

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlul de manuscris

C.Z.U: 616.391:577.161.2-053.1/.2

VOLOC ALEXANDRU

**MODIFICĂRILE CLINICO – BIOLOGICE ȘI GENETICE ÎN
STATUTUL VITAMINEI D ÎN PERIOADELE PRE – ȘI
POSTNATALĂ A COPILULUI**

322.01– PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE

Autoreferatul

tezei de doctor habilitat în științe medicale

CHIȘINĂU, 2016

Teza a fost elaborată în cadrul Departamentului de Pediatrie, Instituția publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova și Institutului național de sănătate și cercetări medicale, Unitatea 561 a spitalului Saint-Vincent-de-Paul din Paris, Franța.

Consultanți științifici:

- Valentin Țurea** - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
Michèle Garabédian - doctor în științe medicale și biologice, doctor de stat, director de cercetări de I clasă, profesor.

Referenți oficiali:

- Șciuca Svetlana** - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
Volokha Alla - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar (Ucraina)
Valentin Friptu - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Componența Consiliului științific specializat:

- Palii Ina** - **Președinte**, doctor habilitat în științe medicale, conf.universitar
Curteanu Ala - **Secretar științific**, doctor în științe medicale, conferențiar universitar
Cernețchi Olga - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
Starets Olena - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar (Ucraina)
Kotova Natalia - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar (Ucraina)
Vovc Victor - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
Hadjiu Svetlana - doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar
Șeptițchi Vladimir - doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător
Cobeț Valeriu - doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

Susținerea va avea loc la 23 decembrie 2016, ora 14:00, în ședința Consiliului Științific Specializat DH – 53.322.01-06 din cadrul Institutului Mamei și Copilului din Republica Moldova (strada Burebista 93, etajul 2, sala de conferințe).

Teza de doctor habilitat și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca Universității de Stat de Medicină și Farmacie «Nicolae Testemițanu» din Republica Moldova (MD 2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sfint, 165) și la pagina web a C.N.A.A. (www.cnaa.md).

Autoreferatul a fost expedit la “23” noiembrie 2016.

Secretar științific

al Consiliului științific specializat,
doctor în științe medicale,
conferențiar universitar

_____ **Curteanu Ala**

Consultant științific

doctor habilitat în științe medicale,
profesor universitar

_____ **Valentin Țurea**

Consultant Științific

doctor în științe medicale și biologice,
doctor de stat, director de cercetări de I clasă,
profesor (Paris, Franța)

_____ **Michèle Garabédian**

Autor

doctor în științe medicale,
conferențiar universitar

_____ **Voloc Alexandru**

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei. Deficitul de vitamină D poate constitui cauza principală a dezvoltării atât a rahitismului la copii și adolescenți în perioada de creștere, a hipocalcemiei în perioada neonatală, cât și a osteoporozei/osteomalaciei la persoanele în vârstă [1-4]. Osteoporoza/osteomalacia reprezintă principala boala metabolică osoasă cronică, supranumită „epidemia tăcută”, caracterizată prin rezistență osoasă scăzută, cauzată de scăderea masei osoase și de compromiterea calității osului, ceea ce conferă risc crescut de fractură [5-9]. Ea este declarată de OMS a treia problemă de sănătate publică după afecțiunile cardiovasculare și cancer [10]. Atât factorii genetici, cât și cei ai mediului înconjurător, influențează dezvoltarea oaselor și mineralizarea pe tot parcursul vieții, dar influența lor poate fi observată începând din perioada fetală precoce, susținând astfel următoarea declarație: „osteoporoza senilă este o boală pediatrică, deoarece diferențele privind masa osoasă, diagnosticate în copilărie constituie un element de predilecție pentru osteoporoza tardivă” [1,4,7,8].

Descrierea situației în domeniul de investigare și identificarea problemelor de cercetare. Studiul epidemiologic efectuat în 1998 a demonstrat că incidența rahitismului carențial la copiii sub vârsta de 2 ani era de 56,5%, necesitând studii aprofundate în identificarea factorilor de risc implicați, cu elaborarea de strategii adecvate de corecție și prevenire a lor.

Scopul studiului: Evaluarea modificărilor statutului clinico-fiziologic și genetic al carenței vitaminei D în perioadele pre- și postnatale a copilului și căilor de corecție

Obiectivele studiului:

1. Evaluarea impactului carenței/insuficienței vitaminei D asupra statutului clinico-fiziologic și genetic la copii și adolescenți.
2. Studiarea manifestărilor deficitului vitaminei D în dependență de perioada ontogenetică de dezvoltare a copilului (intrauterină, postnatală precoce și tardivă), de anotimp și zonele climato-geografice (Moldova, Franța, Algeria, Martinica, Ingușetia).
3. Analiza comparativă a deformărilor membrelor inferioare și a parametrilor biochimici în asocieră cu valorile vitaminei D la copii și adolescenți din Moldova și Franța.
4. Depistarea impactului factorilor genetici asupra metabolismului calciului, sănătății osoase, dezvoltării fizice, prin prisma polimorfismului a 3 gene: VDR, Klotho și LCT, în asocieră cu valorile vitaminei D serice la copii de diferite vârste și adolescenți.
5. Elaborarea algoritmului de diagnostic al hipocalcemiilor, pentru optimizarea diagnosticului timpuriu.
6. Emiterea managementului de conduită al carenței vitaminei D în scopul eficientizării tratamentului și profilaxiei specifice.

Metodologia cercetării științifice. Pentru realizarea scopului și obiectivelor cercetării sunt îndeplinite două tipuri de studii: studiul prospectiv analitic caz-control, studiul de cohortă randomizat cu două brațe, cu selectarea randomizată a femeilor gravide și nou-născuților și studiul observațional. Cercetarea efectuată s-a bazat pe elaborările științifice moderne [8-20].

Noutatea și originalitatea științifică. Pentru prima dată, problema carenței vitaminei D este privită și cercetată în complex: ante- și postnatal, cu utilizarea unor metode de studiu contemporane și a unei strategii de profilaxie specifică a carenței vitaminei D, ce include cercetări aprofundate a polimorfizmului genetic al diferitor gene cu impact asupra masei și densității osoase.

Importanța teoretică a lucrării. Semnificația teoretică constă în obținerea noilor date, ce extind și aprofundează cunoștințele existente privind legitățile modificărilor fiziologice și metabolice ce sunt în raport cu metabolismul fosfocalcic și sănătatea osoasă la diferite categorii populaționale de copii.

Semnificația teoretică. Rezultatele obținute extind și aprofundează cunoștințele existente privind legitățile modificărilor fiziologice și metabolice ce sunt în raport cu metabolismul fosfocalcic și sănătatea osoasă la nou-născuți, copiii de diferite vârste și adolescenți în perioada de creștere. În rezultatul cercetărilor complexe fiziologice, metabolice și clinice au fost obținute date noi despre specificul modificării stării fiziologice a țesutului osos, statusului morfo-funcțional paralel cu modificările diverselor reacții metabolice ce sunt în raport cu activitatea osoasă.

Valoarea aplicativă a lucrării. A fost elaborat un nou concept de profilaxie specifică ante- și postnatală al hipocalcemiilor neonatale și al rahitismului carențial prin administrarea antenatală a dozei discontinue de 2,5 mg de vitamina D₃. Prin aplicarea unei strategii ante- și postnatale la toate categoriile populaționale de copii, se schimbă accentul anterior pus pe profilaxia secundară a osteoporozei pe cel primar.

Principiile de bază înaintate spre susținere publică. 1) Patternul clinic și paraclinic al rahitismului/osteopeniei, a hipocalcemiei și osteoporozei/osteomalaciei corelează cu statutul vitaminei D ; 2) Manifestările carenței vitaminei D depinde de perioada ontogenetică de dezvoltare a copilului (intrauterină, postnatală precoce și tardivă), de anotimp și zonele climato-geografice ; 3) Deformațiile membrelor inferioare și a unor parametri biochimici sunt în asocieră cu valorile pragurilor vitaminei D atât la copiii și adolescenții din Moldova, cât și celor din Franța ; 4) Dozele vitaminei 25(OH)D pentru normalizarea calcemiei sunt în funcție de haplotipurile genei VDR.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele investigațiilor realizate au fost implementate la Departamentul de Pediatrie IMSP IM și C și în Centrele Universitare Spitalicești Angondge, Owendo și Libreville, Franceville și Koula- Moutou din Africa Ecuatorială/Centrală.

Aprobarea rezultatelor științifice. Rezultatele și concluziile principale obținute la tema tezei au fost comunicate și discutate în cadrul a 20 de reuniuni științifice naționale și internaționale.

Congrese și conferințe internaționale: Congresul al 15 Internațional și al 14 European de endocrinologie. A 10-year study of vitamin D in Moldova (Florența, Italia, 2012); Ziua principală de ortopedie și traumatologie. Supplementation maternelle en vitamines D et calcium et la croissance pre- et postnatale (Havana, Cuba, 2010); 14th Vitamin D Workshop held. Growth, calcium status and vitamin D receptor (VDR) promoter genotype in European children with normal or low calcium intake (Brugge, Belgia, 2009); Ier Journée de l'Institut Claude Bernard. A polymorphisme of the human vitamin D receptor (VDR) promoter is associated with variations in bone growth and bone mass accrual in humans (Paris, 2009); Conferinței Naționale (cu prezență internațională). Estimarea riscului mediului ambiant pentru sănătatea mamei și copilului (Chișinău, 2009); La Congresul Național al Societății Franceze de Pediatrie din iunie 2007. La prophylaxie pre- et postnatale des hypocalcémie chez les nouveaux-nés. (Angers, Franța; 2007). Atelier scientifique de travail „Présentation des objectifs de la thèse et les résultats des premières étapes de l'étude 1996 – 1998” Institute national de la santé et de la recherche médicale Unité 561 et du Centre de Référence des Maladies du Calcium et du Phosphore de l'Enfant (Paris, 2007).

Conferințe și simpozioane naționale: Zilele francofoniei din incinta Universității de stat de medicină și farmacie „Nicolae Testemițanu” care s-a desfășurat sub lozinca “Etre pédiatre – un don particulier ou un souci supplémentaire”. L'impact clinico-biologique de la carence en vitamin D chez la femme enceinte et les enfants. Raport în plenară cu decernarea diplomei de gradul II (Chișinău, 2007); Conferința națională cu participare internațională cu tematica Astmul bronșic la copil. Frecvența unor factori de risc la copiii cu astm bronșic spitalizați în secția de pediatrie generală a IMSP SCMC nr.1 (Chișinău, 2006); Congresului V al igieniștilor, epidemiologilor și microbiologilor din Republica Moldova. Date privind impactul helmintozelor asupra imunității postvaccinale la difterie și tetanos la copiii dintr-o instituție de tip închis (Chișinău, 2003); Congresului V al igieniștilor, epidemiologilor și microbiologilor din Republica Moldova. Despre combaterea parazitozelor într-o instituție de tip închis (Chișinău, 2003); Congresului al III-lea al obstetricienilor – ginecologi și pediatriilor din Republica Moldova. Aspecte igienice în profilaxia unor afecțiuni la copii în Republica Moldova (Chișinău,

1999);Congresului al III-lea al obstetricienilor – ginecologi și pediatriilor din Republica Moldova. Morbiditatea și nivelul mortalității copiilor din Republica Moldova în dependență de starea lor alimentară din prezent (Chișinău; 1999); Congresului III al obstetricienilor – ginecologi și pediatriilor din Republica Moldova. Sănătatea mamei și copilului în condițiile socio-economice noi din Republica Moldova (Chișinău 1999). Zilele Universității consacrate jubileului 60 de ani ai învățământului medical superior din Republica Moldova. Prophylaxie de la carence en vitamine D chez les nouveau-nes et les nourrissons en Moldavie. (Chișinău, 2005); Conferința Națională (cu prezență internațională). Studiu asupra nutriției mamei și copilului în Republica Moldova, Chișinău, 2009; La Societatea pediatriilor și neonatologilor din Republica Moldova din 18 noiembrie 2015; Tema tezei a fost discutată și aprobată la ședința catedrei de pediatrie nr.2 (proces verbal nr.2 din 15 noiembrie 2006); La ședința Comisiei Republicane Științifico-Metodice pe problemele pediatriei a MS al RM din 6 decembrie, 2006 (procesul verbal nr.4) și cea din 2 mai, 2007 (procesul verbal nr.1); La ședința Senatului USMF „Nicolae Testemițanu” din 10 mai 2007, și prezentată colaboratorilor Institutului Național de Sănătate și Cercetări Medicale UNITATEA 561 și a „Centrului de referință a maladiilor de calciu și fosfor la copil” din Paris pe data de 13 iunie 2007; La Seminarul de profil pediatric din 14 decembrie 2015, proces verbal nr.5, La Seminarul științific de profil extern de pe lângă Institutul de fiziologie și sanocreatologie al AȘM din 16 iunie 2016, proces verbal nr.1; La Seminarul științific de profil al IMSP IMC din 28 iunie 2016, proces verbal nr.23.

Publicații la tema tezei. Rezultatele cercetării au fost relevate în 36 lucrări științifice naționale și internaționale, inclusiv: 3 monografii, 10 articole în reviste științifice internaționale, 7 articole științifice din Registrul Național (2 cu categoria B și 5 cu categoria C), materiale la forurile științifice internaționale și naționale ghiduri practice, 1 recomandare metodică, 2 dicționare farmaco-terapeutice, 4 rapoarte de studiu la UNICEF: 1. Raport „Despre situația epidemiologică a rahismului carențial în Republica Moldova”; 2. Ancheta „Familiei”; 3. Raport „Evaluarea situației alimentare a femeilor și copiilor din Republica Moldova”; 4. Ancheta „Alimentația copiilor mai mici de 5 ani în Republica Moldova”.

Volumul și structura tezei. Teza este expusă pe 176 pagini de text electronic și sunt ilustrate cu 18 figuri, 40 tabele, 14 diagrame, 12 formule. Bibliografia citează 434 surse bibliografice. În structura tezei sunt redate, conform schemei: rezumate în limba română, rusă și engleză; 5 capitole; concluzii generale, planul de cercetări de perspectivă și recomandări practice; bibliografie; declarația privind asumarea răspunderii; CV al autorului.

