kumar, J. Prevalence and associations of 25-hydroxyvitamin D deficiency in US children: NHANES 2001 – 2004 / J. Kumar, P. Muntner, F.J. Kaskel [et al.] // *Pediatrics.* – 2009. – Vol. 124. – P. 362–370
35. Van der Sluis, I. M. A cross-sectional study on biochemical parameters of bone turnover and vitamin D metabolites in healthy Dutch children and young adults / I. M. Van der Sluis, W. Hop, J. Van Leeuwen [et al.] // *Horm. Res.* – 2002 – Vol. 57, N 6. – P. 170–179.
36. Cinar, N. Vitamin D status and seasonal changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in office workers in Ankara, Turkey / N. Cinar, A. Harmanci, O. Bulent // *Eur. J. Intern. Med.* – 2014. – Vol. 25, N 2. – P. 197–201.

37. Ardawi, M. S. High prevalence of vitamin D deficiency among healthy Saudi Arabian men: relationship to bone mineral density, parathyroid hormone, bone turnover markers, and lifestyle factors / M. S. Ardawi, A. M. Sibiany, T. M. Bakhsh [et al.] // *Osteoporos Int.* – 2012. – Vol. 23, N 2. – P. 675–686.
38. Малявская, С. И. Особенности параметров фосфорно-кальциевого обмена при различных уровнях 25 (ОН)D у детей и подростков, проживающих в условиях арктической зоны Российской Федерации / С. И. Малявская, Г. Н. Кострова, А. В. Стрелкова [и др.] // *Экология человека.* – 2018. – № 12. – С. 26–31.
39. de Borst, M. H. Vitamin D deficiency: universal risk factor for multifactorial diseases? / M. H. de Borst, R. A. de Boer, R. P. Stolk [et al.] // *Curr. Drug Targets.* – 2011. – Vol. 12, N 1. – P. 97–106.
40. Захарова, И. Н. Эффективность профилактики гиповитаминоза D у детей первого года жизни: роль вскармливания, влияние дозы и длительности применения препаратов холекальциферола / И. Н. Захарова, Л. Я. Климов, В. А. Курьянинова [и др.]. // *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского.* – 2016. – № 95 (6). – С. 62–70.
41. Захарова, И. Н. Обеспеченность вита-мином D детей грудного возраста / И. Н. Захарова, Л. Я. Климов, В. А. Курьянинова [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* – 2016. – Т. 61, № 6. – С. 68–76.
42. Мальцев С. В. Обеспеченность витамином D детей первого года жизни и коррекция его дефицита / С. В. Мальцев, А. М. Закирова, Г. Ш. Мансурова // *Вестник современной клинической медицины.* – 2016. – Т. 9, № 2. – С. 61–64.
43. Климов, Л. Я. Статус витамина D у детей юга России в осенне-зимнем периоде года / Л. Я. Климов, И. Н. Захарова, В. А. Курьянинова [и др.] // *Медицинский совет.* – 2015. – № 14. – С. 14–19.
44. Спиричев, В. Б. О биологических эффектах витамина D / В. Б. Спиричев // *Педиатрия.* – 2011. – Т. 90, № 6. – С. 113–119.
45. Торшин, И. Ю. Физиологическая модель взаимосвязь витамина D3 с онкологическими заболеваниями и данные доказательной медицины / И. Ю. Торшин, О. А. Громова // *Трудный пациент.* – 2008. – Т. 6, № 11. – С. 21–25.
46. Захарова, И. Н. Известные и неизвестные эффекты витамина D / И. Н. Захарова, С. В. Яблочкова, Ю. А. Дмитриева // *Вопросы современной педиатрии.* – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 20–25.
47. Desai, N. S. Effects of sunlight and diet on vitamin D status of pulmonary tuberculosis patients in Tbilisi, Georgia / N. S. Desai, N. Tukvadze, J. K. Frediani [et al.] // *Nutrition.* – 2012. – Vol. 28, N 4. – P. 362–366.
48. Faurshou, A. The relation between sunscreen layer thickness and vitamin D production after ultraviolet B exposure: a randomized clinical trial / A. Faurshou, D. M. Beyer, A. Schmedes [et al.] // *Brit. J. Dermatol.* – 2012. – Vol. 167, N 2. – P. 391–395.
49. Urashima, M. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren / M. Urashima, T. Segawa, M. Okazaki [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2010. – № 91. – P. 1255–1260.
50. Корчина, Т. Я. Обеспеченность витамином D женщин Тюменского Севера / Т. Я. Корчина, А. С. Сухарева, В. И. Корчин, В. В. Лапенко // *Экология человека.* – 2019. – № 5. – С. 31–36.
51. Захарова, И. Н. Недостаточность витамина d у детей раннего возраста в России (результаты многоцентрового исследования – зима 2013–2014 гг.) / И. Н. Захарова, С. В. Мальцев, Т. Э. Боровик [и др.] // *Вопросы фармакоэпидемиологии.* – 2014. – Т. 13, №6. – С. 75–80.
52. Малявская, С. И. Обеспеченность витамином D детей раннего возраста Архангельской области / С. И. Малявская, Г. Н. Кострова, А. В. Лебедев [и др.] // *Экология человека.* – 2016. – № 11. – С. 18–22.
53. Cashman, K. D. Is vitamin D deficiency a public health concern for low middle income countries? A systematic literature review / K. D. Cashman, T. Sheehy, C. M. O'Neill // *Eur. J. Nutr.* – 2019. – Vol. 58, N 1. – P. 433–453.

54. Saliba, W. Serum 25(OH)D concentrations in sunny Israel / W. Saliba, H. S. Rennert, A. Kershenbaum [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2012. – Vol. 23, N 2. – P. 687–694.
55. Palacios, C. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? / C. Palacios, L. Gonzalez // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 144, pt. A. – P. 138–145.
56. Peters, B. S. Prevalence of vitamin D insufficiency in Brazilian adolescents / B.S. Peters, L.C. dos Santos, M. Fisberg [et al.] // *Ann. Nutr. Metab.* – 2009. – Vol. 54, N 1. – P. 15–21.
57. Захарова, И. Н. Недостаточность витамина D у подростков: результаты круглогодичного скрининга в Москве / И. Н. Захарова, Т. М. Творогова, О. А. Громова [и др.] // *Педиатрическая фармакология.* – 2015. – № 5. – P. 528–531.
58. Берестовская, В. С. Внесезонная недостаточность витамина D3 у детей и подростков Москвы / В. С. Берестовская, Е. С. Ларичева, Ю. В. Хлехлина // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2012. – № 12. – P. 5–7.
59. Karohl, C. Heritability and seasonal variability of vitamin D concentrations in male twins / C. Karohl [et al.] // *The American Journal of Clinical Nutrition.* – 2010. – Vol. 92, N 6. – P. 1393–1398.
60. Kull, M. Seasonal variance of 25(OH) vitamin D in the general population of Estonia a Northern European country / M. Kull, R. Kallikorm, A. Tamm, M. Lember // *BMC Public Health.* – 2009. – N 19. – P. 9–22.
61. Rockell, J. E. Season and ethnicity are determinants of serum 25 hydroxyvitamin D concentrations in New Zealand children aged 5–14 year / J. E. Rockell, T. J. Green, C. M. Skeaff [et al.] // *J. Nutr.* – 2005. – Vol. 135, N 11. – P. 2602–2608.
62. Snellman, G. Seasonal genetic influence on serum 25-hydroxyvitamin D levels: a twin study / G. Snellman, H. Melhus, R. Gedeberg [et al.] // *PLoS ONE.* – 2009. – N 4. – P. e7747.
63. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. Nutrient Data Laboratory Home Page. – URL: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.
64. Ovesen L., Brot C., Jakobsen J. Food contents and biological activity of 25-hydroxyvitamin D: a vitamin D metabolite to be reckoned with? / L. Ovesen, C. Brot, J. Jakobsen // *Ann. Nutr. Metab.* – 2003. – N 47. – P. 107–113.
65. Calvo, M. S. Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs / M. S. Calvo, S. J. Whiting, C. N. Barton // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2004. – N 80. – P. 1710–1716.
66. Jääskeläinen, T. The positive impact of general vitamin D food fortification policy on vitamin D status in a representative adult Finnish population: evidence from an 11-y follow-up based on standardized 25-hydroxyvitamin D data / T. Jääskeläinen, S. T. Itkonen, A. Lundqvist [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2017. – Vol. 105, N 6. – P. 1512–1520.
67. Black, L. J. An updated systematic review and meta-analysis of the efficacy of vitamin D food fortification / L. J. Black, K. M. Seamans, K. D. Cashman [et al.] // *J. Nutr.* – 2012. – Vol. 142, N 6. – P. 1102–1108.
68. Vaughan-Shaw, P. G. Low plasma vitamin D is associated with adverse colorectal cancer survival after surgical resection, independent of systemic inflammatory response / P. G. Vaughan-Shaw, L. Zgaga, L. Y. Ooi [et al.] // *Gut.* – 2020. – Vol. 69, N 1. – P. 103–111.
69. Zhang, Y. Association between vitamin D supplementation and mortality: systematic review and meta-analysis / Y. Zhang, F. Fang, J. Tang [et al.] // *BMJ.* – 2019. – Vol. 12, N 366. – P. 14673.
70. Aspelund, T. Effect of genetically low 25-hydroxyvitamin D on mortality risk: mendelian randomization analysis in 3 large european cohorts / T. Aspelund, M. R. Grubler, A. V. Smith [et al.] // *Nutrients.* – 2019. – Vol. 11, N 1. – P. 74.
71. Federico, G. Vitamin D status, enterovirus infection, and type 1 diabetes in Italian children/adolescents / G. Federico, A., Genoni A. Puggioni [et al.] // *Pediatr Diabetes.* – 2018. – Vol. 19. – P. 923–929.
72. Pittas, A. G., Dawson-Hughes B., Sheehan P. [et al.] Vitamin D supplementation and prevention of type 2 diabetes / A. G. Pittas, B. Dawson-Hughes, P. Sheehan [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2019. – N 381. – P. 520–530.