Cuvinte – cheie: Profilaxia prenatală și postnatală a carenței vitaminei D, statutul vitaminei D, gena Klotho, VDR, haplotipul, gena lactazică LCT.

CONȚINUTUL TEZEI

1. VIZIUNI CLINICO-BIOLOGICE ȘI GENETICE ÎN PATOGENIA CARENȚEI VITAMINEI D ÎN PERIOADA PRE- ȘI POSTNATALĂ DE DEZVOLTARE A COPILULUI (revista literaturii)

Este expusă sinteza rezultatelor investigațiilor științifice privind: prevalența deficitului de vitamina D în lume și factorii predispozanți, definiția de hipovitaminoză D, statutul normal al vitaminei D în organism, aportul necesar al vitaminei D, impactul vitaminei D asupra dezvoltării intrauterine a fătului (talie, greutatea corporală), statutul țesutului osos al copilului născut cu retard de creștere intrauterină, interacțiunea între mediul matern, statutul calciu și al vitaminei D, consecințele greutății mici la naștere, rahitismul carențial la copii de vârstă fragedă, rahitismul carențial la adolescenți, rahitismul și dentiția. Este reflectat rolul vitaminei D ca factor protector în infecțiile respiratorii acute, tuberculoză și alte granulomatoase. Au fost reflectate nu doar acțiunile clasice ale vitaminei D, ci și importanța sa în prevenirea diferitor forme de cancer, creșterii intrauterine a fătului, fortificării imune în lupta cu diverse maladii infecțioase și somatice/neurologice. Sunt descrise particularitățile carenței vitaminei D la diferite vârste a copiilor, rolul factorilor genetici și epigenetici în perioada pre-și postnatală de dezvoltare a lor. Se face o apreciere globală a carenței vitaminei D în lume, aducând informații utile referitoare la discuțiile din lume în ceea ce privește nivelul de carență al vitaminei D și normele solicitate, la care, până în prezent, nu există un consens la nivel internațional.

2. MATERIALUL ȘI METODE

Cercetările au fost efectuate la Departamentul de pediatria IP USMF « Nicolae Testemițanu », IMSP. SCMCnr.1 din mun. Chișinău, IMSP, Gimnaziul Internat din mun. Orhei, IMSP. Centrul Național Științifico-Practic de Medicină Preventivă, Spitalele raionale centrale Ialoveni și Călărași, Institutul Național de Sănătate și cercetări medicale, Unitatea 561, Imunologie, Genetică și Tratament a Maladiilor Metabolice și Diabetului din incinta Spitalului Saint-Vincent de Paul (Paris). Studiul a cuprins două etape: **Etapa I** (februarie 1998 – septembrie 1999) a fost efectuată în raza de deservire a Centrelor medicilor de familie și maternităților spitalelor raionale Călărași (lot de cercetare L₁) și Ialoveni (lot martor L₀). Lotul de cercetare L₁ a inclus 100 de gravide cărora li s-a administrat 2,5 mg de vit. D la termenul de 6 luni de gestație și lotul L₀ la care nu a fost administrată vit. D. Prima etapă a fost realizată în 2 perioade: perioada A și perioada B. Perioada A a cuprins 2 loturi de studiu: L₁ îl constituiau 100 de gravide cărora li s-a administrat la termenul de gestație de 6 luni, începând cu 1 februarie 1998, 2,5 mg de vit. D. În luna martie, 1998, în a 7 lună de sarcină, toate cele 100 de femei gravide au fost repetat examinate. Cu această ocazie, în laboratorul Spitalului central raional, a fost determinat calciul

seric și s-au prelevat 2 ml de sînge, pentru aprecierea statutului vitaminei D. Lotul de control L₀ a inclus 100 femei gravide ce trebuiau să nască, începînd cu 15 aprilie 1998. Protocolul de supraveghere a fost identic celui din raionul Călărași, cu excepția faptului că femeile din lotul martor (L₀) n-au primit vitamina D în timpul sarcinii. În momentul nașterii (aprilie – iunie 1998), s-au prelevat probe de sînge din cordonul ombilical pentru aprecierea nivelului Ca seric în laboratorul spitalului raional și s-au prelevat suplimentar câte 2 ml de sînge pentru determinarea 25(OH)D în laboratorul de referință din Paris. Lotul celor 100 de gravide selectate din lotul martor a cuprins femeile ce trebuiau să nască începînd cu 15 aprilie 1998. Lotul al III-lea de studiu, a fost constituit din 200 de nou-născuți ce proveneau de la femeile ambelor loturi (maternitatea din Călărași (lotul I) 100 nou-născuți și maternitatea din Ialoveni (lotul al II-lea) – 100 nou-născuți, cărora li s-a prelevat sînge venos din cordonul ombilical pentru determinarea calcemiei pe loc și nivelului seric al 25-(OH) vit.D în laboratorul INSERM Unitatea 561. Toți cei 200 de nou-născuți, imediat după naștere, au fost împărțiți randomizat în 2 subloturi. Primul sublot a inclus 100 de nou-născuți din ambele maternități cu numerele de ordine în intervalele 1-25; 51-75; 101-125; 151-175, cărora li s-a administrat în a 7 zi după naștere, conform protocolului de studiu, o doză orală de 100 000 UI de Vitamina D₃ la vârsta de 3, 6, 9 și 12 luni de viață, aflîndu-se sub supravegherea permanentă a medicului pediatru de circumscripție, anterior instruit și care avea la dispoziție protocolul clinic standardizat elaborat în comun cu Comitetul Internațional al metabolismului fosfo-calcic și al vitaminei D cu sediul la Paris. Sublotul al II-lea cuprindea la fel 100 de nou-născuți din ambele maternități cu numerele de ordine cuprinse în intervalele 26-50; 76-100; 126-150; 176-200, care au primit o profilaxie specifică fracționată (a cîte 700-1500 UI/zi. Ca și în sublotul I, copiii au fost supravegheați de către un medic pediatru, oficial delegat de către Ministerul Sănătății (ordinul MS nr.109 din 13 februarie 1997) și instruit în vederea depistării la timp a unor eventuale semne de rahitism carențial / hipocalcemie / hipercalcemie /hipervitaminoză, ghidîndu-se după același protocol clinic standard aplicat în practică la copiii lotului I. Protocolul de supraveghere a prevăzut, ca tuturor copiilor incluși în studiul dat ce prezentau semne de hipervitaminoză sau hipovitaminoză D, pe perioada studiului, să li se preleveze probe de sînge pentru dozarea calcemiei și a vit D în laboratorul de referință din Paris. Nou-născuții și sugarii primului an de viață au fost supravegheați și examinați în baza unor chestionare standard, vizînd manifestarea stărilor de hipocalcemie, hipovitaminoza/hipervitaminoza D, precum și al parametrilor fizici de dezvoltare (greutatea, talia, perimetrul cranian și dimensiunile fontanelor anterioare) la naștere și la vârsta de 12 luni.

La **etapa II-a**, s-a realizat studiul observațional de cohortă de tip 1 pentru a evidenția asocierea cu nivelul de 25(OH)D, incluzând două loturi: lotul de control –copiii de diferite vârste din Gimnaziul Internat din orașul Orhei – 226 copii somatic sănătoși și lotul de cercetare - 71 copii din Municipiul Chișinău, spitalizați în secția de pediatrie generală a SCMC nr.1 în perioada septembrie 2005 - aprilie 2006. Toți copiii din ambele loturi au fost examinați conform metodei clasice de examinare, având la bază un chestionar clinic standardizat. Au fost măsurate distanțele intercondilare (IC) și intermaleolare (IM) în poziție ortostatică, cu atingere reciprocă doar a genunchilor sau a gleznelor: genu valgum sau varum a fost definit ca distanță IC sau IM >5 cm. Înălțimea și indicele masei corporale (IMC) au fost evaluate atât ca valoare absolută, cât și ca scoruri z, prin comparație cu curbele de referință OMS de creștere cu ajustare după sexul și vârsta copiilor [232]. Au fost evaluate și unele semne clinice, inclusiv prezența durerilor osoase și scoliozei, precum și prin metode coprologice standard, determinată prezența parazitozelor intestinale. Ca metode de cercetare au servit analizele biochimice ale serului sanguin (nivelul seric al fosforului, calcemia, magneziemia, proteina totală, proba cu timol, glicemia, nivelul transaminazelor, ureei, creatininei. Cu consimțământul tutelarilor oficiali ai copiilor s-au prelevat câte 10 ml de sânge venos expedit mai apoi în laboratorul de referință din Franța. Cantitatea de 0,5 ml de ser a servit drept material biologic pentru determinarea statutului 25(OH)D la fiecare copil, utilizând setul comercial IDS prin metoda analizei competitive de legare a proteinelor cu evaluarea continuă externă a calității analizelor vitaminei D (Carter). Pentru efectuarea metodei de determinare a statutului vitaminei D (25(OH)D) a fost utilizată trusa Nichols. În sfârșit, fiecare eșantion de ADN era pregătit pentru secvenționare în cadrul Institutului Cochin din Paris. Lectura în institutul sus-nominalizat era complet automatizată. Au fost studiați îndeosebi Haplotipul I, II și III, paralel cu două polimorfisme localizate în -1012 (înainte de exonul 1a) și în situl de legare a Cdx-2 (în exonul 1f) al promotorului de genă VDR. Polimorfismele genei *Klotho* au fost testate prin intermediul curbelor de topire a sondelor fluorescente de hibridizare în PCR în timp real: G-395A în regiunea promotoare (rs 1207568). În studierea *polimorfismului -13910 al genei pentru lactază*, folosind setul de extracție comercial, polimorfismul MCM6 C-13910 T uman localizat în intronul 13 al micromosomului ce codează helicaza. Au fost testate 6 gene, deoarece au fost depistate variante care erau asociate cu o activitate scăzută a lactazei *in vitro* și cu malabsorbție/intoleranță a lactozei la oameni. Pentru acumularea datelor primare, au fost elaborate chestionare speciale, incluzând de la 17 până la 160 de întrebări. Indicii de laborator în cele două cohorte (Orhei și Chișinău) au fost determinați în laboratorul IMSP SCMC nr.1 din Chișinău și au inclus calciul seric, fosfații, magneziul, proteina, creatinina, hemoglobina. Reieșind din sarcinile studiului, în laboratorul parazitologic al IMSP CNȘPMP copiii ambelor

loturi au fost investigați la helminți prin metodele standard de examinare coproparazitologică. Vârsta scheletului a fost evaluată la subiecții mai mici de 16 ani prin radiografia mâinii și regiunii carpale stîngi utilizând atlasul Greulich și Pyle ca standard cu o valoare maximală egală cu 17. A fost calculată maturizarea osului (vârsta scheletică – vârsta cronologică), iar maturizarea sexuală a fost evaluată utilizînd criteriile Tanner de dezvoltare a sînului (stadiile B₁-B₅) și creșterea părului pubian (stadiile P₁-P₅). Talia și masa corpului au fost evaluate atât în valori absolute, cât și în DS, prin comparație cu curbele de creștere de referință pentru copiii francezi. În cohorta franceză analizele biochimice au fost efectuate la Spitalul din Caen și au inclus determinarea în serul sanguin - a calciului, fosfaților, activității fosfatazei alcaline, hormonului paratiroidian (PTH), osteocalcinei și a raportului calciu/creatinină în probele de urină colectate peste 2 ore după un post diurn. Investigațiile s-au realizat conform design-ului expus în Fig. 2.1. cu repartizarea pacienților în diferite grupuri.

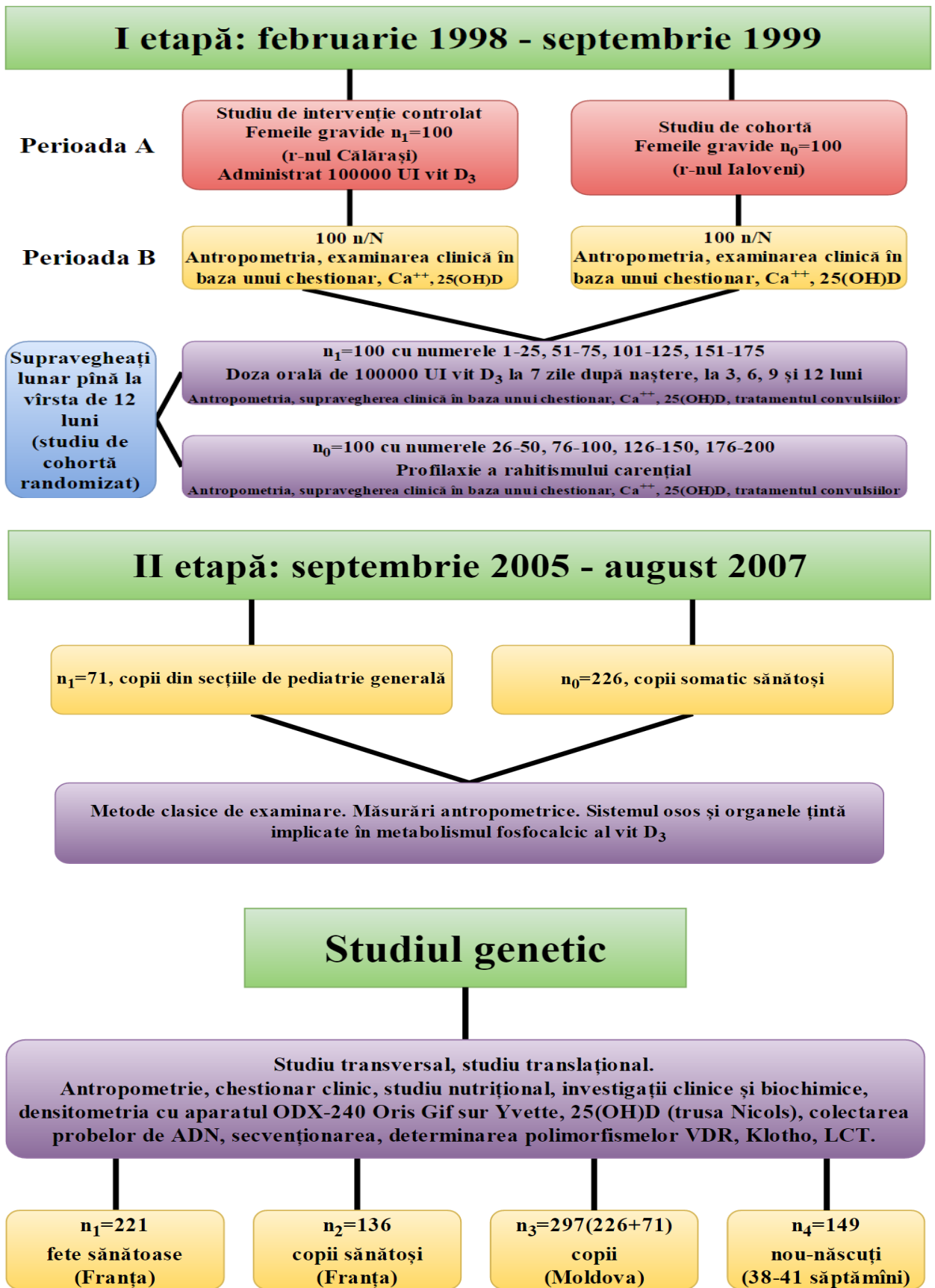


Fig. 2.1. Designul cercetării.