73. Новиков, П. В. Рахит и наследственные рахитоподобные заболевания у детей: диагностика, лечение, профилактика / П. В. Новиков. – М. : Триада-Х, 2006. – 336 с.
74. Васильева, Т. Г. Патогенетические аспекты остеопении при ювенильных артритах / Т. Г. Васильева, Ф. Ф. Антоненко // Педиатрия. – 2007. – Т. 86, № 6. – С. 123–128.
75. McCauley, L. A. Vitamin D deficiency is associated with pulmonary exacerbations in children with cystic fibrosis / L. A. McCauley, W. Thomas, T. A. Laguna, [et al.] // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2014. – Vol. 11, N 2. – P. 198–204.
76. Wani, W. A. Vitamin D status correlates with the markers of cystic fibrosis-related pulmonary disease / W. A. Wani, M. Nazir, J. I. Bhat [et al.] // *Pediatr Neonatol.* – 2018. – Vol. 60, N 2. – P. 210–215.
77. Martineau, A. R. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data / A. R. Martineau, D. A. Jolliffe, R. L. Hooper [et al.] // *BMJ.* – 2017. – N 356. – P. i6583.
78. Cariolou, M. Importance of vitamin D in acute and critically ill children with subgroup analyses of sepsis and respiratory tract infections: a systematic review and meta-analysis / M. Cariolou, M. A. Cupp // *Crit. care.* – 2019. – N 9. – P. e027666.
79. Sagel, S. D. Airway inflammation in children with cystic fibrosis and healthy children assessed by sputum induction / S. D. Sagel, R. Kapsner, I. Osberg [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 164. – P. 1425–1431.
80. McGarvey, L. Cytokine concentrations and neutrophil elastase activity in bronchoalveolar lavage and induced sputum from patients with cystic fibrosis, mild asthma and healthy volunteers / L. McGarvey, K. Dunbar, S. L. Martin [et al.] // *J. Cystic. Fibrosis.* – 2002. – Vol. 1. – P. 269–275.
81. Verhaeghe, C. Role of IKK and ERK pathways in intrinsic inflammation of cystic fibrosis airways / C. Verhaeghe, C. Remouchamps, B. Hennuy [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 73, N 12. – P. 1982–1994.
82. Elborn, J. S. Cystic fibrosis / J. S. Elborn // *Lancet.* – 2016 – Vol. 388. – P. 2519–2531.
83. Goss, C. H. Exacerbations in cystic fibrosis: epidemiology and pathogenesis / C. H. Goss, J. L. Burns // *Thorax.* – Vol. 62. – P. 360–367.
84. Westaby, G. D. Gastrointestinal disease in cystic fibrosis / G. D. Westaby. – Third edition by M. Hodson, G. Duncan, A. Bush. – London : Edward Arnold (Publishers) Ltd., 2007. – P. 209–224.
85. Красовский, С. А. Остеопороз у взрослых больных муковисцидозом : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.25 / Красовский Станислав Александрович. – Москва, 2012. – 26 с.
86. Kift, R. Is sunlight exposure enough to avoid wintertime vitamin D deficiency in United Kingdom population groups? / R. Kift, L. E. Rhodes, M. D. Farrar [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2018. – N 15. – P. 1624.
87. Daley, T. Vitamin D deficiency and its treatment in cystic fibrosis. / T. Daley, K. Hughanb, M. Rayasc, V. Tangprichae // *Journal of cystic fibrosis.* – October 2019. – Vol. 18, suppl. 2. – P. S66–S73.
88. Lansing, A. H. Vitamin D deficiency in pediatric patients with cystic fibrosis: associated risk factors in the northern United States / A. H. Lansing [et al.] // *South Med. J.* – 2015. – Vol. 108. – P. 164–169.
89. Gore, A. P. A roadmap to the brittle bones of cystic fibrosis / A. P. Gore, S. H. Kwon, A. E. Stenbit // *J. Osteoporos.* – 2010. – N 2011. – P. 926045.
90. Holick, M. F. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice guideline / M. F. Holick, N. C. Binkley, H. A. Bischoff-Ferrari [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96; N 7. – P. 1911–1930.
91. Mailhot, G. Vitamin D bioavailability in cystic fibrosis: a cause for concern? / G. Mailhot // *Nutr. Rev.* – 2012. – Vol. 70. – P. 280–293.
92. Rana, M. [et al.] Fat-soluble vitamin deficiency in children and adolescents with cystic fibrosis / M. Rana [et al.] // *Clinio Pathol.* – 2014. – Vol. 67. – P. 605–608.
93. Li, L. Digestive system dysfunction in cystic fibrosis: challenges for nutrition therapy / L. Li, S. Somerset // *Dig. Liver. Dis.* – 2014. – N 46 (10). – P. 865–874.

94. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2017 год / под ред. Е. И. Кондратьевой, С. А. Красовского, А. Ю. Воронковой [и др.]. – М. : Мед-практика-М, 2018.
95. Капранов, Н. И. Муковисцидоз / Н. И. Капранов, Н. Ю. Каширская (ред.). – М. : Мед-практика-М, 2014. – 672 с.
96. Каширская, Н. Ю. Состояние желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы и гепатобилиарной системы у больных муковисцидозом : автореф. дис. д-ра мед. наук / Каширская Наталья Юрьевна. – М., 2001. – 43 с.
97. Calvo-Lerma, J. Nutritional status, nutrients intake and enzymatic supplements in a European Cystic Fibrosis cohort: a cross-sectional overview / J. Calvo-Lerma, J. Hulst, I. Asseiceira [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2016. – N 15 (1). – P. 3.
98. Arteh, J. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease / J. Arteh, S. Narra, S. Nair // *Digestive Diseases and Sciences.* – 2010. – Vol. 55, N 9. – P. 2624–2628.
99. Stokes, C. S. Vitamin D in chronic liver disease / C. S. Stokes, D. A. Volmer, F. Grünhage, F. Lammert // *Liver International.* – 2013. – Vol. 33, N 3 – P. 338–352.
100. Skaaby, T. Vitamin D status, liver enzymes, and incident liver disease and mortality: a general population study / T. Skaaby, L.L. Husemoen, A. Borglykke [et al.] // *Endocrine.* – 2014. – N 47 (1). – P. 213–220.
101. McCloskey, M. Energy balance in cystic fibrosis when stable and during a respiratory exacerbation / M. McCloskey, A. O. Redmond, C. Cabe [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2004. – N 23. – P. 1405–1412.
102. Турбина, М. В. Нарушение минеральной плотности костной ткани и дефицит витамина D при воспалительных заболеваниях кишечника / М. В. Турбина, Е. А. Белоусова // *Фарматека.* – 2012. – № 20. – С. 84–88.
103. Климов, Л. Я. Гормонально-метаболические закономерности нарушения минерализации костной ткани у детей с целиакией / Л. Я. Климов, Л. М. Абрамская, М. В. Стоян [и др.] // *Медицинский совет.* – 2017. – № 1. – С. 149–154.
104. Malterre, T. Digestive and nutritional considerations in celiac disease: could supplementation help? / T. Malterre // *Alternative Medicine Review.* – 2009. – Vol. 14, N 3. – P. 247–257.
105. Дроздов, В. Н. Дефицит витамина D в гастроэнтерологии / В. Н. Дроздов, Ю. В. Эмбутниекс // *Фарматека.* – 2008. – № 12. – С. 53–57.
106. Кондратьева, Е. И. Клинико-генетическая характеристика и исходы мекониевого илеуса при муковисцидозе / Е. И. Кондратьева, В. Д. Шерман, Е. Л. Амелина [и др.] // *Рос. вестн. перинатол. и педиатр.* – 2016. – № 61 (6). – С. 77–81.
107. Мальцев, С. В. Витамин D, кальций и фосфаты у здоровых детей и при патологии / С. В. Мальцев, Н. Н. Архипова, Э. М. Шакирова. – Казань, 2012. – 120 с.
108. Flora, K. D. Liver disease in cystic fibrosis / K. D. Flora, K. G. Benner // *Clin. Liver Dis.* – 1998. – Vol. 2. – P. 51–61.
109. Legarda, M. Vitamin D deficiency and insufficiency after pediatric liver transplantation / M. Legarda [et al.] // *Pediatr. Transplant.* – 2013. – Vol. 17. – P. 631–637.
110. Buckley, L. M. Calcium and vitamin D3 supplementation prevents bone loss in the spine secondary to low-dose corticosteroids in patients with rheumatoid arthritis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial / L. M Buckley, E. S. Leib, K. S. Cartularo [et al.] // *Ann. Intern. Med.* 1996. – Vol. 125. – P. 961–968.
111. Gough, H. A comparative study of the relative influence of different anticonvulsant drugs, UV exposure and diet on vitamin D and calcium metabolism in outpatients with epilepsy / H. Gough, T. Goggin, A. Bissessar [et al.] // *Q. J. Med.* – 1986. – Vol. 59. – P. 569–577.
112. O'Callaghan, K. M. Estimation of the maternal vitamin D intake that maintains circulating 25-hydroxyvitamin D in late gestation at a concentration sufficient to keep umbilical cord sera ≥ 25 –30 nmol/L: a dose-response, double-blind, randomized placebo-controlled trial in pregnant women at northern latitude / K. M. O'Callaghan, Á. Hennessy, G. L. J. Hull [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2018. – Vol. 108, N 1. – P. 77–91.

113. Bischoff-Ferrari, H. A. Monthly high-dose vitamin D treatment for the prevention of functional decline: a randomized clinical trial / H. A. Bischoff-Ferrari, B. Dawson-Hughes, E. J. Orav [et al.] // *JAMA Intern. Med.* – 2016. – Vol. 176, N 2. – P. 175–183.
114. Bollerslev, J. European Society of Endocrinology Clinical Guideline: treatment of chronic hypoparathyroidism in adults / J. Bollerslev, L. Rejnmark, C. Marcocci [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 173, N 2. – P. 1–20.
115. Cashman, K. D. Vitamin D requirements for the future—lessons learned and charting a path forward / K. D. Cashman // *Nutrients.* – 2018. – Vol. 10, N 5. – P. 533.
116. Nader, N. S., Aguirre Castaneda R., Wallace J. [et al.] Effect of vitamin D3 supplementation on serum 25(OH)D, lipids and markers of insulin resistance in obese adolescents: a prospective, randomized, placebo-controlled pilot trial / N. S. Nader, R. Aguirre Castaneda, J. Wallace [et al.] // *Horm. Res. Paediatr.* – 2014. – Vol. 82; N 2. – P. 107–112.
117. Al-Shaar, L. Vitamin D3 dose requirement to raise 25-hydroxyvitamin D to desirable levels in adolescents: results from a randomized controlled trial / L. Al-Shaar, R. Mneimneh, M. Nabulsi [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2014. – Vol. 29, N 4. – P. 944–951.
118. Wingate, K. E. 25-Hydroxyvitamin D concentrations in children with Crohn's disease supplemented with either 2000 or 400 IU daily for 6 months: a randomized controlled study / K. E. Wingate, K. Jacobson, R. Issenman [et al.] // *J. Pediatr.* – 2014. – Vol. 164, N 4. – P. 860–865.
119. Pojsupap, S. Efficacy of high-dose vitamin D in pediatric asthma: a systematic review and meta-analysis / S. Pojsupap, K. Iliriani, T. Z. Sampaio [et al.] // *J. Asthma.* – 2014. – Vol. 21. – P. 1–9.
120. Громова, О. А. О дозировании витамина D у детей и подростков / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, И. Н. Захарова, В. Б. Спиричев // *Вопросы современной педиатрии.* – 2015; – Vol. 14, N 1. – P. 38–47.
121. Hollis, B. W. Normal serum vitamin D levels / B. W. Hollis, C. L. Wagner // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 352, N 5. – P. 515–516.
122. Вахлова, И. В. Обеспеченность витамином D и эффективность его профилактического назначения у детей раннего возраста / И. В. Вахлова, Н. А. Зюзева // *Практическая медицина.* – 2017. – Vol. 106, N 5. – P. 31–36.
123. Коденцова, В. М. Физиологическая потребность и эффективные дозы витамина D для коррекции его дефицита. Современное состояние проблемы / В. М. Коденцова, О. И. Мендель, С. А. Хотимченко [и др.] // *Вопросы питания.* – 2017. – Т. 86, № 2. – С. 47–62.
124. Cesareo, R. Hypovitaminosis D: is it time to consider the use of calcifediol? / R. Cesareo, A. Falchetti, R. Attanasio [et al.] // *Nutrients.* – 2019. – Vol. 11, N 5. – P. 1016.
125. Захарова, И. Н. Коррекция недостаточности витамина D / И. Н. Захарова, С. В. Васильева, Ю. А. Дмитриева [и др.] // *Эффективная фармакотерапия.* – 2014. – № 3. – С. 38–45.
126. Khazai, N. B. [et al.] Treatment and prevention of vitamin D insufficiency in cystic fibrosis patients: comparative efficacy of ergocalciferol, cholecalciferol, and UV light / N. B. Khazai [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* – 2009. – Vol. 94. – P. 2037–2043.
127. Chedevergne, F. Prevention of osteoporosis in cystic fibrosis / F. Chedevergne, I. Sermet-Gaudelus // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2019. – Vol. 25, N 6. – P. 660–665.
128. Ашерова, И. К. Снижение тяжести течения заболевания, повышение выживаемости и качества жизни больных муковисцидозом на основе совершенствования междисциплинарной специализированной помощи : автореф. ... д-ра мед. наук : 14.01.08 / Ашерова Ирина Карповна. – Москва, 2013. – 48 с.
129. Wolfenden, L. L. Vitamin D and bone health in adults with cystic fibrosis / L. L. Wolfenden [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf.).* – 2008. – Vol. 69. – P. 374–381.
130. Gore, A. P. A roadmap to the brittle bones of cystic fibrosis / A. P. Gore, S. H. Kwon, A. E. Stenbit // *J. Osteoporos.* – 2010. – N 2011. – P. 926045.
131. Braun, C. Children and adolescents with cystic fibrosis display moderate bone microarchitecture abnormalities: data from high-resolution peripheral quantitative computed tomography / C. Braun [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2017. – Vol. 28. – P. 3179–3188.

132. Jacquot, J. [et al.] Bone disease in cystic fibrosis: new pathogenic insights opening novel therapies / J. Jacquot [et al.] // *Osteoporos. Int.* – 2016. – Vol. 27. – P. 1401–1412.
133. Самсонова, М. В. Патология легких при муковисцидозе / М. В. Самсонова, Е. Л. Амелина, А. Л. Черняев // *Пульмонология. Приложение.* – 2006. – С. 113–117.
134. Vanstone, M. B. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and pulmonary exacerbations in cystic fibrosis / M. B. Vanstone, M. E. Egan, J. H. Zhang, T. O. Carpenter // *Pediatr. Pulmonol.* – 2015. – Vol. 50. – P. 441–446.
135. Timmers, N. K. L. M. Vitamin D intake, serum 25-hydroxy vitamin D and pulmonary function in paediatric patients with cystic fibrosis: a longitudinal approach / N. K. L. M. Timmers, R. K. Stellato, C. K. van der Ent [et al.] // *Br. J. Nutr.* – Vol. 121. – P. 195–201.
136. Loukou, I. Association of vitamin D status with lung function measurements in children and adolescents with cystic fibrosis / I. Loukou, M. Moustaki, O. Sardeli, [et al.] // *Pediatric Pulmonology.* – 2020. – Vol. 55. – P. 1375–1380.
137. Oliveira, M. S. Lung disease and vitamin D levels in cystic fibrosis infants and preschoolers / M. S. Oliveira, N. Y. Matsunaga, M. L. E. Rodrigues [et al.] // *Pediatric Pulmonology.* – 2019. – Vol. 54. – N 5. – P. 563–574.
138. Dubois, C. L. Extra-skeletal impact of vitamin D supplementation protocol in an adult population with cystic fibrosis / C. L. Dubois, E. Labrèche, V. Boudreau [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2018. – Vol. 38. – N 4. – P. 1666–1671.
139. Tangpricha, V. Vitamin D for the immune system in cystic fibrosis (DISC): a double-blind, multicenter, randomized, placebo-controlled clinical trial / V. Tangpricha, J. Lukemire, Y. Chen [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2019. – Vol. 109. – P. 544–553.
140. Grossmann, R. E. Pilot study of vitamin D supplementation in adults with cystic fibrosis pulmonary exacerbation: a randomized, controlled trial / R. E. Grossmann, S. M. Zughair, M. Kumari. [et al.] // *Dermatoendocrinol.* – 2012. – Vol. 4. – P. 191–197.
141. Thursfield, R. M. [et al.] Children with cystic fibrosis demonstrate no respiratory immunological, infective or physiological, consequences of vitamin D deficiency / R. M. Thursfield [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2018. – Vol. 17. – P. 657–665.
142. Vanstone, M. B. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and pulmonary exacerbations in cystic fibrosis / M. B. Vanstone, M. E. Egan, J. H. Zhang, T. O. Carpenter // *Pediatr. Pulmonol.* – 2015. – Vol. 50. – P. 441–446.
143. Dankers, W. Vitamin D in autoimmunity: molecular mechanisms and therapeutic potential / W. Dankers, E. M. Colin, J. P. van Hamburg [et al.] // *Front. Immunol.* – 2017. – Vol. 7. – P. 697.
144. Rana, M. The impact of dysglycaemia on bone mineral accrual in young people with cystic fibrosis / M. Rana [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2013. – Vol. 78. – P. 36–42.
145. Громова, О. А. Роль витамина D в регуляции иммунитета, профилактике и лечении инфекционных заболеваний у детей / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, И. Н. Захарова [и др.] // *Медицинский совет.* – 2017. – № 19. – С. 52–60.
146. Bivona, G. The immunological implication of the new vitamin D metabolism / G. Bivona, L. Agnello, M. Ciaccio // *Cent. Eur. J. Immunol.* – 2018. – Vol. 43, N 3. – P. 331–334.
147. Wu, D. Nutritional modulation of immune function: analysis of evidence, mechanisms, and clinical relevance / D. Wu, E. D. Lewis, M. Pae [et al.] // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 9. – P. 3160.
148. Sassi, F. Vitamin D: nutrient, hormone, and immunomodulator / F. Sassi, C. Tamone, P. D'Amelio // *Nutrients.* – 2018. – Vol. 10, N 11. – P. 1656.
149. Geldmeyer-Hilt, K. 1,25-dihydroxyvitamin D3 impairs NF-κB activation in human naïve B cells / K. Geldmeyer-Hilt, G. Heine, B. Hartmann [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2011. – Vol. 407, N 4. – P. 699–702.
150. Herscovitch, K. Vitamin D as an anti-microbial and anti-inflammatory therapy for cystic fibrosis / K. Herscovitch, N. Dauletbaev, L.C. Lands // *Paediatr. Respir. Rev.* – 2014; – Vol. 15. – P. 154–162.