Testele de depistare a polimorfismelor au fost efectuate pe Roche LightCycler LC480, iar datele au fost analizate utilizând Light Cyler Software 3.5: pentru rs4516035. Variațiile sit-urilor de polimorfism au fost măsurate prin hibridizarea/fuziunea sondelor specific marcate cu fluoresceină la capătul 3' al sondei sensoare și LightCycler Red 640 la capătul 5' al sondei-ancoră (LightMix system, TIBMOLBIOL GmbH, Berlin, Germania și the Roche Diagnostics, Germania). Polimorfismul -13910 al genei pentru lactază. ADN-ul genomic a fost pregătit din sânge folosind setul de extracție comercial sus nominalizat.

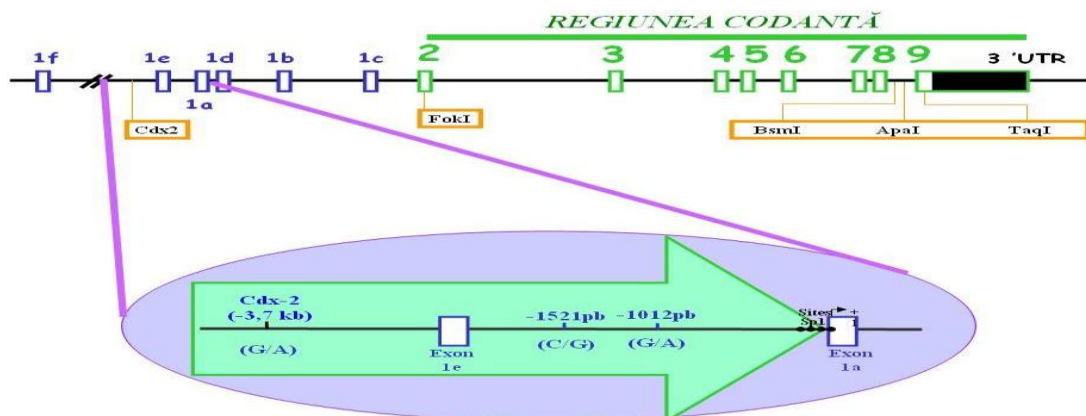


Fig. 2.2. Schema genei receptorului vitaminei D (VDR) la om (F. Jehan, M. Garabédian et al.).

Evaluarea statistică a rezultatelor cercetărilor clinice de laborator și instrumentale au fost incluse în fișele speciale ce conțineau criteriile de apreciere ale simptomelor clinice și rezultatelor de laborator. Analiza datelor a fost realizată utilizând programele Statistica 6.0 (Statsoft Inc), EXCEL și SPSS 16.0 (SPSS Inc) cu ajutorul funcțiilor și modulelor acestor programe. Veridicitatea indicatorilor a fost determinată prin calcularea erorilor standard. Pentru determinarea legăturii dintre unele semne clinice și investigații de laborator a fost utilizat indicatorul de corelație care ne-a permis stabilirea diferitor grade de corelație. Testul t_{p} , parametric impar a fost efectuat, folosind Statview 5.0 (rezultate confirmate de testul non parametric U Mann and Whitney) $p < 0,05$. Pentru calcularea prevalenței a fost utilizat Chi – pătrat. În compararea variantelor dintre diferiți parametri a fost utilizat programul ANOVA. Analiza de corelație între variabilele continue s-a efectuat prin determinarea coeficienților de corelație Pearson și, respectiv Spearman.

3. STATUTUL VITAMINEI D LA DIFERITE CATEGORII POPULAȚIONALE: FEMEI GRAVIDE, NOU-NĂSCUȚI, SUGARI, COPII DE DIFERITE VĂRSTE ȘI ADOLESCENȚI ÎN CORELAȚIE CU FACTORII ALIMENTARI, GENETICI ȘI AI MEDIULUI ÎNCONJURATOR.

3.1. Unele rezultate din perioada gravidității și cea neonatală.

Rezultatele cercetărilor efectuate (Tab.3.1.) au arătat că nou-născuții din grupul martor au fost născuți la un termen mediu de 39 săptămâni, cu o greutate medie la naștere de $3,24 \pm 0,4$ kg și o suprafață a fontanelei anterioare de $4,1 \pm 3,1$ cm²., nivelul seric al Ca din sângele prelevat din cordonul ombilical fiind foarte jos (1,74 mmol/l) ca și cel al 25-(OH)D (13,5 ng/ml). Mai mult decât atât, un nou-născut din 4 (27%) avea o valoare cu 25-(OH)D mai joasă de pragul de 10 ng/ml, sub care este considerat un deficit de vitamina D în perioada neonatală (31) Valori asemănătoare au fost depistate în Franța, situată la aceeași latitudine cu Moldova, la femeile ce au născut la sfârșitul iernii și nu au primit vitamină D în timpul gravidității. Aproape jumătate (48%) din acești nou-născuți, au prezentat semne neurologice ce evocau o stare de hipocalcemie. Nivelul seric al Ca era foarte scăzut (1,28 mmol/l) și semnificativ mult mai scăzut decât la copiii care nu prezentau semne neurologice hipocalcemice (2,11 mmol/l). În grupa cu semne de hipocalcemie, 32% dintre copii aveau rezerve joase în vitamina D (concentrația 25-(OH)D din sângele cordonului ombilical era mai jos de 10 ng/ml). Situația nou-născuților din raionul Călărași (lot de intervenție/cercetare) a fost cu totul alta. În comparație cu cele constatate în raionul Ialoveni, nou-născuții mamelor cărora au fost suplimentate cu vitamina D₃, aveau: o talie cu 1,7 cm mai mare, nereferindu-se la termenul mai mic la naștere; un perimetru cranian mai redus și o suprafață a fontanelei anterioare mai mică; o concentrație a 25-(OH)D mai ridicată, majoritatea rămânând în limitele valorilor normale (10-40 ng/ml); o concentrație medie normală (2,31 mmol/l) a calciului din sângele cordonului ombilical al copiilor. Prin urmare, aceste rezultate sugerează un risc semnificativ de carență în vitamina D la femeile moldovence care nasc la sfârșitul primăverii și chiar vara. Ele arată, în același timp, că aportul a 2,5 mg (100.000UI) de vitamina D femeilor gravide în a 6 lună de sarcină, permite normalizarea rezervelor vitaminei D la nou-născuți, fără riscul de supradozare. Datele clinice și biologice ne-au permis să evaluăm consecințele neonatale a carenței în vitamina D și posibilitățile prevenirii lor prin suplimentarea maternă cu vitamina D în ultimul trimestru de sarcină. Vitamina D are un impact pozitiv asupra mineralizării bolții craniene și dimensiunilor fontanelei mari. Reducerea perimetrului cranian și suprafeței fontanelei anterioare observate la copiii din raionul Călărași ne pot sugera despre efectul benefic al suplimentării materne în vitamina D, asupra mineralizării bolții craniene,, *in utero*”. Același efect benefic a avut loc și asupra taliei,, *in utero*”. În ceea ce privește riscul manifestărilor clinice hipocalcemice, astfel de semne au fost frecvent observate (48%) la copiii născuți de mamele care n-au fost suplimentate cu vitamina D. Aceste manifestări clinice din primele zile de viață au fost însoțite de un nivel foarte mic al Ca din sângele cordonului ombilical prelevat în momentul nașterii. Ele erau cu mult mai frecvente (61%) la

copiii cu un deficit al vitaminei D obiectivizat de valorile mai joase de 10 ng/ml ale 25-(OH)D din cordonul ombilical (Tab.3.1.).

Tabelul 3.1. Hipocalcemia neonatală și datele biochimice la copiii născuți în Ialoveni (media ± ES)

Semne clinice de hipocalcemie neonatală	Absente (n=46)	Prezente (n=43)	Total (n=89)
*Calciu seric (mmol/L)	2,11±0,59	1,28±0,44	1,74±0,68
25(OH)D seric (ng/ml)	13,6±0,50	13,7±0,46	13,5±4,9
% de nou-născuți cu 25(OH)D ≤ 10 ng/ml	20,4 %	32,5 %	27 %

* $p < 0,05$

3.2. Rezultatele cercetării la copii în primul an de viață

În grupul din Ialoveni, 89 de copii au fost supravegheați pe parcursul primului an de viață. O doză trimestrială de 2,5 mg de vitamină D₃ a fost administrată la 44 copii (100 000 UI/ 3 luni, sau un aport total de 500 000 UI până la vârsta de un an). La ceilalți copii, teoretic s-a efectuat profilaxia obișnuită: 700 – 1500 UI/zi de vitamină D₃ la 11 copii (sau un aport total teoretic de 547 500 UI). Specificarea modalității de profilaxie n-a fost posibilă la ceilalți 34 copii. Studiul a demonstrat că semnele clinice neuromusculare care evocă carența vitaminei D au fost observate la 23% dintre copiii care n-au fost suplimentați cu vit. D. Aceste semne au fost, în primul rând, observate la vârsta între 1 și 4 luni, în perioada când copiii au fost alimentați la sân: 5 au avut manifestări de hipocalcemie; 3 au avut semne de hipotonie musculară, craniotabes și semne osoase caracteristice rahitismului în stadiul I sau II; 1 avea o fractură de os lung. Niciun semn de acest tip n-a fost observat la copiii ce au primit zilnic sau trimestrial vitamină D. Nicio diferență n-a fost determinată între grupurile cu sau fără suplimentare cu vitamină D în ceea ce privește datele antropometrice, frecvența afecțiunilor respiratorii de tipul bronșitei, sau în observarea semnelor clinice și hematologice ale anemiei. Aceste rezultate au fost obținute într-un grup populațional, majoritatea copiilor fiind alimentați la sân timp de 9 luni (de la 73% până la 83%). Nicio relație n-a fost determinată între frecvența semnelor de carență de vitamină D și durata alimentației naturale (Tab.3.2.).

Tabelul 3.2. Rezultatele supravegherii clinice și aportul de vitamina D la copiii din lotul martor

Aportul de vitamina D	trimestrial (n=49)	zilnic (n=11)	nespecificat sau absent (n=29)
<i>Semne clinice de carență de vitamina D</i>			
Rahitism	0	0	5 (15 %)
Hipocalcemie	0	0	3 (9 %)
Fracturi	0	0	1 (3 %)
Total	0	0	8* (23 %)
<i>Alte semne clinice</i>			
Anemie	10 (23 %)	2 (18 %)	10 (30 %)
Bronșită	8 (18 %)	2 (18 %)	9 (26 %)
<i>Antropometria la vârsta de 1 an:</i>			
Masa (kg)	10±1,0	10±0,7	10,5±1,5
Înălțimea (cm)	74,4±2,2	74,4±2,1	74,7±2,2
<i>Durata alimentației la sân:</i>			
Mai puțin de 1 lună	2 (5 %)	1 (9 %)	2 (6 %)
1-6 luni	11 (25 %)	1 (9 %)	3 (9 %)
6-9-12 luni	31 (70 %)	9 (82 %)	29 (85 %)

Cifrele indică numărul copiilor ce corespunde criteriului respectiv (și procentul din grupul respectiv)

**: un copil avea rahitism și semne clinice de hipocalcemie*

În raionul Călărași (lotul de cercetare) a fost posibilă supravegherea pe parcursul primului an de viață a 91 de copii din lotul de cercetare, inclusiv 84 (95%) copii care au primit alimentație naturală pe parcursul întregului an de viață (Tab. 3.3). Datele antropometrice au fost similare celor obținute în lotul martor, prin urmare, în acest studiu, profilaxia maternă a deficitului de vitamină D a dus la intensificarea creșterii intrauterine în lungime (Tab. 3.1), însă niciun efect nu a fost observat la vârsta de un an (Tab. 3.2 și 3.3). Prin contrast, în grupul de copii din Călărași, mamele cărora au primit 2,5 mg de vitamină D₃ la luna a 6-a de sarcină, doar un singur copil a avut semne clinice de rahitism, și încă unul – simptome clinice de hipocalcemie, niciun copil nu a avut fracturi, doar 6% au avut anemie și 12% – bronșită. Aceste incidențe sunt toate mai mici decât cele determinate în cohorta din Ialoveni (Tab.3.3) Acest fapt sugerează că prevenirea deficienței materne a avut o influență de protecție împotriva apariției acestor simptome în timpul primului an de viață. Ca și în Ialoveni, au fost individualizate trei grupe de profilaxie cu

vitamină D: copiii care au primit o doză trimestrială de 2,5 mg de vitamină D₃ (100 000 UI/3 luni, sau un aport total de 500 000 UI până la vârsta de un an); copiii care teoretic au primit o profilaxie fracționată; copiii pentru care nu a putut fi obținută informație privind profilaxia cu vitamina D. Ca și în lotul martor, profilaxia cu vitamină D nu a influențat semnificativ asupra parametrilor antropometrici, însă rahitismul și hipocalcemia au fost observate numai la sugarii care nu au primit vitamina D zilnic sau trimestrial. În plus, anemia (17%) și bronșita (41%) au fost mai frecvent întâlnite în lotul de copii la care suplimentarea cu vitamina D a fost absentă sau nespecificată, în comparație cu copiii care au primit doze zilnice sau stoss de vitamină D (3-10%). Nu au fost determinate diferențe statistic semnificative între copiii care au primit doze zilnice sau doze trimestriale de vitamină D. Astfel, profilaxia postnatală cu vitamină D, fie în doze zilnice sau trimestriale, previne apariția simptomelor clinice ale deficitului de vitamină D în timpul primului an de viață. Profilaxia maternă nu pare să aibă acest rol preventiv, însă apariția simptomelor se observă mai puțin frecvent și sunt mai puțin severe la sugarii născuți de către mamele care au primit suplimentare cu vitamină D. Riscul de dezvoltare a anemiei și bronșitei, de asemenea, pare a fi în corelație cu suplimentarea cu vitamină D, atât înainte cât și după naștere. Incidența mai mică a acestor boli a fost observată la sugarii născuți de către mamele care au primit suplimentar vitamină D și cărora, postnatal, li s-a administrat vitamina D în mod regulat.

Tabelul 3.3. Supravegherea clinică și aportul de vitamină D în primul an de viață în Călărași

Aportul de vitamina D	trimestrial (n=41)	zilnic (n=38)	nespecificat sau absent (n=12)
Semne clinice de carență de vitamina D			
Rahitism	0	0	1 (8 %)
Hipocalcemie	0	0	1 (8 %)
Fracturi	0	0	0
Total	0	0	2 (16 %)
Alte semne clinice			
Anemie	3 (7 %)	1 (3 %)	2 (17 %)
Bronșită	2 (5 %)	4 (10 %)	5 (41 %)
Antropometria la vârsta de 1 an:			
Masa (kg)	11,0±0,2	10,9±0,2	10,8±0,4
Înălțimea (cm)	74.9±1,9	74.0±1,2	74.8±1,2
Durata alimentației la sân:			
Mai puțin de 1 lună	0	0	1 (8 %)
1-6 luni	2 (5 %)	3 (8 %)	1 (8 %)
6-9-12 luni	39 (95 %)	35 (92 %)	10 (84 %)

Cifrele indică numărul copiilor ce corespund criteriului respectiv (și procentul din grupul respectiv).

Rezultatele analizelor biochimice efectuate la vârsta de 1 an. În grupul de cercetare, prelevările sanguine pentru determinarea statutului vitaminei D la vârsta de 1 an au fost posibile la 91 de copii. Aceste dozări au putut fi efectuate la 91 copii din lotul de cercetare și 87 de copii din lotul de control (Tab. 3.4).

Tabelul 3.4. Datele biochimice ale copiilor la vârsta de 1 an.

Centrul	Lotul de cercetare	Lotul de control	T	p	Lotul de cercetare	Lotul de control	Lotul de cercetare	Lotul de control	X ²	P
Aportul vitaminei D	N-a fost specificat				Zilnic	Zilnic	Trimestrial	Trimestrial		
Numărul	12	29			38	11	41	49		
Ca seric mmol/l (m±1DS)	2,22±0,06	1,89±0,08	2,36	••	2,1±0,1	2,0±0,16	2,14±0,1	2,02±0,06	2.54	•
25(OH)D ng/ml (m±1DS)	33,0±1,9	30,0±0,55	1,52	•	33,2±4,9	33,0±4,8	32,0±2,6	53,0±6,29	12.6	• • •

• $p > 0,05$; •• $p < 0,01$; ••• $p < 0,001$

Tabelul 3.5. Nivelul 25(OH)D la copiii la vârsta de 1 an la care suplimentarea n-a fost specificată

25(OH)D	Lotul L1 n ₁ =12	Lotul L0 n ₀ =29	RR	95% Î
≤ 10 ng/ml	0	3	0	-
11-39 ng/ml	7	21	1,03	0,841-1,184
40-79 ng/ml	3	5	2,5	1,235-3,954
≥ 80 ng/ml	2	0	0	-

Tabelul 3.6. Nivelul 25(OH)D la copiii la vârsta de 1 an suplimentați cu vitamină D trimestrial.

25(OH)D	Lotul L1 n ₁ =41	Lotul L0 n ₀ =49	RR	95% Î
≤ 10 ng/ml	2	1	3,5	2,831-4,106
11-39 ng/ml	20	39	1,43	1,101-2,424
40-79 ng/ml	6	9	1,94	0,804-1,109
≥ 80 ng/ml	13	0	0	-

La copiii care au primit o profilaxie „obișnuită” recomandată de către OMS/UNICEF, nivelul 25(OH)D era în limitele valorilor dorite (10-40 ng/ml) la majoritatea copiilor din ambele loturi, și cu predilecție la cei ce primeau 1500 UI/zi de vitamină D₃. O heterogenitate mai mare a fost observată la copiii la care aportul vit. D n-a fost specificat, 3(3%) dintre ei având în total în ambele subloturi, un nivel de 25(OH)D sub pragul de jos specificat (10 ng/ml). Tot în acest grup au fost determinate valori mai joase ale calcemiei. În mod contrar, 13(32%) din valorile 25(OH)D din lotul I, erau mai mari de 80 ng/ml într-o zonă care ar putea fi considerată cu risc de

„supraîncărcare” cu vitamină D, chiar dacă în publicațiile ce descriu semnele clinice și biochimice (hipercalcemie, hipercalciurie) ale intoxicației cu vitamină D se vorbește despre concentrații de 25(OH)D net superioare (>200ng/ml). La copiii din lotul de cercetare care au primit vitamină D în mod trimestrial valorile 25(OH)D erau în majoritatea cazurilor în limitele normale, iar valorile medii erau comparabile cu cele determinate la copiii cu profilaxie fracționată utilizată în Republica Moldova. Ele erau comparabile cu valorile medii ale 25(OH)D determinate în același laborator la alți copii ce au primit un aport trimestrial de vitamină D (de exemplu, 27±12 ng/ml la copiii examinați din Algeria) [32]. Nivelul dat era semnificativ mai înalt la copiii din Ialoveni, ceea ce sugerează că copiii au primit doze mai mari comparativ cu cele trimestriale, sau au primit concomitent alte medicamente ce conțineau vitamină D. În acest grup, 32% dintre copii aveau valori ale 25(OH)D peste 80 ng/ml, nivel care ca și în lotul martor din Ialoveni, ar putea fi considerat cu risc de „supraîncărcare” cu vitamină D, dar nicidecum de o eventuală hipervitaminoză pentru care nivelurile din ser ating valori de peste 200 – 300 ng/ml.

3.3. Suplimentarea maternă cu vitamină D, calcemia și creșterea pre- și postnatală. Studiu multicentric internațional.

Așezarea geografică a țărilor are o importanță deosebită, deoarece sinteza endogenă a vitaminei D în stratul epidermal depinde de energia razelor ultraviolete ale spectrului solar, cu o sinteză semnificativă pe parcursul întregului an pe insulele Caraibe, inclusiv Martinica, pe când în alte regiuni examinate în acest studiu sinteza vitaminei D este semnificativă doar în perioada de vară (mai – octombrie) (Fig.3.1).

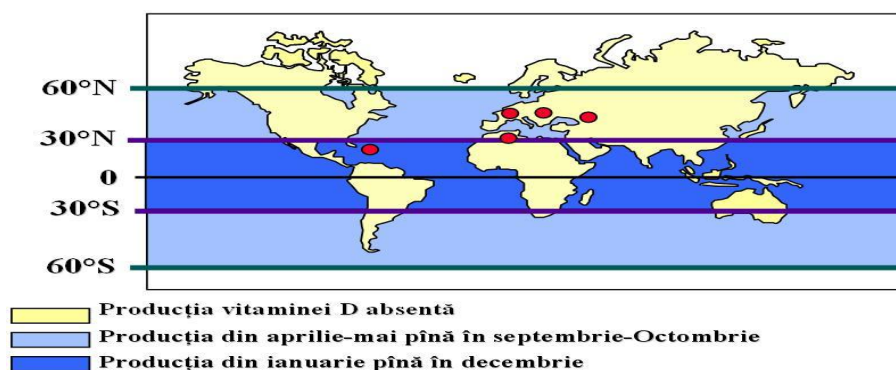


Fig. 3.1. Distribuirea geografică a țărilor studiate și sinteza cutanată a vitaminei D

3.3.1.Descrierea rezultatelor comparative.

S-a constatat că doar în Martinica statutul vitaminei D era satisfăcător și depășea nivelul de 30 ng/ml, în rest, statutul vitaminei D se află sub nivelul de 12 ng/ml, ceea ce denotă faptul că sinteza endogenă a vitaminei D este insuficientă atât în lunile însorite, cât și în cele reci ale anului, justificând o dată în plus necesitatea suplimentării cu vitamină D a femeilor gravide (Fig. 3.2).

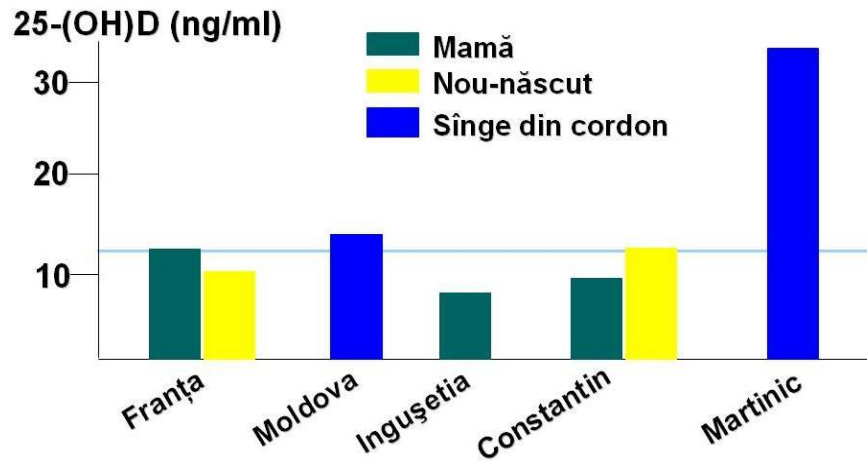


Fig. 3.2. Concentrațiile 25(OH)D la gravidele ce au născut la sfârșitul iernii în absența suplimentării materne

Valori mai joase, comparabile cu cele determinate în Inguetia, au fost înregistrate și în Algeria, deși ea este situată la o latitudine mai joasă (30°N). Răspunsurile primite la un chestionar efectuat în orașul Constantin au arătat că nivelurile de 25(OH)D au fost invers asociate cu expunerea la soare și cu numărul de sarcini, sugerând că sarcinile frecvente și alimentările la sân de lungă durată nu au permis repleția rezervelor de vitamină D între gravidități.

Nivelurile serice ale 25(OH)D, erau semnificativ mai înalte în Martinica, insulă situată la latitudine joasă, unde femeile se expun la acțiunea razelor solare și în pofida pigmentării intense a pielii, care ar putea scădea abilitatea dermei de a produce vitamina D. O determinare a nivelurilor vitaminei D, calciului și hormonului paratiroidian efectuată simultan la 58 nou-născuți francezi, mamele cărora nu au primit vitamină D suplimentar în timpul sarcinii, arată că femeile cu nivelul 25(OH)D mai jos de pragul de 12 ng/ml aveau valori scăzute ale calcemiei și valori înalte ale PTH seric, fapt ce sugerează existența unui hiperparatiroidism secundar, care ar putea agrava resorbția osoasă maternă. Trei studii dintre cele efectuate (Franța, Moldova, Constantin), datele referitoare la mamele nesuplimentate au fost obținute în cadrul studiului de perspectivă cu control placebo. Al doilea braț al studiului a inclus femeile gravide egalizate după parametri, care au primit 100 000 UI (2,5 mg) vitamină D într-o singură doză orală la termenul de gestație de 6 luni. Femeile din Constantin, Algeria, au primit 2 doze – la 6 și 8 luni, deoarece studiile preliminare au arătat o deficiență severă a vitaminei D la aceste femei. În cele 3 țări, după suplimentarea cu vitamina D, valorile medii ale 25(OH)D în sângele din cordonul ombilical, la nou-născuți și/sau la mame, erau egale sau mai mari de 20 ng/ml (Fig. 3.3) la sfârșitul iernii. Valorile sunt comparabile cu cele obținute la mamele nesuplimentate din Martinica.

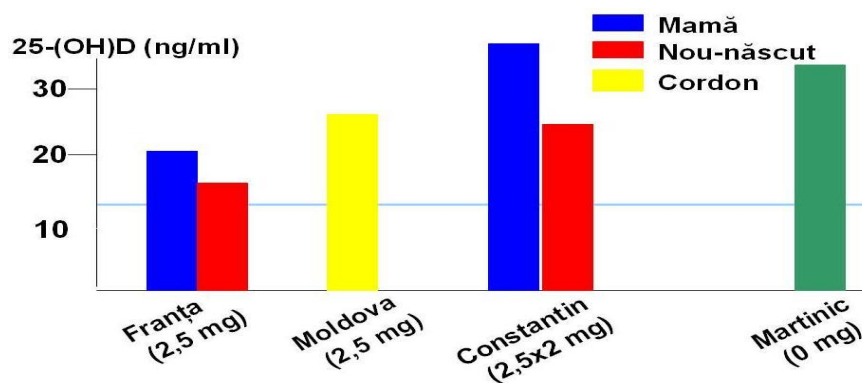


Fig. 3.3. Nivelul de 25(OH)D la nașteredupă suplimentarea maternăcu vitamină D.