151. Zhang, Y. Vitamin D inhibits monocyte/macrophage proinflammatory cytokine production by targeting MAPK phosphatase-1 / Y. Zhang [et al.] // *J. Immunol.* – 2012; – Vol. 188. – P. 2127–2135.
152. Dauletbaev, N. Down-regulation of IL-8 by high-dose vitamin D is specific to hyperinflammatory macrophages and involves mechanisms beyond up-regulation of DUSP1 / N. Dauletbaev, K. Herscovitch, M. Das [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 172, N 19. – P. 4757–4771.
153. Pincikova, T. Vitamin D treatment modulates immune activation in cystic fibrosis / T. Pincikova, D. Paquin-Proulx, J. K. Sandberg, [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2017. – Vol. 189, N 3. – P. 359–371.
154. Kanhere, M. Bolus weekly vitamin D3 supplementation impacts gut and airway microbiota in adults with cystic fibrosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial / M. Kanhere [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2018. – Vol. 103. – P. 564–574.
155. McNally, P. Vitamin D receptor agonists inhibit pro-inflammatory cytokine production from the respiratory epithelium in cystic fibrosis / P. McNally, C. Coughlan, G. Bergsson [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2011. – Vol. 10. – P. 428–434.
156. Schögler, A. Vitamin D represses rhinovirus replication in cystic fibrosis cells by inducing LL-37 / A. Schögler, R. J. Muster, E. Kieninger [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2016. – Vol. 47. – P. 520–530.
157. Nurminen, V. Primary vitamin D target genes of human monocytes / V. Nurminen, S. Seuter, C. Carlberg // *Front. Physiol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 194.
158. Рудык, А. В. Роль витамина D в противоиnфекционном иммунитете. Эпидемиология и инфекционные болезни / А. В. Рудык // *Актуальные вопросы.* – 2017. – Т. 1. – С. 54–57.
159. Van Harten, R. Cathelicidins: immunomodulatory antimicrobials / R. Van Harten, E. van Woudenberg, A. van Dijk, H. Haagsman // *Vaccines.* – 2018. – Vol. 6, N 63. – P. 63.
160. Wang, G. Design of antimicrobial peptides: progress made with human cathelicidin LL-37 / G. Wang, J. L. Narayana, B. Mishra [et al.] // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2019. – Vol. 1117. – P. 215–240.
161. Koczulla, A. R. Antimicrobial peptides: current status and therapeutic potential / A. R. Koczulla, R. Bals // *Drugs.* – 2003. – Vol. 63, N 4. – P. 389–406.
162. Bartley, J. Vitamin D: emerging roles in infection and immunity / J. Bartley // *Expert Rev. Ant. Infect. Ther.* – 2010. – Vol. 8, N 12. – P. 1359–1369.
163. Agier, J., Brzezinska-Blaszczyk E. Cathelicidins and defensins regulate mast cell antimicrobial activity / J. Agier, E. Brzezinska-Blaszczyk // *Postepy. Hig. Med. Dosw. (Online).* – 2016; – Vol. 70. – P. 618–636.
164. Vandamme, D. A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide / D. Vandamme, B. Landuyt, W. Luyten, L. Schoofs // *Cell Immunol.* – 2012. – Vol. 280. – P. 22–35.
165. Jeng, L. Alterations in vitamin D status and anti-microbial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis / L. Jeng, A.V. Yamshchikov, E.J. Suzanne [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2009. – Vol. 7. – P. 28.
166. Cekmez, Y. The diagnostic role of vitamin D and cathelicidin levels in pelvic inflammatory disease / Y. Cekmez, D. Ocal, V. Korkmaz, [et al.] // *Clin. Lab.* – 2015. – Vol. 61, N 12. – P. 1871–1875.
167. Ho, J. Cathelicidin preserves intestinal barrier function in polymicrobial sepsis / J. Ho, H. Chan, Y. Liang [et al.] // *Crit. Care.* – 2020. – Vol. 24, N 1. – P. 47.
168. Georgieva, V. Association between vitamin D, antimicrobial peptides and urinary tract infection in infants and young children / V. Georgieva, W. Kamolvit, M. Herthelius, [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2019. – N 108 (3) – P. 551–556.
169. Persson, L. J. Antimicrobial peptide levels are linked to airway inflammation, bacterial colonisation and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease / L. J. Persson, M. Aanerud, J. A. Hardie [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2017. – N 49 (3). – P. 1601328.
170. Ramos-Martínez, E. Reduction of respiratory infections in asthma patients supplemented with vitamin D is related to increased serum IL-10 and IFN γ levels and cathelicidin expression / E.

- Ramos-Martínez, M. R. López-Vancell, J. C. Fernández de Córdova-Aguirre [et al.] // *Cytokine*. – 2018. – N 108 – P. 239–246.
171. Mathias, E. Association of vitamin D with cathelicidin and vitamin D binding protein in pediatric sepsis / E. Mathias, V. Tangpricha, A. Sarnaik [et al.] // *J. Clin. Transl. Endocrinol.* – 2017. – N 10. – P. 36–38.
172. Greulich, T. Altered blood levels of vitamin D, cathelicidin and parathyroid hormone in patients with sepsis-a pilot study / T. Greulich, W. Regner, M. Branscheidt [et al.] // *Anaesth. Intensive Care*. – 2017. – N 45 (1). – P. 36–45.
173. Quraishi, S. A. Effect of Cholecalciferol Supplementation on Vitamin D Status and Cathelicidin Levels in Sepsis: A Randomized, Placebo-Controlled Trial / S. A. Quraishi, G. De Pascale, J. S. Needleman [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2015. – N 43 (9). – P. 1928–1937.
174. Aguilar-Jimenez, W. Precursor Forms of Vitamin D Reduce HIV-1 Infection In Vitro / W. Aguilar-Jimenez, S. Villegas-Ospina, S. Gonzalez [et al.] // *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* – 2016 – N 73 (5). – P. 497–506.
175. Coussens, A. K. High-dose vitamin D3 reduces deficiency caused by low UVB exposure and limits HIV-1 replication in urban Southern Africans / A. K. Coussens, C. E. Naude, R. Goliath [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2015. – N 112(26). – P. 8052–8057.
176. Ayelign, B. Role Of Vitamin-D Supplementation In TB/HIV Co-Infected Patients / B. Ayelign, M. Workneh, M. D. Molla [et al.] // *Infect. Drug Resist.* – 2020. – N 13. – P. 111–118.
177. Громова, О. А. Роль витамина D в поддержании противотуберкулезного, антивирусного и общего против-инфекционного иммунитета / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, В. Ф. Учайкин [и др.] // *Инфекционные болезни*. – 2014. – № 12 (4) – С. 65–74.
178. Громова, О. А. Витамин D – смена парадигмы / О. А. Громова, И. Ю. Торшиню. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 576 с.
179. Будихина, А. С. Дефензины – мультифункциональные катионные пептиды человека / А. С. Будихина, Б. В. Пинегин // *Иммунология, аллергология, инфектология*. – 2008. – № 2. – С. 31–40.
180. Thijs, W. Nasal levels of antimicrobial peptides in al-lergic asthma patients and healthy controls: differences and effect of a short 1,25(OH)₂ vitamin D3 treatment / W. Thijs, K. Janssen, A. M. Schadewijk [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – N 10 (11). – P. e0140986.
181. Urashima, M. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren / M. Urashima, T. Segawa, M. Okazaki [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2010. – N 91. – P. 1255–1260.
182. Jolliffe, D. A. Prevalence, determinants and clinical correlates of vitamin D deficiency in adults with inhaled corticosteroid-treated asthma in London, UK / D. A. Jolliffe, K. Kilpin, B. D. MacLaughlin [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2018. – N 175. – P. 88–96.
183. Berry, D. Determinants of vitamin D status: focus on genetic variations / D. Berry, E. Hyppönen [et al.] // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2011. – N 20 (4). – P. 331–336.
184. Cooper, J. Inherited variation in vitamin D genes is associated with predisposition to autoimmune disease type 1 diabetes / J. Cooper, D. Smyth, N. Walker [et al.] // *Diabetes*. – 2011. – N 60. – P. 1624–1631.
185. Ramos-Lopez, E. CYP2R1 (vit-amin D 25-hydroxylase) gene is associated with susceptibility to type 1 diabetes and vitamin D levels in German / E. Ramos-Lopez, P. Brück, T. Jansen [et al.] // *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2007 – N 23 (8). – P. 631–636.
186. van Schaik, R. H. The CYP3A4*3 allele: is it really rare? / R. H. van Schaik, S. N. de Wildt, R. Brosens [et al.] // *Clin. Chem.* – 2001. – N 47 (6). – P. 1104–1106.
187. Schirmer, M. Genetic signature consistent with selection against the CYP3A4*1B allele in non-African populations / M. Schirmer, M. R. Toliat, M. Haberl [et al.] // *Pharmacogenet Genomics*. – 2006. – N 16 (1). – P. 59–71.
188. Gupta, R. P. CYP3A4 is a vitamin D-24- and 25-hydroxylase: analysis of structure function by site-directed mutagenesis / R. P. Gupta, Y. A. He, K. S. Patrick, [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2005. – N 90 (2). – P. 1210–1219.