Strategia stoss de profilaxie a carenței vitaminei D cu o doză moderată de vitamină D la femeile gravide și la copiii în primul an de viață (administrarea a 2,5 mg de vitamină D₃ la 6 și 7 luni de gestație și în mod trimestrial până la vârsta de 12 luni postnatal), este inclusă în programul național de alimentație al femeilor gravide și al copiilor de toate vârstele în Franța începând cu anul 2001, fapt pozitiv apreciat la nivel național și lipsit de efecte adverse sau vreun caz raportat de hipervitaminoză clinică sau biologică. Prezentul studiu comparativ al suplimentării femeilor însărcinate cu vitamină D prin aceasta metodă a demonstrat o diferență semnificativă între statutul vitaminei D al femeilor suplimentate la acest termen de gestație și al celor care n-au beneficiat de aceasta suplimentare, în toate cele trei țări. Interes a prezentat faptul că compararea acestor studii efectuate în Franța, Republica Moldova și Republica Democrată Algeriană arată în toate aceste trei țări o scădere importantă a ratei hipocalcemiei biologice neonatale la sugarii născuți la sfârșitul iernii, în cazul în care mamele lor au primit vitamină D suplimentar. Aplicarea strategiei stoss de profilaxie specifică a carenței vitaminei D în a 6 și a 9 lună de gestație la femeile din orașul Constantin, a demonstrat în mod elocvent impactul pozitiv asupra statutului vitaminei D matern și al calciului seric la nou-născuți, față de femeile însărcinate care n-au beneficiat de această profilaxie antenatală. Aceeași situație constatăm și la nou-născuții femeilor suplimentate sau nesuplimentate cu vitamină D în timpul sarcinii la termenul de 6 luni și 8 luni de gestație, nivelul seric al 25(OH)D, calciului și fosfatazei alcaline, fiind semnificativ diferit. Rezultatele obținute ulterior, relevă elocvent diminuarea incidenței rahitismului în orașul Constantin. Acest fapt însă ar putea fi interpretat ca rezultat al unei supravegheri medicale îmbunătățite sau al ameliorării condițiilor sociale din anul 1985 până în 1995 și nu poate permite afirmarea cu siguranță a impactului suplimentării materne asupra incidenței ulterioare a rahitismului la nou-născut. Pentru a studia relația între carența maternă a vitaminei D și creșterea fetală, a fost efectuat un studiu similar cu cel din Republica Moldova la 200 nou-născuți, mamele cărora au fost suplimentate sau nu cu vitamină D în timpul sarcinii din orașul Constantin. S-a

constatat un impact pozitiv accentuat asupra nou-născuților al acestei profilaxii specifice administrate în a 6-a și a 8-a lună de sarcină. Studiul efectuat de către noi sugerează existența unui risc semnificativ de dezvoltare a deficitului de vitamină D la femeile din Republica Moldova care au născut primăvara târziu sau chiar vara. Aceasta ne-a permis să concluzionăm că aportul de 2,5 mg (100 000 UI) de vitamină D la a 6-a lună de sarcină permite normalizarea statutului vitaminei D la nou-născut fără risc de supradozare, cu un impact pozitiv asupra mineralizării bolții craniene și asupra lungimii in utero, împreună cu o scădere a incidenței hipocalcemiei în primele zile de viață (Tab. 3.7.).

Tabelul 3.7. Carența vitaminei D și creșterea fetală în Republica Moldova (n=200)

Profilaxia carenței de vitamina D	NU	DA*	T	P
Termenul de sarcină	39,3±0,11	38,9±0,11	2,0	••
Greutatea (kg)	3,2± 0,04	3,3 ± 0,05	1,7	•
Înălțimea (cm)	50 ± 0,1	51,6 ± 0,2	8,0	••••
PC (cm)	35 ± 0,1	34 ± 0,14	5,0	••••
Fontanela anterioară (cm ²)	4,1± 0,31	1,5 ± 0,12	8,7	••••

* 2,5 mg de vitamina D3 în a 6-a și a 8-a lună de sarcină; • $p > 0,05$; •• $p < 0,05$; •••• $p < 0,001$

Datele obținute în cadrul studiului nostru referitor la corelația antropometrie/statut vitamino-calcic la 200 nou-născuți (coeficientul r^2 și F), confirmă existența unei corelații pozitive între nivelurile de 25(OH)D la mame și nou-născuți cu înălțimea, greutatea, IMC și perimetrul cranian (Tab. 3.8.).

Tabelul 3.8. Corelația antropometrie/statut vitamino-calcic la 200 nou-născuți (coeficienții r și p).

Indicatori evaluați	Calcemia la mame	Calcemia la nou-născuți	25(OH)D la mame	25(OH)D la nou-născuți
Termen de sarcină	0,22 (0,002)	0,15 (0,040)	0,09 (n.s.)	0,14 (n.s.)
Înălțime	0,18 (0,009)	0,12 (n.s.)	0,35 (0,001)	0,18 (n.s.)
Greutate	0,13 (n.s.)	0,40 (0,001)	0,41 (0,001)	0,27 (0,011)
PC	0,02 (n.s.)	0,27 (0,001)	0,34 (0,001)	0,22 (0,040)
IMC	0,10 (n.s.)	0,39 (0,001)	0,36 (0,001)	0,25 (0,023)
Suprafața corpului	0,16 (0,026)	0,41 (0,001)	0,44 (0,001)	0,29 (0,008)

n.s. – valori p nesemnificativ

3.3.2. Statutul nutrițional și al vitaminei D, consecințele clinice și biologice la copiii și adolescenții din Republica Moldova

S-a constatat o alimentație precară la copiii instituționalizați din Gimnaziul internat din Orhei: aport scăzut de calciu (439mg/zi), inclusiv, doar 69 mg din contul laptelui/produselor lactate,

aport scăzut de magneziu (225 mg/zi) și fosfați (921 mg/zi) și un aport scăzut de proteine de origine animală (24g/zi) pe aportul de vitamina D, fiind satisfăcător. Aporturile zilnice la copiii din Spitalul Clinic Municipal de copii nr.1 au fost semnificativ diferite ($p < 0,001$) proteine totale – 89g inclusiv proteine de origine animalieră 48g, energie – 3162kcal, fosfați 1,03mg, magneziu – 273,8 mg. Aportul de calciu pe zi a fost 930mg, inclusiv 550mg de lapte și produse lactate. Studiul a stabilit că adolescenții de ambele sexe din Gimnaziul Internat din Orhei aveau o talie mai mică în comparație cu subiecții din grupul de control, precum și în raport cu curbele de referință de creștere OMS. Cele două cohorte supuse studiului aveau o sănătate dentară precară și o prevalență crescută a simptomelor gastrointestinale, preponderent multiple, dar în unele cazuri și izolate de greață (17%) și dureri abdominale izolate (20%). Infestațiile parazitare erau frecvente, cu diferențe semnificative în ceea ce privește paraziții identificați. În ambele loturi s-a înregistrat o prevalență scăzută a scoliozei și a durerilor osoase (sub 10%), însă genu varum/genu valgum au fost înregistrate cu o frecvență mai înaltă la Școala Internat (15%), deși diferența cu incidența observată în cohorta de control (7%) nu a fost semnificativă. În comparație cu lotul de control ajustat după vârstă, subiecții din Gimnaziul Internat aveau valori mai joase ale calciului, magneziului seric și hemoglobinei și un nivel mediu mai mare al fosfaților în ser. Aceste rezultate vorbesc despre o carență marțială la acești copii și o alimentație dezechilibrată, irațională. În plus, la copiii din lotul de studiu din internat s-au înregistrat valori mai joase ale creatininei serice înainte de pubertate și o activitate mai înaltă a fosfatazei alcaline în perioada de pubertate comparativ cu grupul de control ajustat după vârstă. Nu a fost depistată o corelație între activitatea fosfatazei alcaline serice și activitatea aminotransferazelor atât în lotul de studiu, cât și în cel de control înainte sau în timpul pubertății. S-a constatat că subiecții examinați din Gimnaziul Internat din mediul rural în perioada între ianuarie și aprilie au avut o valoare medie \pm DS a 25(OH)D seric de 44 ± 16 nmol/l, respectiv cu o prevalență a valorilor nivelului 25(OH)D ≤ 30 , ≤ 50 și ≤ 75 nmol/l egală cu 21, 53 și 26% respectiv. Acest statut al vitaminei D era mai înalt decât cel măsurat la copiii și adolescenții din lotul de control care locuiau în Mun. Chișinău fie în apartament ($35,6 \pm 1,8$ nmol/l), fie în casă pe pământ ($37,0 \pm 2,3$ nmol/l). El nu a fost influențat de maturizarea pubertară, însă varia în funcție de sex: fetele din gimnaziul internat aveau valori medii ale 25(OH)D mai mici decât băieții ($40,2 \pm 14,8$ față de $46,5 \pm 16,0$ nmol/l, $P < 0,0031$). Pentru a evalua asocierile între statutul vitaminei D și caracteristicile clinice sau biochimice participanții din lotul de studiu din gimnaziul internat au fost divizați în baza nivelurilor lor serice ale 25(OH)D, folosind valorile de prag de 30, 40 și 50 nmol/l. La participanții cu valori ale 25(OH)D ≤ 30 nmol/l s-a înregistrat o prevalență ridicată a deformărilor gambelor (36%), comparativ cu cei cu niveluri 25(OH)D între 31 și 40 nmol/l (9%) și între 41 și 50 nmol/l (13%),

sau peste 50 nmol/l (7%). Prevalența genu varum/valgum dependentă de valorile 25(OH)D nu a fost influențată de statutul de pubertate și de apartenența de gen. Prevalența deformărilor gambelor era prea joasă în lotul de control (5 copii sau 7% din cohortă) și dimensiunea cohortei era prea mică pentru a permite efectuarea studiilor de asociere, folosind pragurile de 25(OH)D. Totodată, la niciun copil din cei 28 din lotul de control cu nivelul 25(OH)D \leq 30 nmol/l nu a fost depistate deformări ale membrelor inferioare. Valorile joase ale 25(OH)D (mai mici sau egale cu 30 nmol/l) au fost, de asemenea, asociate cu o activitate mai înaltă a fosfatazei alcaline la copiii din internat de vârstă prepubertară. O astfel de asociere nu a fost depistată în timpul pubertății, valorile fosfatazei alcaline fiind semnificativ înalte în subgrupul de adolescenți din Gimnaziul Internatnt, indiferent de nivelurile lor de 25(OH)D. De asemenea, nu am depistat nicio corelație între activitatea fosfatazei alcaline serice și activitatea aminotransferazelor în perioada de pre- și postpubertate. Comparând frecvența helmintiazelor din ambele cohorte, am constatat o frecvență echivalentă (60% la Chișinău și 52% la Orhei). În același timp, frecvența lor diferă în funcție de parazitul depistat. Astfel, frecvența ascaridiozei, trihocefalozei și giardiazeei era mai înaltă la Chișinău decât la Orhei, deși giardiaza se întâlnește mai des în colectivități, internate etc. Și, din contră, frecvența enterobiozei era mai mică la Chișinău decât la Orhei. N-am depistat nicio asociere între nivelul 25(OH)D și prezența sau absența parazitozelor intestinale sau tipul de parazitoză la ei. Totodată, efectuând o analiză mai amplă a posibilei asocieri între infestația cu paraziți intestinali și statutul vitaminei D, precum și nivelul calciului, magneziului seric și al activității fosfatazei alcaline, am observat o diferență semnificativă a unor indici biochimici. Studiul a demonstrat că parazitozele intestinale nu influențează masa corporală, talia sau IMC. Șapte copii cu poliinvazie aveau o înălțime mai mică, dar numărul lor a fost prea mic pentru a valida datele. În contrast, concentrații mai mici ale hemoglobinei serice au fost determinate la copiii cu toate tipurile de parazitoză, cu excepția giardiazeei. Ceilalți parametri biochimici nu au demonstrat nicio diferență la copiii infestați și neinfestați, cu mici excepții: valori mai joase ale creatininei serice au fost înregistrate la copiii cu enterobioză; valori mai înalte ale calciului și magneziului seric au fost înregistrate la 13 copii cu infestare cu giardia. Copiii cu parazitoză, indiferent de tipul acesteia, au avut unele semne digestive mai frecvente decât copiii fără infestare. Totuși, frecvența afecțiunilor pulmonare, hepatobiliare, dentare și a deformităților osoase nu a fost influențată de prezența sau absența parazitozelor intestinale. Tot în acest capitol, este reflectat studiul variantelor polimorfismelor mai frecvent întâlnite (-13910 lactază, Klotho și al promotorului VDR). Inițial, noi am constatat că distribuția variantelor în ambele cohorte din Chișinău și Orhei nu se deosebeau esențial de cele depistate la adolescenții din Franța. Cercetările efectuate anterior în lume (statutul vit. D, metabolismul calcic și genotipul depistat) au

demonstrat prezența unei corelații strânse între statutul vitaminic D la adolescenții sănătoși și genotipurile depistate. La cohortele din Chișinău și Orhei această corelație n-a fost depistată. Doar un copil mai mic de 12 ani a fost purtător de genotip CC pentru gena lactazei, iar un alt copil era purtător de genotip 2 Hap1 în Chișinău. N-am constatat nicio corelație între statutul vitaminei D, polimorfismul asociat activității lactazei sau varianta genei Klotho. În cele din urmă, noi am analizat influența posibilă a genotipurilor sus-nominalizate asupra calcemiei pentru un nivel dat al 25(OH)D. Nu s-a observat nicio corelație între calcemie și genotipul Klotho la copiii din cohorta din Chișinău. Din contră, devine clar că normalizarea calcemiei la acești copii este influențată de nivelurile diferite ale 25(OH)D în dependență de genotipul VDR. Cercetările efectuate în cadrul descris în capitolul dat, au demonstrat clar, că pentru normalizarea calcemiei la acești copii se cereau doze diferite de 25(OH)D în funcție de genotipul VDR. Astfel, o calcemie medie de 90 mg/l este atinsă la un nivel al 25(OH)D mai mare de 12 ng/ml la copiii ce nu sunt purtători de haplotip Hap1, la un nivel mai mare de 20 ng/ml la heterozigoți și, în general, nu este atinsă chiar când 25(OH)D este în cuartila superioară la copiii ce poartă 2 alele ale Hap1, asociată cu o expresie minimală a receptorului de vitamină D. Rezultatele studiului demonstrează că deformările membrelor inferioare și nivelurile joase ale calciului seric pot fi frecvente și în subgrupuri de copii și adolescenți de rasă caucaziană și confirmă impactul major al deficitului combinat de calciu/lapte și vitamină D asupra mineralizării oaselor în timpul creșterii prepubertare și pubertare. În prezența factorilor de risc, cum ar fi aportul scăzut de calciu/lapte, eventual agravate de malabsorbția intestinală și parazitoze, nivelul optim al 25(OH)D pentru dezvoltarea normală a scheletului și metabolismul calciului trebuie să fie mai mare de 30 nmol/l și, eventual, mai mare de 50 nmol/l, ce este în concordanță cu pragurile propuse anterior pentru asigurarea sporirii optimale a masei osoase în perioada de creștere a organismului. Dată fiind prevalența înaltă a nivelului scăzut de 25(OH)D (≤ 30 nmol/l) în timp de iarnă-primăvară, fortificarea sau suplimentarea produselor alimentare cu vitamina D este recomandată, cel puțin în timpul iernii, pentru copiii și adolescenții europeni cu un aport insuficient sau absent de calciu/produse lactate. Studiul în cauză aduce informații importante în ceea ce privește statutul vitaminei D și consecințele sale. El demonstrează vădit: - corelația strânsă dintre statutul vitaminei D și fenotipul clasic caracteristic rahitismului carențial (genu varum/valgum); - existența corelației dintre statutul vitaminei D, calcemie și activitatea fosfatazei alcaline; - un efect legat de centru (localitate) și de vârstă/pubertate asupra nivelurilor 25(OH)D asociate acestor trăsături fenotipice; - totuși, la Chișinău, nicio asociere, indiferent de vârstă, între nivelurile 25(OH)D și fenotip n-a fost găsită, pe când la Orhei a fost observată o astfel de corelație cu divergențe în funcție de vârstă. În viziunea noastră, acest efect centru ar

putea fi rezultatul unui statut nutrițional precar la copiii instituționalizați (retard de creștere în înălțime, un nivel mai mic al creatinemiei, hemoglobinei și magneziemiei comparativ cu copiii din capitală). În același timp, nu este exclus un aport insuficient de calciu prin rația alimentară la acești copii. Luând în considerare o posibilă alimentație carentială a copiilor din Orhei comparativ cu a celor din Chișinău, s-ar putea explica astfel corelarea semnelor clinice și celor biologice cu nivelul 25(OH)D : - la 25% de copii înainte de pubertate nivelurile 25(OH)D mai joase de 12 ng/ml (30 nmol/l) erau asociate cu un risc crescut de dezvoltare a diformităților osoase de tip genu varum/valgum, a hipocalcemiei și activității crescute a fosfatazei alcaline; - valorile intermediare ale 25(OH)D (12-20 ng/ml) corelau cu persistența riscului moderat de dezvoltare a genu varum/valgum însă fără hipocalcemie sau activitate crescută a fosfatazei alcaline; - la adolescenții din Orhei, valorile 25(OH)D și valoarea de 12 ng/ml (30 nmol/l), adică la 25% din grupul populațional, erau asociate cu un risc crescut de instalare a genu varum/valgum; - la adolescenți, normalizarea calcemiei și magneziemiei este direct corelată cu nivelurile 25(OH)D mai mari sau egale cu 20 ng/ml. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu propunerile actuale de a defini pragul de carență a vitaminei D mai jos de 12 ng/ml și a unui prag de insuficiență mai jos de 20 ng/ml. Compararea rezultatelor obținute în ambele cohorte arată că efectele clinico-biologice ale acestor niveluri depind de statutul nutrițional al copiilor. Rezervele vitaminei D mai mari par a fi necesare în cazul unui deficit de aport de calciu, de exemplu la adolescenți, când creșterea și mineralizarea osoasă sunt mai intense. În sfârșit, intervin factori genetici care nu pot fi neglijați și acest studiu scoate în evidență rolul major al genotipului pentru receptorul vitaminei D, care ar permite copilului să atingă un statut calcic satisfăcător. În această cohortă, similar datelor obținute la studierea anterioară a cohortelor europene, 20% dintre copii purtau genotipul Hap1 pe ambele alele. Sau, acești copii vor avea un risc mult mai mare de a dezvolta hipocalcemia, dacă dieta lor nu este optimă.

3.4. Exteriorizarea genelor Klotho, VDR și LCT (lactază) în dependență de nivelul calciului alimentar, statutului vitaminei D și haplotipurile de la nivelul promotorului genei VDR.

Au fost studiate variantele polimorfismelor mai frecvent întâlnite ale genelor (Tabelul 3.8.).

Tabelul 3.8. Frecvența polimorfismelor -13910 Lactază, Klotho și a promotorului VDR

	-13910 LCT		Klotho A749A		VDRp		
	CC	CT+TT	CC	CT+TT	0 Hap1	1 Hap1	2 Hap1
Lotul de cercetare	44%	56%	71%	29%	23%	62%	15%
Lotul de control	26%	74%	72%	28%	35%	44%	21%
ISOS	32%	68%	78%	21%	27%	54%	20%

a) 3 variante studiate în regiunea promotorului genei codante a receptorului vitaminei D, dintre care două strâns cuplate, ce demonstau absența sau prezența de la 0 până la 2 exemplare ale haplotipului I, absența haplotipului în cauză fiind asociată cu o capacitate mai scăzută a transactivării genei codante pentru receptorul vitaminei D; b) ovariantă (-13910 LCT) asociată cu activitate diferită a lactazei intestinale; c) altă variantă a genei Klotho, noi am reușit să demonstrăm influența ei asupra dezvoltării pubertare a adolescenților sănătoși. Inițial, noi am constatat că distribuția variantelor în ambele cohort din Chișinău și Orhei nu se deosebeau esențial de cele depistate la adolescenții din Franța (cohort ISOS).

3.4.1. Statutul vitaminei D, metabolismul calcic și genotipul depistat. Cercetările efectuate anterior au demonstrat prezența unei corelații strânse între statutul vitaminic D la adolescenții sănătoși și genotipurile depistate. Această corelație n-a fost depistată în loturile de studiu (Tabelul 3.9.).

Tabelul 3.9. 25(OH)D (ng/ml) în relație cu polimorfismele - 13910 LCT, Klotho și VDRp

	Lotul de cercetare		Lotul de control	
	<12 ani	12-16 ani	<12 ani	12-16 ani
-13 910 LCT:				
CC	13,9±0,9 (n=16)	13,3±0,8 (n=13)	21*	16,3±1,1 (n=36)
CT+TT	15,5±0,8 (n=26)	15,7±1,4 (n=16)	18,9±0,6 (n=75)	18,7±1,3 (n=45)
Klotho A749A:				
CC	15,2±0,8 (n=34)	13,4±0,8 (n=19)	17,6±0,7 (n=72)	16,7±0,8 (n=57)
CC+TT	13,9±0,8 (n=11)	17,9±2,0 (n=7)	18,7±0,9 (n=30)	17,5±1,7 (n=20)
VDR :				
0 hap1	15,2±1,3 (n=11)	12,9±1,8 (n=3)	19,4±0,9 (n=43)	17,3±1,3 (n=33)
1 hap1	15,1±0,7 (n=23)	15,1±1,0 (n=21)	17,6±0,8 (n=56)	17,6±1,2 (n=39)
2 hap1	14,0±1,4 (n=12)	10,0*	16,7±0,9 ¹ (n=26)	17,3±1,3 (n=18)

Valorile reprezintă media ± DS.

Diferențele semnificative sunt calculate între genotipurile din fiecare grup.¹ : $p \leq 0,05$. *: doar un copil mai mic de 12 ani a fost purtător de genotip CC pentru gena lactazei, iar un alt copil era purtător de genotip 2 Hap1 în Chișinău.

Totuși, o tendință ($p = 0,05$) a fost observată în cohortele copiilor de vârstă mai mică, în special la cei din Orhei. N-am constatat nicio corelație între statutul vitaminei D, polimorfismul asociat activității lactazei sau varianta genei Klotho. În cele din urmă, noi am analizat influența posibilă a genotipurilor sus-nominalizate asupra calcemiei pentru un nivel dat al 25(OH)D. De menționat,

că nu s-a observat nicio corelație între calcemie și genotipul Klotho la copiii din cohorta din Chișinău. Din contră, devine clar că normalizarea calcemiei la acești copii este influențată de nivelurile diferite ale 25(OH)D în funcție de genotipul VDR. S-a constatat clar, că pentru normalizarea calcemiei la acești copii, se cereau doze diferite de 25(OH)D în funcție de genotipul VDR. Astfel, o calcemie medie de 90 mg/l este atinsă la un nivel al 25(OH)D mai mare de 12 ng/ml la copiii ce nu sunt purtători de haplotip Hap1, la un nivel mai mare de 20 ng/ml la heterozigoți, și, în general, nu este atinsă chiar când 25(OH)D este în cuartila superioară la copiii ce poartă 2 alele ale Hap1, asociată cu o expresie minimă a receptorului de vitamină D.

4. COMPARAREA CORELAȚIEI STATUTULUI VITAMINEI D, APORTULUI DE CALCIU, GENOTIPULUI VDR ȘI KLOTHO LA COPIII ȘI ADOLESCENȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA ȘI FRANȚA

Capitolul este consacrat studiului transversal, comparativ al corelației statutului vitaminic D, aportului de calciu și al genotipului VDR la subiecții din Moldova și Franța. Pentru aceasta, noi am efectuat studii de asociere între 25(OH)D și markerii metabolismului calcic și osos. Prin urmare, 629 de copii și adolescenți europeni au fost incluși în studiul transversal al vitaminei D în trei centre diferite cu diete și stiluri de viață diferite, însă situate la aceeași latitudine (Caen, Franța, 49°10'N; Chișinău, Moldova, 47°21'N; Orhei, Moldova, 47°N): - 302 fete adolescente aparent sănătoase (11,0-17,9 ani) au fost recrutate pentru studiu în perioada de iarnă-primăvară (ianuarie - iunie) și toamnă (octombrie - decembrie) din școli medii și din Universitatea din Caen (Franța). Ele au constituit o parte din cohorta anterior studiată, care și-au dat consimțământul informat în scris de a participa la studiu și de a fi efectuată analiza ADN în conformitate cu Declarația III din Helsinki și cu legislația Franței privind cercetările biomedicale. Studiul din Gimnaziul Internat din mun. Orhei n-a depistat asocieri între 25(OH)D și mineralizarea vertebrală la fetele adolescente, totuși, nivelurile 25(OH)D mai mici de 30 nmol/l au fost asociate cu: - diformități frecvente ale membrelor inferioare (36%) la copiii și adolescenții cu un aport de calciu mai jos de 400 mg/zi; - valori înalte ale PTH la fetele adolescente; - nivel scăzut al calciului seric în caz de consum scăzut de calciu/lapte, în special la subiecții cu genotipul VDRp -1012 A/G-G/G. S-a constatat că valorile intermediare ale 25(OH)D (31-49 nmol/l) au fost asociate doar cu activități scăzute ale fosfatazei alcaline la fetele adolescente și niveluri scăzute ale calciului seric la copiii cu un aport de calciu sub 400 mg/zi. Impactul negativ al nivelurilor joase de 25(OH)D (sub 30 nmol/l) și prevalența lor înaltă în ambele țări (Franța și Moldova), în perioada de iarnă-primăvară, respectiv în 20-41%, sugerează necesitatea implementării unui program de fortificare dietetică sau de suplimentare cu vitamină D în scopul

menținerii nivelului seric al acestei vitamine la copii mai sus de nivelul dat pe parcursul întregului an. În cohorta fetelor aparent sănătoase din Caen (Franța) cu vârsta cuprinsă între 11,0 și 17,9 ani, aveau o valoare medie \pm DS a 25(OH)D seric de 54,3 \pm 15,1 nmol/l în perioada de toamnă (diapazonul total: 22-95 nmol/l, n=44), și 44,3 \pm 19,6 nmol/l în perioada de iarnă-primăvară (diapazonul: 7-115 nmol/l, n=258). Prevalența nivelului de 25(OH)D \leq 30 nmol/l (12 ng/ml) a variat în funcție de sezon (5% toamna, față de 29% iarna-primăvara), fetele examinate în martie-mai având cea mai înaltă prevalență (39%, n=153). Prevalența valorilor de 25(OH)D mai joase de 50 nmol/l (20 ng/ml) și mai joase de 70 nmol/l (30 ng/ml) erau 63% și 91%, respectiv, fără variații sezoniere. Nivelurile de 25(OH)D nu erau asociate cu aportul de vitamină D (media: 1,9 mcg/zi, diapazonul: 0,3-9,1), chiar și în subgrupul de fete examinate la sfârșitul iernii (din martie până în mai). Indicii clinici și biologici au fost analizați în funcție de cele trei valori de prag ale 25(OH)D frecvent raportate: 30 nmol/l, 50 nmol/l, și 70 nmol/l. Datele antropometrice și mineralizarea vertebrelor lombare nu erau asociate cu 25(OH)D, chiar și în cazul luării în considerare a perioadei de menarhă, nici în funcție de aportul de calciu sau lapte – doi factori care influențează mineralizarea vertebrelor lombare. Pe de altă parte, analizele multiple de regresie a CMO au demonstrat asocieri semnificative cu masa corporală, $p < 0,0001$, aria vertebrală, $p < 0,0001$, și calciul din lapte, $p = 0,0057$, dar nicio asociere cu nivelurile serice ale 25(OH)D, $p = 0,1288$ (n=177, R^2 ajustat: 0,84). De menționat, că fetele cu valori ale 25(OH)D sub pragul de 30 nmol/l consumau mai puțin lapte în comparație cu fetele cu concentrații mai înalte ale 25(OH)D. Luarea în considerare a consumului de lapte a confirmat interrelația dintre statutul vitaminei D și acest consum asupra calciului seric, deoarece statutul insuficient al vitaminei D influențează negativ calcemia, doar în cazul când paralel consumul de lapte este în tertila de jos, mai puțin de 100 ml/zi, și un aport zilnic mediu de calciu fiind de 716 \pm 199 mg/zi. Niciun efect aditiv al consumului de lapte asupra altor indici biochimici sau biologici nu a fost observat, în special asupra nivelului de PTH sau a activității fosfatazei alcaline. Analizele de regresie multiplă au confirmat acest fapt: a) PTH a fost negativ asociat cu nivelul de 25(OH)D ($p = 0,0260$) și luna de colectare a probei de sânge ($p = 0,0266$), însă nu cu vârsta sau consumul de lapte; b) activitatea fosfatazei alcaline a fost pozitiv asociată cu vârsta ($p < 0,0001$) și nivelul de 25(OH)D ($p = 0,0076$), însă nu cu luna de colectare a probei de sânge sau cu consumul de lapte. Fetele cu nivelul de 25(OH)D între 31 și 49 nmol/l nu au manifestat diferențe față de fetele cu valori mai mari sau egale cu 50 nmol/l, cu excepția activității fosfatazei alcaline, care era mai joasă. Fetele cu valori ale 25(OH)D între 50 și 69 nmol/l nu au manifestat diferențe față de cele cu nivelul vitaminei D mai mare de pragul de 70 nmol/l. În această cohortă nu au fost depistate semne de supraîncărcare cu vitamină D. În perioada de creștere accelerată, prevalența calciului