189. Qin, X. Role of vitamin D receptor in the regulation of CYP3A gene expression / X. Qin, X. Wang [et al.] // *Acta. Pharm. Sin. B.* – 2019. – N 9 (6). – P. 1087–1098.
190. Brodie, M. J. Rifampicin and vitamin D metabolism / M. J. Brodie, A. R. Boobis, C. T. Dollery [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 1980. – N 27 (6). – P. 810–814.
191. Thompson, E. E. CYP3A variation and the evolution of salt-sensitivity variants / E. E. Thompson, H. Kuttub-Boulos, D. Witonsky [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2004. – N 75 (6). – P. 1059–1069.
192. Jolliffe, D. A. Single nucleotide polymorphisms in the vitamin D pathway associating with circulating concentrations of vitamin D metabolites and non-skeletal health outcomes: Review of genetic association studies / D. A. Jolliffe, R. T. Walton, C. J. Griffiths [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2016. – N 164. – P. 18–29.
193. Bosse, Y. Asthma and genes encoding components of the vitamin D pathway / Y. Bosse, M. Lemire, A. H. Poon, [et al.] // *Respir. Res.* – 2009. – N 10 (1). – P. 98–109.
194. Pike, J. W. Biology and mechanisms of action of the vitamin D hormone / J. W. Pike, S. Christakos [et al.] // *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* – 2017. – N 46. – P. 815–843.
195. Harvey, J. J. SNP analysis using catacleave probes / J. J. Harvey, S. R. Brant, J. R. Knutson [et al.] // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2008. – N 22 (3). – P. 192–203.
196. Köstner, K. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature / K. Köstner, N. Denzer, C. S. Mueller [et al.] // *Anticancer Res.* – 2009. – N 29 – P. 3511–3536.
197. Uitterlinden, A. G. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms / A. G. Uitterlinden, Y. Fang, J. B. van Meurs [et al.] // *Gene.* – 2004. – N 338. – P. 143–156.
198. Жумина, А. Г. Экспрессия гена VDR и развитие лейкозов / А. Г. Жумина, А. В. Ходков, З. Т. Сакенова [и др.] // *Научное обозрение. Биологические науки.* – 2016. – № 4. – С. 21–25.
199. Tizaoui, K. Association between vitamin D receptor polymorphisms and multiple sclerosis: systematic review and meta-analysis of case-control studies / K. Tizaoui, W. Kaabachi, A. Hamzaoui [et al.] // *Cellular & Molecular Immunol.* – 2015. – N 12. – P. 243–252.
200. Xia, S. Associations of ulcerative colitis with vitamin D receptor gene polymorphisms and serum levels of 25-hydroxyl vitamin / S. Xia, X. Xia, W. Wang [et al.] // *D. Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2014. – N 94 (14). – P. 1060–1066.
201. Xue, L. N. 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. – N 19 (1). – P. 54–60.
202. Bao, L. Association between vitamin D receptor BsmI polymorphism and bone mineral density in pediatric patients: A meta-analysis and systematic review of observational studies / L. Bao, M. Chen, Y. Lei [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2017. – N 96 (17). – P. e6718.
203. Габрусская, Т. В. Влияние TaqI-генетического полиморфизма гена рецептора витамина D на состояние костного метаболизма у детей с воспалительными заболеваниями кишечника / Т. В. Габрусская, М. М. Костик, Ю. А. Насыхова [и др.] // *Педиатр.* – 2017. – № 8 (3). – С. 111–119.
204. Song, G. G. Vitamin D receptor FokI, BsmI, and TaqI polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: A meta-analysis / G. G. Song, S. C. Bae, Y. H. Lee [et al.] // *Z. Rheumatol.* – 2016. – N 75 (3) – P. 322–329.
205. Karray, E. F. Associations of vitamin D receptor gene polymorphisms FokI and BsmI with susceptibility to rheumatoid arthritis and Behçet's disease in Tunisians / E. F. Karray, I. Ben Dhifallah, K. Ben Abdelghani [et al.] // *Joint Bone Spine.* – 2012. – N 79 (2). – P. 144–148.
206. Uitterlinden, A. G. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms / A. G. Uitterlinden, Y. Fang, J. B. Van Meurs [et al.] // *Gene.* – 2004. – N 338 (2) – P. 143–156.
207. Thakkinstian, A. Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D receptor gene polymorphisms and BMD as a case study / A. Thakkinstian, C. D'Este, J. Eisman [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2004. – Vol. 19, N 3. – P. 419–428.

208. Yang, Q. Vitamin D Receptor gene polymorphisms and plasma levels are associated with lumbar disc degeneration / Q. Yang, Y. Liu, Y. Guan [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – N 9 (1). – P. 7829.
209. Ahmed, A. E. A. Vitamin D receptor rs7975232, rs731236 and rs1544410 single nucleotide polymorphisms, and 25-hydroxyvitamin D levels in Egyptian children with type 1 diabetes mellitus: effect of vitamin D co-therapy / A. E. A. Ahmed, H. M. Sakhr, M. H. Hassan [et al.] // *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* – 2019. – N 12. – P. 703–716.
210. Apaydin, M. The VDR gene FokI polymorphism is associated with gestational diabetes mellitus in Turkish women / M. Apaydin, S. Beysel, N. Eyerci, [et al.] // *BMC Med. Genet.* – 2019. – N 20 (1). – P. 82.
211. Davies, J. H. Bone mass acquisition in healthy children / J. H. Davies, B. A. J. Evans, J. W. Gregory [et al.] // *Arch. Dis. Child.* – 2005. – Vol. 90. – P. 373–378.
212. Mukhtar, M. Vitamin D Receptor Gene Polymorphism: An Important Predictor of Arthritis Development / M. Mukhtar, N. Sheikh, S. K. Suqaina [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2019. – P. 8326246.
213. Hou, C. Correlation of vitamin D receptor with bronchial asthma in children / C. Hou, X. Zhu, X. Chang [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2018. – N 15. – P. 2773–2776.
214. Hutchinson, K. Vitamin D receptor variants and un-controlled asthma / K. Hutchinson, C. Kerley, J. Faul [et al.] // *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* – 2018. – N 50. – P. 108–116.
215. Liu, W. Intestinal epithelial vitamin D receptor signaling inhibits experimental colitis / W. Liu, Y. Chen, M. A. Golan [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2013. – N 123 (9). – P. 3983–3996.
216. Miraglia Del Giudice, M. Vitamin D: immunomodulatory aspects / M. Miraglia Del Giudice, C. Indolfi, C. Strisciuglio [et al.] // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2018. – Vol. 52, suppl. 1. – P. 86–88.
217. Новиков, П. В. Рахит и наследственные рахитоподобные заболевания у детей: диагностика, лечение, профилактика / П. В. Новиков. – М. : Триада-Х, 2006. – 336 с.
218. Ralston, S. Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis / S. Ralston, B. de Crombrughe [et al.] // *Genes & Dev.* – 2006. – Vol. 20. – P. 2492–2506.
219. Yamada, Y. Association of polymorphism of interleukin-6, osteocalcin, and vitamin D receptor genes, along or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men / Y. Yamada, F. Ando., N. Niino [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* – 2003. – Vol. 88. – P. 3372–3378.
220. Мищенко, Е. Б. Оценка значимости внешних и внутренних факторов риска развития остеопороза : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.03 / Мищенко Екатерина Борисовна. – СПб., 2007. – 15 с.
221. Wani, W. A. Vitamin D status correlates with the markers of cystic fibrosis-related pulmonary disease / W. A. Wani, M. Nazir, J. I. Bhat [et al.] // *Pediatr. Neonatol.* – 2019. – N 60. – P. 210–215.
222. Zhao, J. G. Association between calcium or vitamin D supplementation and fracture incidence in community-dwelling older adults: a systematic review and meta-analysis / J. G. Zhao, X. T. Zeng, J. Wang, L. Liu // *JAMA.* – 2017. – N 318. – P. 2466–2482.
223. Janzen, K. M. Brown High-dose Chole-calciferol Supplementation in Adults with Cystic Fibrosis / K. M. Janzen, C. Sakon, A. Lehman, B. Sommer // *C. Pharmacotherapy.* – 2019. – N 39 (9). – P. 874–880.
224. Shepherd, D. Single high-dose oral vitamin D3 (stoss) therapy; A solution to vitamin D deficiency in children with cystic fibrosis? / D. Shepherd, Y. Belessis, T. Katz [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2013. – N 12. – P. 177–182.
225. Rana, M. The impact of dysglycaemia on bone mineral accrual in young people with cystic fibrosis / M. Rana [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. – 2013. – N 78. – P. 36–42.
226. Simoneau, T. A randomized controlled trial of vitamin D replacement strategies in pediatric CF patients / T. Simoneau, G. S. Sawicki, C. E. Milliren [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2016. – N 15. – P. 234–241.

227. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям. С кистозным фиброзом (муковисцидозом) / Главный внештатный специалист педиатр Минздрава России Академик РАН А. А. Баранов – М., 2015.
228. Приказ Минздрава России от 28.12.2012 1605н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при кистозном фиброзе (муковисцидозе)» (Зарегистрировано в Минюсте России 15.05.2013 N 28410).
229. Turck, D. ESPEN-ESPGHAN-ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis / D. Turck, C. P. Braegger, C. Colombo [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2016. – N 35 (3). – P. 557–577.
230. Чернуха, М. Ю. Применение системы MALDI Biotyper и алгоритма микробиологической диагностики для идентификации неферментирующих микроорганизмов, выделенных из дыхательных путей у больных муковисцидозом / М. Ю. Чернуха, И. А. Шагинян, В. Г. Жуховицкий [и др.] // *Клиническая микробиология и микробная химиотерапия.* – 2017. – Т. 19, № 4. – С. 327–334.
231. Чучалин, А. Г. Федеральные клинические рекомендации Российского респираторного общества по использованию метода спирометрии / А. Г. Чучалин, З. Р. Айсанов, С. Ю. Чикина, [и др.] // *Пульмонология.* – 2014. – № 6. – С. 11–23.
232. Miller, M. R. Standardisation of spirometry / M. R. Miller, J. Hankinson, V. Brusasco [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2005. – N 26. – P. 319–337.
233. Polgar, G. Pulmonary function testing in children: Techniques and standards / G. Polgar, V. Promadhat [et al.]. – Philadelphia : W.B. Saunders Co, 1971.
234. Pellegrino, R. Interpretative strategies for lung function tests / R. Pellegrino, G. Viegi, V. Brusasco [et al.] // *European Respiratory Journal.* – 2005. – N 26 – P. 948–968.
235. Скурихина, И. М. Химический состав российских пищевых продуктов : справочник / И. М. Скурихина, В. А. Тутельяна (ред.). – М. : ДеЛи принт, 2002. – 236 с.
236. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. Методические рекомендации МР 2.3.1.2432-08: утв. Главным государственным санитарным врачом РФ Г. Г. Онищенко 18.12.2008. – М., 2008. – 46 с.
237. Бондарева, И. Б. Математическая статистика в клинических исследованиях: практическое руководство / И. Б. Бондарева, В. И. Сергиенко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 304 с.
238. Громыко, Г. Л. Теория статистики / Г. Л. Громыко. – М. : ИНФРА-М, 2006. – 475 с.
239. Rucker, D. Vitamin D insufficiency in a population of healthy western Canadians / D. Rucker, J. A. Allan, G. H. Fick, [et al.] // *Canadian Medical Association Journal.* – 2002. – Vol. 166, N 12. – P. 1517–1524.
240. Chen, Y. J. An Investigation of Vitamin Levels Status in the Serum of Children in China / Y.J. Chen, M. Liu, C. Y. Mao [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2018. – N 11. – P. 6592757.
241. Garavito, G. Association of polymorphic variants of PTPN22, TNF and VDR genes in children with lupus nephritis: A study in Colombian family triads / G. Garavito, E. Egea, L. Fang [et al.] // *Biomedica.* – 2017. – N 37 (2). – P. 260–266.
242. Petersen, R. A. Common genetic variants are associated with lower serum 25-hydroxyvitamin D concentrations across the year among children at northern latitudes / R. A. Petersen, L. H. Larsen, C. T. Damsgaard [et al.] // *British Journal of Nutrition.* – 2017. – N 117. – P. 829–838.
243. Jolliffe, D. A. Environmental and genetic determinants of vitamin D status among older adults in London, UK / D. A Jolliffe, Y. Hanifa, K. D. Witt [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2016. – N 164. – P. 30–35.
244. Goldsweig, B. Puberty in cystic fibrosis / B. Goldsweig, B. Kaminski, A. Sidhaye [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2019. – N 2. – P. 88–94.
245. Simoneau, T. Vitamin D status in children with cystic fibrosis. associations with inflammation and bacterial colonization / T. Simoneau, O. Bazzaz, G. S. Sawicki [et al.] // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2014. – N 11. – P. 205–210.

246. Ortiz, J. R. Influenza-associated cystic fibrosis pulmonary exacerbations / J. R. Ortiz, K. M. Neuzil, J. C. Victor [et al.] // *Chest*. – 2010. – N 137 (4). – P. 852–860.
247. Black, L. J. An updated systematic review and meta-analysis of the efficacy of vitamin D food fortification / L. J. Black, K. M. Seamans, K. D. Cashman [et al.] // *J. Nutr.* – 2012. – Vol. 142, N 6. – P. 1102–1108.
248. Жилинская, Н. В. Фортификация пищевой продукции – глобальный тренд пищевой промышленности / Н. В. Жилинская, П. С. Громовых // *Пищевая промышленность: науки и технологии*. – 2019. – Т. 12, № 3 (45). – С. 31–35.
249. Georgieva, V. Association between vitamin D, antimicrobial peptides and urinary tract infection in infants and young children / V. Georgieva, W., Kamolvit M. Herthelius [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2019. – N 108 (3). – P. 551–556.
250. Persson, L. J. Antimicrobial peptide levels are linked to airway inflammation, bacterial colonisation and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease / L. J. Persson, M. Aanerud, J. A. Hardie [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2017. – N 49 (3). – P. 1601328.
251. Lezhenko, G. O. Pathogenetic significance of antimicrobial peptides in the implementation of antibacterial protection in children with cystic fibrosis / G. O. Lezhenko, O. Ye. Abaturov, O. Ye. Pashkova [et al.] // *Child. health*. – 2013. – N 3 (46). – P. 44–49.
252. Dai, Q. Modulation of Human Neutrophil Peptides on *P. aeruginosa* Killing, Epithelial Cell Inflammation and Mesenchymal Stromal Cell Secretome Profiles / Q. Dai, Y. Morita, Y. Huang [et al.] // *J. Inflamm. Res.* – 2019. – N 12. – P. 335–343.
253. Elkum, N. Vitamin D insufficiency in Arabs and South Asians positively associates with polymorphisms in GC and CYP2R1 genes / N. Elkum, F. Alkayal, F. Noronha [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – N 9 (11). – P. e113102.