seric mai sus de a 90-a percentilă (2,59 mmol/l) a crescut paralel cu valorile 25(OH)D, până la 20% la fetele cu valori ale 25(OH)D ce depășeau pragul de 50 nmol/l. Însă doar 2,4% fete cu nivelul 25(OH)D peste 50 nmol/l aveau hipercalcemie (raportul calciu/creatinină mai mare de 0,5 mmol/mmol). La fetele mai mari de 15 ani nu a fost depistată nici hipercalcemie, nici hipercalcemie. La copiii spitalizați în SCMCnr.1, talia și masa corporală erau comparabile cu valorile ajustate după vârstă a copiilor francezi sănătoși, iar fetele adolescente erau comparabile cu cele din cohorta franceză. Semnele clinice caracteristice deficienței de vitamină D, cu predilecție tetania hipocalcemică, osalgiile, deformațiile membrelor inferioare și scolioza, au fost observate la 2%, 4%, 6%, și 9% dintre copii, respectiv valorile medii ale 25(OH)D serice constituiau $36,2 \pm 11,7$ nmol/l (diapazonul: 17-67 nmol/l), fără diferențe în funcție de statutul pubertar, gen, sau locul de reședință ($36,5 \pm 1,5$ nmol/l, n=68, pentru copiii ce locuiau la bloc $35,7 \pm 2,0$ nmol/l, n=33, pentru cei ce locuiau la casă. Prevalența nivelurilor de 25(OH)D ≤ 30 nmol/l și ≤ 50 nmol/l erau 41% și 83%, respectiv. Niciunul dintre semnele clinice și de laborator determinate la acești copii nu a fost asociat cu statutul 25(OH)D, în special calciul seric, deformațiile membrelor inferioare, scolioza și durerile osoase. În această cohortă doar 2% copii aveau un nivel al calciului seric mai mic de a 10-a percentilă determinată pentru populația din Moldova (1,81 mmol/l), iar 10 % copii aveau valori ale calciului seric mai mari de a 90-a percentilă (2,67 mmol/l), independent de statutul lor 25(OH)D. La copiii din Gimnaziul Internat din Orhei, valorile medii \pm DS ale 25(OH)D serice erau egale cu $43,7 \pm 15,7$ nmol/l (diapazonul: 17-107 nmol/l), fără impact asupra statutului pubertar, dar cu valori mai joase la fete în comparație cu băieții ($40,2 \pm 14,7$ nmol/l față de $46,5 \pm 16$ nmol/l, p=0,0031). La băieți, prevalența nivelului de 25(OH)D ≤ 30 nmol/l, ≤ 50 nmol/l, și ≤ 70 nmol/l erau de 15%, 65%, și 91%, respectiv la fete aceste prevalențe fiind de 28%, 57%, și 93%, similar datelor înregistrate în cohorta franceză. Fiind comparați cu copiii ajustați după vârstă din Municipiul Chișinău, copiii și adolescenții ce locuiau în Gimnaziul Internat din Orhei, erau de statură mai joasă (-0,6 DS, p<0,0001), aveau o frecvență mai înaltă a deformărilor membrelor inferioare (15% față de 7%) și mai frecvent sufereau de dureri osoase (8% față de 4%), însă aveau o frecvență practic similară a scoliozei (11% față de 9%) și a convulsiilor hipocalcemice (0,4% față de 2%). Ei aveau niveluri mai joase ale calciului seric (p<0,001) și al magneziului (p<0,001), însă valori mai mari ale fosfaților (p=0,0050) și 25(OH)D (p<0,001). Ei, de asemenea, aveau concentrații mai scăzute ale creatininei serice (p=0,0002), și a hemoglobinei (p<0,0001), și un procent mai mare al hipoproteinemiei (22% față de 10% mai jos de 60 g/l, p<0,0001). În comparație cu copiii din Franța ajustați după vârstă, copiii din Școala Internat din Orhei aveau o statură mai joasă cu -1 DS (p<0,0001), dar un IMC similar. În mod surprinzător, 36% dintre copii aveau deformații ale

membrelor inferioare, în cazul în care nivelul lor de 25(OH)D era ≤ 30 nmol/l. Această prevalență a fost semnificativ mai înaltă decât cea determinată în caz de valori mai înalte ale 25(OH)D, pe când prevalența scoliozei și a durerilor osoase nu a fost influențată de statutul vitaminei D. Deformațiile membrelor inferioare asociate cu un nivel scăzut de 25(OH)D au fost depistate înainte (57%) și în timpul (30%) pubertății, atât la fete cât și la băieți. Analiza indicilor biochimici la copiii, înainte de pubertate, a arătat o activitate crescută a fosfatazei alcaline și o tendință spre valori scăzute ale calciului seric la copiii cu valori ale 25(OH)D ≤ 30 nmol/l. În timpul perioadei de pubertate activitatea fosfatazei alcaline nu era asociată cu statutul vitaminei D, însă valori medii mai joase ale calciului seric au fost observate la adolescenții cu un nivel al 25(OH)D mai mic de pragul de 30 nmol/l. Copiii cu valori intermediare ale 25(OH)D (între 31 și 49 nmol/l) și cei cu concentrații mai înalte ale 25(OH)D erau practic similari înainte de pubertate, însă valorile calciului seric rămâneau scăzute la adolescenții cu statutul vitaminei D mai mici de pragul de 50 nmol/l. Menționăm că prevalența calciului seric mai mare de a 90-a percentilă a crescut până la 25% în perioada pubertară la copiii cu valori ale 25(OH)D mai mari de 50nmol/L, similar datelor înregistrate în cohorta franceză. Studiind statutul vitaminei D și genotipul promotorului VDR în cohortele din Moldova, noi am comparat rezultatele obținute cu cele din cohortele franceze. Ca rezultat, în Caen, Chișinău și în Școala Internat din Orhei: - 31%, 23% și 35% dintre copii purtau varianta A/A; - 51%, 63% și 44% purtau varianta A/G; pe când 18%, 14%, și 21% purtau varianta G/G, respectiv, în cohorta franceză impactul statutului scăzut al 25(OH)D asupra nivelului de PTH nu a fost influențat de genotipul VDRp. Totuși, o asociere pozitivă între nivelul seric al 25(OH)D și al calciului a fost observată doar la fetele purtătoare de una sau două alele G, asocierea nefiind înregistrată la fetele cu genotipul A/A. În caz contrar, nicio asociere a 25(OH)D cu nivelul calcemiei sau cu prevalența deformațiilor membrelor inferioare nu a fost influențată de genotipul VDRp la copiii din Școala Internat din orașul Orhei.

4.1. Studiul contribuției genei Klotho la dezvoltarea pubertară a fetelor adolescente: studiu de asociere a polimorfismului la nou-născuți, copii și adolescenți de rasă caucaziană

S-a observat o asociere strânsă atât între polimorfismul A749A și IMC, cât și cu vârsta la menarcă sau vârsta la momentul opririi creșterii. Fetele purtătoare ale alelei T minore aveau un IMC mai mic ($18,64 \pm 0,32$ față de $19,87 \pm 0,18$ kg/m²) la o vârstă medie de 15 ani. Ele, de asemenea, aveau o întârziere în medie, de 6 luni a vârstei menarhei ($13,73 \pm 0,16$ ani față de $13,08 \pm 0,09$) și, mai mult, de un an întârziere a vârstei de oprire a creșterii ($16,11 \pm 0,30$ ani față de $14,94 \pm 0,13$ ani). Vârsta menarhăi și cea de oprire a creșterii erau strâns corelate (R^2 ajustat: 0,360, $p < 0,0001$), însă polimorfismul A749A nu a influențat această corelație, și nici durata perioadei de timp între menarhă și oprirea creșterii ($1,95 \pm 0,11$ și $2,10 \pm 0,24$ ani la fetele CC și

CT+TT, respectiv). În niciun grup de vârstă nu a fost depistată nicio asociere cu înălțimea, fie în valori absolute sau în DS. Însă, între 12 și 16 ani, fetele cu alela T aveau valori semnificativ mai joase ale masei corporale, IMC și o întârziere a dezvoltării sânilor și a creșterii părului pubian în comparație cu fetele cu genotip CC. O astfel de asociere fenotipică nu a fost depistată la fetele mai mici de 12 ani sau mai mari de 16 ani. Maturizare osoasă întârziată a fost depistată la fetele cu genotip CT+TT în perioada de vârstă de 14-16 ani ($-1,13 \pm 0,34$ ani față de $-0,24 \pm 0,15$ ani, $p < 0,037$). Analizele de regresie au arătat corelații strânse între IMC la fetele între 12-14 ani și vârsta menarhăi (R2 ajustat: 0,225, $p < 0,0001$), însă o corelație slabă sau absența ei între IMC și fie maturizarea osoasă (R2 ajustat: 0,092, $p < 0,015$), fie vârsta opririi creșterii (R2 ajustat: 0,016, $p = 0,1752$). Studiul de asociere între polimorfismul A749A și indicii biochimici a demonstrat lipsa asocierii cu markerii metabolismului calcic și statutul vitaminei D, cum ar fi valorile medii ale calciului seric, raportului urinar al calciului/creatinina, PTH seric, și 25(OH)D seric. În mod similar, nu a fost depistată nicio asociere cu nivelul seric al osteocalcinei, IGF-1 seric, sau activitate serică a fosfatazei alcaline. Supravegherea longitudinală a coortei timp de 4 ani a confirmat datele despre asocierea între genotipul Klotho și datele antropometrice în timpul pubertății. Într-adevăr, cele 30 de fete cu vârsta mai mică de 16 ani (vârsta medie: 13 ani) purtătoare ale genotipului CT+TT aveau un IMC mai mic decât cele 115 fete cu genotip CC ajustate după vârstă. Această diferență a rămas semnificativă și peste doi ani (la o vârstă medie de 15 ani), însă progresiv mai slabă. Supravegherea fetelor mai mari (vârsta peste 16 ani la începutul studiului) a demonstrat tendințe similare, însă ne semnificative, sugerând că IMC adult a fost atins la vârsta de 17 ani la fetele cu genotip CC și mai târziu la cele cu genotip CT+TT. Similar indicelui IMC și altor trăsături ale pubertății, conținutul mineral osos (CMO), înălțimea și aria suprafeței vertebrelor lombare L₂-L₄, dar nu lățimea porțiunii lombare a coloanei vertebrale, au fost semnificativ mai mici la fetele purtătoare ale alelei T la o vârstă medie de 13 ani. Această diferență nu a fost observată mai târziu, pe parcursul supravegherii de 4 ani.

5. STUDIU GENETIC ASUPRA INTOLERANȚEI LA LACTOZĂ LA COPII ȘI ADOLESCENȚI DIN REPUBLICA MOLDOVA

Studiile au arătat că gena lactazică are o expresie mai mare atunci când T-13910 și A-22018 sunt prezente și o expresie mai mică atunci când C-13910 și G-22018 sunt prezente. El ne-a permis să stabilim faptul că flatulența (54% dintre subiecții din Orhei și 41% dintre subiecții din Chișinău), voma (27% din copiii din Orhei și 4% din cei din Chișinău) și episoadele de diaree (22% în lotul din Orhei și 4% în lotul din Chișinău) sunt cele mai frecvente simptome care ar putea favoriza intoleranța la lactoză: Varianta CC a polimorfismului de lactază a fost ne semnificativ diferită în cele două grupuri studiate, fiind mai mică la copiii din Chișinău, care corelează cu o frecvență

mai mare a simptomelor clinice care sunt caracteristice acestui sindrom la copiii și adolescenții din Gimnaziul Internat din Orhei; Nivelurile serice 25-(OH) D₃ au fost nesemnificativ mai mici la subiecții cu CC lactază; Copiii cu polimorfismele CT+TT ale lactazei și polimorfismele CC ale genei Klotho ar putea avea un impact asupra nivelurilor calciului seric, atunci când aporturile de calciu/produse lactate sunt inadecvate și depind în mare măsură de nivelul de vitamină D în sânge; S-a constatat că calcemia a fost semnificativ mai mică la subiecții din Orhei, în special la cei cu haplotipul 2 VDR și care au un nivel suficient de vitamină D în sânge. Cu toate acestea, există o situație de frecvență inexplicabilă la copiii sub 12 ani din Gimnaziul Internat din Orhei, unde, așa cum am stabilit, există un singur CC la 74 CT-TT.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

CONCLUZII GENERALE

1. Investigațiile impactului carenței vitaminei D asupra statutului clinico-biologic și genetic în perioadele de dezvoltare intrauterină și postnatală a copilului, realizate pe două loturi de femei gravide (200) și copii (200) din R. Moldova, Franța și Algeria, cu utilizarea metodelor clinice, fiziologice, biochimice, molecular biologice, au stabilit: nivel seric scăzut al 25(OH)D la circa 27% de femei gravide la naștere, ponderea înaltă a rahitismului carențial (15%), hipocalcemiilor neonatale (48%), convulsiilor (23%), anemiilor (30%) și bronșitelor (26%) la sugarii primului an de viață nesuplimentați cu vitamina D.
2. Riscul dezvoltării osteoporozei senile, fiind o maladie cauzată preponderent de insuficiența vitaminei D, poate fi minimalizat, aplicând profilaxia primară a hipovitaminozei D, începând cu perioada antenatală prin suplimentarea femeilor gravide și trimestrială a copiilor primului an de viață cu o doză de 2,5 mg (100 000 UI) de Vitamina D₃.
3. Impactul deficienței de vitamină D în timpul sarcinii, se manifestă indiferent de condițiile geografice și climaterice, exteriorizându-se prin hipocalcemii neonatale și alte dereglări similare ale metabolismului fosfocalcic.
4. Deformările membrelor inferioare și dereglările metabolismului fosfo-calcic, au loc preponderent în perioada creșterii și mineralizării osoase intense, ce necesită 1000 – 1500 UI/zi, în special, toamna târzie și iarna.
5. În cazul exteriorizării primelor semne ale carenței de vitamină D, în scopul stopării evoluției lor, e necesară administrarea unor doze stoss de 100 000 UI săptămânal, în total 4 doze, apoi de trecut la doza profilactică cotidiană sau trimestrială, pînă la normalizarea completă a statutului vitaminei D.
6. Au fost evidențiate 3 haplotipuri ale promotorului genei VDR, dependente de valorile pragurilor 25(OH)D și nivelul calciului din dietă: calcemia la indivizii în ADN-ul nuclear al

căroră nu a fost identificat Hap 1, se menține în limitele normei, pe când la cei la care a fost depistat 1 sau 2 Hap 1, calciul seric a înregistrat valori scăzute.