Приложение А (обязательное)

Таблица А.1 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у здоровых детей в зимнее время года в зависимости от генотипов полиморфизмов генов цитохрома

Allele		n	Уровень 25(OH)D в зимнее время года, $M \pm m$, Me (Q1–Q3)	p
CYP2C9*3 (1075A>C; I359L)	AA	106	35,3±20,6, 31,7 (23,5 – 44,6)	0,241
	CA	14	31,7±21,3, 25,0 (15,0 – 35,9)	
CYP3A4*3 (с.1334T>C; M445T)	TT	120	34,9±20,6, 31,5 (23,2 – 41,8)	–
	CT	0	–	
CYP2C9*2 (с.430C>T; R144C)	CC	98	34,8±21,6, 31,7 (23,1 – 39,2)	0,618
	CT	22	35,6±15,9, 28,6 (23,5 – 45,0)	
CYP2D6*4 (с.1846G>A)	AA	7	25,6±11,2, 26,7 (13,3 – 31,3)	0,119
	AG	31	43,7±32,4, 32,7 (23,6 – 47,5)	
	GG	79	32,1±13,4, 31,7 (22,3 – 39,7)	
CYP3A4 *1B (с.-392C>T)	TT	113	35,1±20,5, 31,7 (23,3 – 40,8)	–
	CT	6	25,0±14,4, 23,1 (11,6 – 36,0)	
	CC	1	77,0	

Примечание: p – уровень значимости различий, применялся критерий Краскала – Уоллиса

Таблица А.2 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у здоровых детей в зависимости от генотипов полиморфизмов гена VDR

VDR polymorphism		N	$M \pm m$, 25(OH)D (нг/мл)	p
с.1206T>C(A>G) TaqI	TT	74	33,7±18,2	0,857
	TC	63	32,8±22,5	
	CC	18	28,3±10,3	
	Всего	155	32,7±19,6	
с.152T>C FokI	TT	28	30,5±20,5	0,453
	TC	74	33,0±20,9	
	CC	55	32,8±19,3	
	Всего	157	32,5±19,3	
с.1174+283G>A BsmII	AA	19	29,2±10,2	0,858
	GA	63	32,8±22,8	
	GG	67	33,6±17,5	
	Всего	149	32,7±19,2	

Примечание: p – уровень значимости различий, применялся критерий Краскала – Уоллиса

Таблица А.3 – Анализ частоты генетических вариантов CFTR в сравниваемых регионах

Патогенный вариант		Московский регион	Красноярский край	Ставропольский край	Общая группа
не обнаружено	n	7	15	8	30
F508del	n	87	46	26	159
	%	55,8%	67,6%	43,3%	
CFTRdele2,3	n	12	0	4	16
	%	9,7%	0,0%	13,3%	
2184insA	n	4	0	5	9
	%	0,6%	0,0%	0,0%	

Продолжение таблицы А.3

<i>Патогенный вариант</i>		<i>Московский регион</i>	<i>Красноярский край</i>	<i>Ставропольский край</i>	<i>Общая группа</i>
W1282X	n	5	0	3	8
	%	3,2%	0,0%	5,0%	
E92K	n	6	0	1	7
	%	3,8%	0,0%	1,7%	
3849+10kbC->T	n	5	0	1	6
	%	3,2%	0,0%	1,7%	
N1303K	n	5	1	0	6
	%	3,2%	1,5%	0,0%	
2143delT	n	1	1	6	4
	%	0,0%	0,0%	1,7%	
G542X	n	2	0	2	4
	%	1,3%	0,0%	3,3%	
3944delGT	n	0	1	2	3
	%	0,0%	1,5%	3,3%	
394delTT	n	1	1	1	3
	%	0,6%	1,5%	1,7%	
W1282R	n	2	0	1	3
	%	1,3%	0,0%	1,7%	
CFTRdele2,4	n	2	0	0	2
	%	1,3%	0,0%	0,0%	
L138ins	n	0	1	1	2
	%	0,0%	1,5%	1,7%	
Y362X	n	2	0	0	2
	%	1,3%	0,0%	0,0%	
1367del5	n	1	0	0	1
	%	4,5%	22,1%	13,3%	
1677delTA	n	0	0	1	1
	%	0,6%	0%	1	
2183AA->G	n	1	0	0	1
	%	2,6%	1,5%	1,7%	
2721del11	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
3821delT	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
406-1G->A	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
604insA	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
P205S	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
Q1476X	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
R1070Q	n	0	0	1	1
	%	0,0%	0,0%	1,7%	
R1158X	n	0	1	0	1
	%	0,0%	1,5%	0,0%	
R1162X	n	0	1	0	1
	%	0,0%	1,5%	0,0%	
R334W	n	0	0	1	1
	%	0,0%	0,0%	1,7%	

Продолжение таблицы А.3

Патогенный вариант		Московский регион	Красноярский край	Ставропольский край	Общая группа
R334W	n	0	0	1	1
	%	0,0%	0,0%	1,7%	
R785X	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
S1159F	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
S1196X	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
S466X	n	0	0	1	1
	%	0,0%	0,0%	1,7%	
S466X-R1070Q	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	
W1310X	n	1	0	0	1
	%	0,6%	0,0%	0,0%	

Таблица А.4 – Сравнительный анализ осложнений в регионах, N (%)

Осложнения	Да/Нет	N	Московский регион	Красноярский край	Ставропольский край
Аллергический бронхолегочный аспергиллез	Нет	135	74 (94,9%)	32 (94,1%)	29 (96,7%)
	Да	7	4 (5,1%)	2 (5,9%)	1 (3,3%)
Диабет с ежедневным применением инсулина	Нет	142	В связи с отсутствием данных в одной из групп сравнение не проводилось		
	Да	0			
Пневмоторакс, потребовавший дренирования	Нет	142	В связи с отсутствием данных в одной из групп сравнение не проводилось		
	Да	0			
Поражение печени (цирроз)	Нет	128	70 (89,7%)	31 (91,2%)	23 (76,7%)
	Да	14	8 (10,3%)	3 (8,8%)	7 (23,3%)
Полипоз верхних дыхательных путей	Нет	109	59 (75,6%)	25 (73,5%)	25 (83,3%)
	Да	33	19 (24,4%)	9 (26,5%)	5 (16,7%)
Остеопороз	Нет	78	В связи с отсутствием данных в одной из групп сравнение не проводилось		
	Да	0			

Примечание: $p > 0,05$, применялся критерий Хи-квадрат Пирсона

Таблица А.5 – Содержание 25(OH)D у больных муковисцидозом в зависимости от осложнений, $M \pm m$, Me (Q1–Q3)

Осложнения	Да/Нет	Витамин D						p
		N	M	m	Me	Q1	Q3	
Аллергический бронхолегочный аспергиллез	Нет	135	27,6	15,5	25,2	15,8	38,3	p = 0,485
	Да	7	40,6	31,5	23,8	17,4	76,7	
Диабет с ежедневным применением инсулина	Нет	142	В связи с отсутствием данных в одной из групп сравнение не проводилось					
	Да	0						
Пневмоторакс, потребовавший дренирования	Нет	142	В связи с отсутствием данных в одной из групп сравнение не проводилось					
	Да	0						
Поражение печени (цирроз)	Нет	128	29,3	16,2	26,6	17,0	39,4	p* = 0,011
	Да	14	21,1	19,1	19,4	7,2	26,4	
Полипоз верхних дыхательных путей	Нет	109	28,2	16,1	25,2	15,8	39,4	p = 0,770
	Да	33	28,5	18,8	24,1	17,4	36,0	

Продолжение таблицы А.5

Осложнения	Да/Нет	Витамин D						p	
		N	M	m	Me	Q1	Q3		
Остеопороз	Нет	78	В связи с отсутствием данных в одной из групп сравнение не проводилось						
	Да	0							
Мекониевый илеус	Нет	129	28,1	17,1	24,6	14,1	38,9	p = 0,460	
	Да	13	30,4	12,8	26,6	21,4	37,8		

Примечание: p – уровень значимости различий, применялся критерий Манна – Уитни; p* – в общей возрастной группе, при сравнении с показателями пациентов старшей возрастной группы p > 0,05 (почти все пациенты с циррозом – подростки)

Таблица А.6 – Содержание 25(OH)D у больных муковисцидозом в зависимости от терапии, M±m; Me(Q1-Q3)

Терапия	Да/Нет	Витамин D зима						p
		N	M	m	Me	Q1	Q3	
Ингаляционные стероиды	Нет	133	27,2	15,9	24,1	14,3	38,3	p* = 0,031
	Да	9	39,0	21,1	36,0	24,6	44,3	
Системные стероиды	Нет	136	28,0	16,0	25,1	16,5	38,3	p = 0,821
	Да	6	35,3	30,0	26,0	17,4	39,8	
Панкреатические ферменты	Нет	16	33,3	15,8	36,7	20,5	43,1	p = 0,131
	Да	126	27,6	16,8	24,6	15,1	37,9	

Примечание: p – уровень значимости различий, применялся критерий Манна – Уитни; p* – в общей группе, при сравнении с показателями Московского региона p > 0,05 (все пациенты, получавшие ингаляционную терапию – из Московского региона)

Таблица А.7 – Содержание 25(OH)D у больных муковисцидозом в зависимости от ПСС, возраста и профилактической дозы витамина

Возраст	Доза витамина D	ПСС ≤ 100,0		ПСС 100,1–200		ПСС 200,1–300		ПСС 300,1+		Всего	
		N	M±m	N	M±m	N	M±m	N	M±m	N	M±m
0–3	≤ 500	10	21,5±18,1	3	22,8±15,2	–	–	2	26,2±13,8	15	22,4±16,1
	501–1000	9	36,4±9,4	5	35,2±20,5	10	40,6±12,7	9	32,1±12,7	33	36,3±13,1
	1001–1500	4	39,3±31,0	7	36,8±9,3	5	46,1±19,0	2	41,7±14,6	18	40,5±17,7
	1501–2000	15	35,9±17,0	2	48,6±23,2	8	36,4±24,4	8	26,0±15,0	33	34,4±18,8
	2001+	6	36,9±20,8	7	46,9±13,7	3	27,7±3,7	4	57,3±34,2	20	43,1±21,4
	Всего	44	33,2±18,4	24	38,6±16,0	26	38,9±17,7	25	34,5±20,1	119	35,8±18,1
4–10	≤ 500	19	12,9±6,6*	11	15,1±9,4	7	20,6±4,3	5	20,5±8,9	42	15,7±7,9
	501–1000	22	30,6±14,8	13	36,8±23,0	27	32,4±9,7	13	33,6±10,6	75	32,7±14,3
	1001–1500	14	33,3±17,8	2	26,0±1,3	4	45,4±7,9	5	33,9±16,6	25	34,8±15,9
	1501–2000	22	34,2±13,9	14	30,9±18,6	9	39,4±13,2	7	29,3±12,0	52	33,6±14,9
	2001+	19	38,8±16,5	37	29,5±10,6	17	37,4±12,7	24	35,5±14,0	97	34,2±13,5
	Всего	96	29,8±16,6	77	28,9±15,7	64	34,2±11,9	54	32,7±13,1	291	31,1±14,9
11–18	≤ 500	23	10,7±8,1**	2	14,2±10,7	6	21,6±8,0	6	16,1±4,8	37	13,6±8,5
	501–1000	14	22,7±10,0	4	21,6±8,4	15	29,3±14,5	3	28,1±11,9	36	25,8±12,2
	1001–1500	9	32,7±25,1	6	23,8±8,3	4	26,0±9,7	3	26,5±6,8	22	28,2±17,0
	1501–2000	17	28,7±13,8	3	24,5±3,3	15	27,7±15,3	8	25,0±10,4	43	27,4±13,1
	2001+	11	29,5±11,8	8	30,2±13,8	4	31,5±12,7	9	30,0±9,4	32	30,1±11,3
	Всего	74	22,6±15,5	23	24,9±10,7	44	27,6±13,3	29	25,2±9,8	170	24,7±13,6
Всего	≤ 500	52	13,6±10,9**	16	16,4±10,4	13	21,1±6,0	13	19,4±8,1	94	15,9±10,2
	501–1000	45	29,1±13,2	22	33,7±20,7	52	33,1±12,2	25	32,4±11,2	144	31,8±13,9
	1001–1500	27	34,0±21,7	15	30,1±10,2	13	39,7±15,8	10	33,2±13,7	65	34,1±17,2
	1501–2000	54	33,0±14,8	19	31,8±17,9	32	33,2±17,7	23	26,7±12,2	128	31,7±15,7
	2001+	36	35,6±16,1	52	32,0±12,7	24	35,2±12,1	37	36,5±17,4	149	34,5±14,7

Примечание. Применялся критерий Краскала – Уоллеса; * – p = 0,038 и ** – p = 0,009

Таблица А.8 – Частота различий обеспеченности пациентов с муковисцидозом и здоровых детей витамином D в различных регионах

Регион		Содержание 25(OH)D, нг/мл	Возраст, годы				p
			0–3 (1)	4–10 (2)	11–18 (3)	Всего	
Москва	Здоровые	≤ 10,00	4,1%	0,7%	9,1%	3,8%	p ₁₋₂ < 0,05; p ₂₋₃ < 0,05
		10,01–20,00	15,1%	14,5%	21,6%	16,6%	–
		20,01–30,00	19,2%	26,3%	37,5%	27,8%	p ₁₋₂ < 0,05
		30,01+	61,6%	58,6%	31,8%	51,8%	p ₁₋₃ < 0,05
		Всего	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	–
	Муковисцидоз	≤ 10,00	0,0%	0,0%	5,0%	1,3%	
		10,01–20,00	6,5%	18,8%	25,0%	17,9%	
		20,01–30,00	19,4%	33,8%	32,5%	30,5%	
		30,01+	74,2%	47,5%	37,5%	50,3%	
		Всего	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
Красноярск	Здоровые	≤ 10,00	6,7%	0%	4,3%	3,7%	–
		10,01–20,00	20,0%	23,9%	28,3%	24,1%	–
		20,01–30,00	31,1%	26,1%	47,8%	35,0%	p ₁₋₃ < 0,05
		30,01+	42,2%	50,0%	19,6%	37,2%	–
		Всего	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	–
	Муковисцидоз	≤ 10,00	20,8%	9,1%	28,6%	14,8%	
		10,01–20,00	4,2%	19,5%	23,8%	17,2%	
		20,01–30,00	8,3%	33,8%	19,0%	26,2%	
		30,01+	66,7%	37,7%	28,6%	41,8%	p ₁₋₃ < 0,05
		Всего	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
Ставрополь	Здоровые	≤ 10,00	0%	0%	0%	0%	p ₁₋₃ < 0,05; p ₁₋₂ < 0,05
		10,01–20,00	0,0%	11,8%	33,9%	17,8%	p ₁₋₃ < 0,05
		20,01–30,00	10,0%	25,0%	33,9%	25,5%	p ₁₋₃ < 0,05
		30,01+	90,0%	63,2%	32,2%	56,7%	–
		Всего	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
	Муковисцидоз	≤ 10,00	4,8%	8,1%	23,0%	13,9%	p ₁₋₃ < 0,05
		10,01–20,00	4,8%	30,6%	18,0%	21,5%	
		20,01–30,00	19,0%	27,4%	29,5%	27,1%	
		30,01+	71,4%	33,9%	29,5%	37,5%	p ₁₋₃ < 0,05
		Всего	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Примечание: p – Z критерий сравнения долей. p₁₋₃ < 0,05 – достоверность при сравнении долей пациентов младшей и старшей возрастной группы

Таблица А.9 – Распределение генотипов гена CYP2C9*3 (1075A>C; I359L) CYP2C9*2 (430C>T; R144C), CYP2D6*4 (1846G>A), CYP3A4*1B (с.-392C>T) в зависимости от уровня 25(OH)D (нг/мл) у пациентов с МВ

Группы			I359L;1075A > C		Всего
			AA	CA	
Витамин D	≤ 10,0	N (%)	9 (5,2%)	2 (6,3%)	11 (5,4%)
	10,1–20,0	N (%)	32 (18,6%)	7 (21,9%)	39 (19,1%)
	20,1–30,0	N (%)	46 (26,7%)	10 (31,3%)	56 (27,5%)
	30,1+	N (%)	85 (49,4%)	13 (40,6%)	98 (48,0%)
Всего		N (%)	172 (100,0%)	32 (100,0%)	204 (100,0%)

Продолжение таблицы А.9

Группы			R144C; 430C>T			Всего
			CC	CT		
Витамин D зима	≤ 10,0	N	9	2		11
		%	5,6%	4,5%		5,4%
	10,1–20,0	N	32	7		39
		%	20,0%	15,9%		19,1%
	20,1–30,0	N	43	13		56
		%	26,9%	29,5%		27,5%
	30,1+	N	76	22		98
		%	47,5%	50,0%		48,0%
Всего		N	160	44		204
		%	100,0%	100,0%		100,0%
			1846G>A			Всего
			AA	GG	AG	
Витамин D зима	≤ 10,0	N	0	8	3	11
		%	0,0%	6,3%	4,8%	5,5%
	10,1–20,0	N	3	25	11	39
		%	30,0%	19,5%	17,5%	19,4%
	20,1–30,0	N	3	31	21	55
		%	30,0%	24,2%	33,3%	27,4%
	30,1+	N	4	64	28	96
		%	40,0%	50,0%	44,4%	47,8%
			392C>T			Всего
			TT	CT	CC	
Витамин D зима	≤ 10,0	N	9	2	0	11
		%	4,7%	18,2%	0,0%	5,4%
	10,1–20,0	N	35	4	0	39
		%	18,1%	36,4%	0,0%	19,0%
	20,1–30,0	N	57	0	0	57
		%	29,5%	0,0%	0,0%	27,8%
	30,1+	N	92	5	1	98
		%	47,7%	45,5%	100,0%	47,8%
Всего		N	193	11	1	205
		%	9a	2a	0a	11
Всего		N	10	128	63	201
		%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Примечание: применялся Z критерий сравнения долей. $p > 0,05$ – достоверность при сравнении долей

Таблица А.10 – Средний уровень 25(OH)D (нг/мл) у пациентов с муковисцидозом в зависимости от генотипов полиморфизмов гена *VDR*

<i>VDR polymorphism</i>	<i>N</i>	<i>25(OH)D (нг/мл): M±m</i>	<i>p</i>	
с.1206Т > С (А > G) TaqI	ТТ	98	30,0±16,6	0,04
	ТС	89	29,0±15,6	
	СС	24	28,4±10,1	
	Всего	211	21,9±12,8	
с.152Т > С FokI	ТТ	44	32,5±18,3	0,852
	ТС	98	28,0±14,4	
	СС	69	27,3±16,0	
	Всего	211	28,7±15,9	
с.1174 + 283G > А BsmII	АА	29	27,8±15,6	0,792
	GА	86	28,4±15,6	
	GG	87	29,5±16,3	
	Всего	20	28,8±15,9	

Примечание. Применялся критерий ANOVA