7. Polimorfismul genei Klotho n-a manifestat asociere corelativă cu calcemia și valorile pragului vitaminei D, dar influențează benefic procesele de maturizare ale organismului fetelor în perioada pubertară.
8. Impactul polimorfismelor CC ale genei Klotho și polimorfismelor CT+TT ale genei LCT asupra conținutului calciului seric și asupra intoleranței/toleranței lactozei depinde de nivelul vitaminei D în sânge.
9. Problema științifică soluționată în cercetare rezidă în aprecierea conceptuală complexă a verigilor patogenetice ale hipocalcemiei și rolul unor gene implicate în structura și fiziologia țesutului osos, raportate la evaluarea complexă a copiilor în funcție de etapele de creștere și dezvoltare, în vederea optimizării strategiilor de profilaxie specifică ante- și postnatală a carenței de vitamina D în baza factorilor genetici, socio-demografici, nutriționali, mediului ambiant și factorilor endogeni.

RECOMANDĂRI PRACTICE

- 1. Profilaxia impactului carenței vitaminei D asupra dezvoltării intrauterine a fătului și a nou-născutului în perioada neonatală precoce**
 - a) Pentru corecția eficientă a deficitului de vitamina D la femeile gravid cu risc (nașterile în lunile martie-iunie, nașterile repetate cu perioadă scurtă între ele, neexpunerea suficientă la soare sau care primesc antituberculoase și anticonvulsivante/antiepileptice...), întru ameliorarea indicilor antropometrici ai fătului, profilaxiei dezvoltării stărilor de hipocalcemie și contribuției mineralizării optime a țesutului osos la nou-născuți, se propune suplimentarea femeii gravid la termenul de gestație de 6 – 7 luni cu o singură doză stoss de vitamina D a câte 2,5 mg (100 000 UI), sau câte 400 UI/zi, permanent, începând cu termenul de gestație de 12 săptămâni.
- 2. Profilaxia dezvoltării rahitismului carențial în perioada postnatală**
 - a) Nou-născuților și sugarilor ce primesc produse lactate adaptate, îmbogățite cu vitamina D (400 – 600 UI/litru de lapte), a se administra trimestrial până la vârsta de 12 luni 2- 2,5 mg (80 – 100 000 UI) de vitamina D3 ;
 - b) Copiilor mai mari de vârsta de 12 luni, până la vârsta de 2,5 ani, a se administra câte 2 – 2,5 mg de vitamina D3 trimestrial în lunile de toamnă - iarnă, prima doză stoss, fiind administrată în luna noiembrie și ultima doză, în luna februarie, sau câte 1000 – 1500 UI/zi în lunile cu „r”;

- c) Copiilor în vîrsta fragedă de copilărie (de la 2 pînă la 5 – 6 ani) și adolescenților, a se administra o singură doză stoss de 2,5 mg (100 000 UI) la începutul iernii, sau cîte 400 – 800 UI/zi în lunile cu „r”.

3. Profilaxia demineralizării osoase

- a) În scopul profilaxiei demineralizării osoase în perioada de sarcină și copiilor cu insuficiență a lactazei ce consumă cantități reduse de lapte/produse lactate (mai puțin de 250 ml în perioada de sarcină și mai puțin de 500 ml în perioada de adolescență), se recomandă suplimentarea zilnică cu calciu gluconat sau carbonat a cîte 1g la metro pătrat (m^2) ($m^2 = 4m+7$; $m+90$ unde m este greutatea corporală în kg);

4. Tratamentul curativ al deficitului/insuficienței vitaminei D în dependență de valorile pragurilor serice ale 25(OH)D

- a) În cazul carenței simple/insuficienței vitaminei D (valorile pragului seric al 25(OH)D fiind egal cu 10 – 30 ng/ml sau 75 – 25 nmol/L), se recomandă o doză stoss de 2,5 mg (100 000 UI) de vitamina D₃, repetată la 1 și 3 luni de interval;
- b) În cazul carenței simple/insuficienței vitaminei D (valorile pragului seric al 25(OH)D fiind egal cu 10 – 30 ng/ml sau 75 – 25 nmol/L), însoțită de hipofosfatemie, se recomandă o doză stoss de 2,5 mg (100 000 UI) de vitamina D₃ lunar pînă la normalizarea fosfatemiei;
- c) Tratamentul carenței simple/insuficienței vitaminei D (valorile pragului seric al 25(OH)D fiind < 10ng/ml sau < 25 nmol/L, însoțit de hipofosfatemie persistentă), se indică doza stoss de 5 mg (200 000 UI) de vitamina D₃ / lună pe parcursul a 2 luni, iar dacă hipofosfatemia persistă, de continuat cu 2,5mg (100 000 UI) lunar pînă la normalizarea fosfatemiei;
- d) Tratamentul carenței simple/insuficienței vitaminei D (valorile pragului seric al 25(OH)D fiind < 10ng/ml sau < 25 nmol/L, însoțit de hipocalcemie, calciul seric fiind < 2 mmol/L), se recomandă suplimentarea urgentă cu gluconat de calciu a cîte 1g/m²), diluat cu soluție izotonică de glucoză de 5% în raport de 1:4, pînă la atingerea nivelului seric al calciului total de 2 mmol/L, după care, se recomandă de continuat administrarea gluconatului de calciu per os, conform vîrstei pe parcursul a 24 – 48 ore;
- e) În cazul cînd concentrația calciului seric este > 2mmol/L, însoțită de semne radiologice osoase caracteristice rahitismului carențial, se recomandă administrarea a 5mg (200 000 UI) de vitamina D₃ per os într-o singură priză (doza stoss), repetată peste 1 lună, de rînd cu administrarea gluconatului de calciu a cîte 0,5 – 1g/zi în decurs de 15 zile, urmat mai apoi de tratamentul preventiv al hipovitaminozei D;

- f) În caz de asocier a deficitului vitaminei D cu carența ferului/folaților, a se recomanda administrarea tardiferonului câte 10mg/kg/zi în decurs de 3 – 4 luni;
- g) Tratamentul carenței simple/insuficienței vitaminei D (nivelul seric al 25(OH)D, fiind cuprins între 10 – 30ng/ml sau 75 – 25 nmol/L) la adolescent și persoana adultă, se recomandă administrarea dozei stoss de 2,5mg (100 000 UI) de vitamina D₃, fiecare 2 săptămâni pe parcursul a 2 luni (în total 4 doze stoss per os);

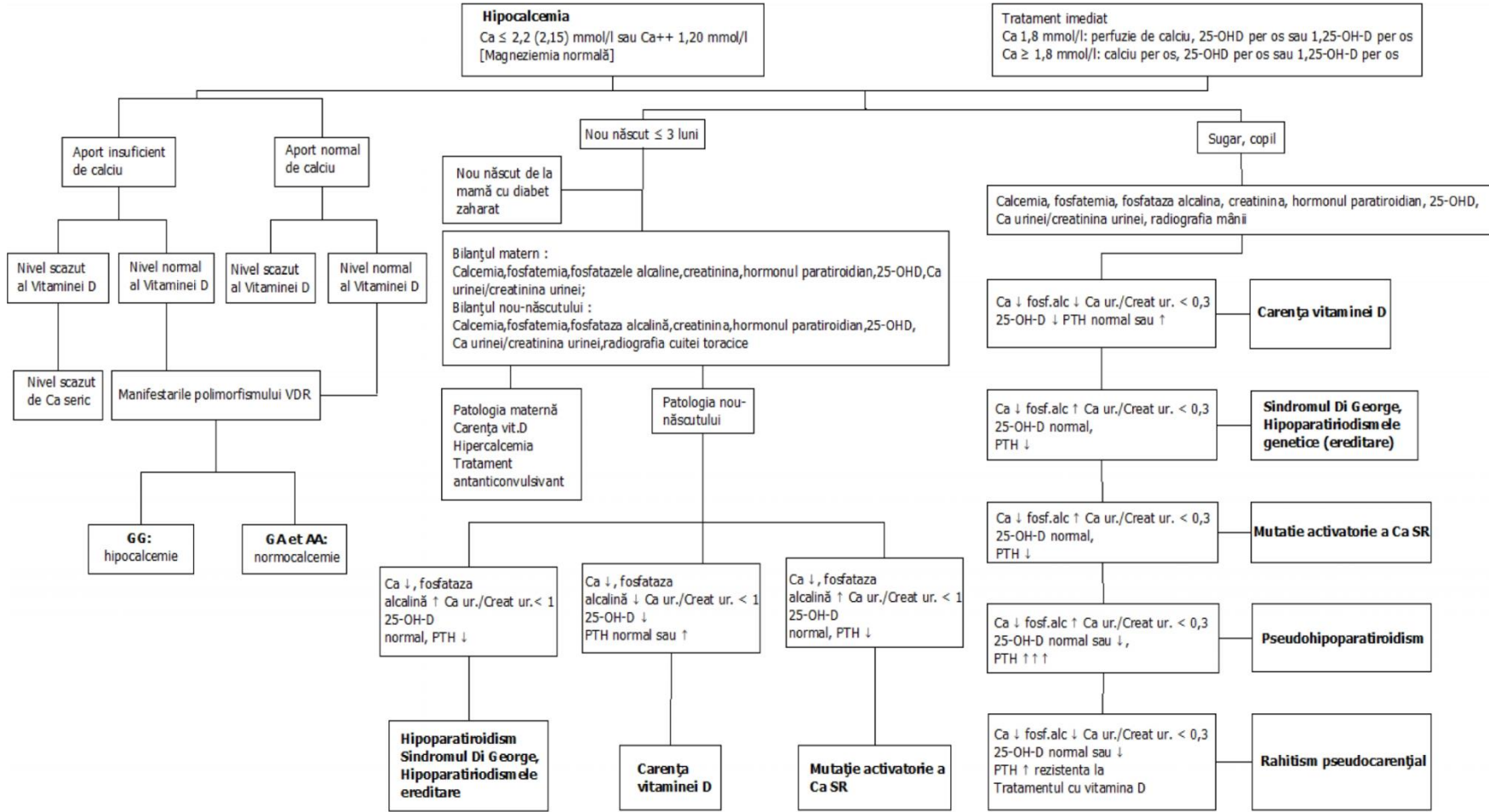


Fig. 1. Algoritm de diagnostic al hipocalcemiei.

BIBLIOGRAFIE

1. Maltsev S.V., Arkhipova N. N., Shakirova E. M. Vitamin D, calcium and phosphate in healthy children and in pathology. Kazan, 2012, 120 p.
2. Rajah J., Thandrayen K., Pettifor J.M., et al. Clinical practice: diagnostic approach to the rachitic child. In: *Eur J Pediatr*, 2011, vol. 170(9), p. 1089-1096.
3. Paterson C. R. Vitamin D deficiency: a diagnosis often missed. In: *Br J Hosp Med (Lond)*, 2011, vol. 72(8), p. 456-458.
4. Kremer R., et al. Vitamin D Status and Its Relationship to Body Fat, Final Height, and Peak Bone Mass in Young Women. In: *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, vol. 94, p. 67-73.
5. Chung M., et al. Vitamin D with or without calcium supplementation for prevention of cancer and fractures: An updated meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force. In: *Ann Intern Med*, 2011, vol. 155, p. 827-838.
6. Paterson C. R. Vitamin D deficiency and fractures in childhood. In: *Pediatrics*, 2011, vol. 127(5), p. 973-974.
7. Spirichev V. B. On the biological effects of vitamin D. In: *Pediatriya*, 2011, vol. 90(6), p. 113-119.
8. Rizzoli R. et al., Maximizing bone mineral mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly. In: *Bone*, 2010, vol. 46(2), p. 294-305.
9. Bischoff-Ferrari H. A., et al. Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. In: *Osteoporos Int*, 2010, vol. 21(7), p. 1121-1132.
10. Popa F.L. Etiopatogenia osteoporozei masculine. În: *Revista Medic ro*, 2006, nr.23, p.36-39.
11. Moon R. J, et al. Tracking of 25-hydroxyvitamin D status during pregnancy: the importance of vitamin D supplementation. In: *Am J Clin Nutr*, 2015, vol. 102, p. 1081-1087.
12. Harvey N.C, et al. Vitamin D supplementation in pregnancy: a systematic review. In: *Health Technol Assess*, 2014, vol. 18, p. 1-190.
13. Wagner C. L., et al. Health characteristics and outcomes of two randomized vitamin D supplementation trials during pregnancy: A combined analysis. In: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, 2013, vol. 136, p. 313-320.
14. Garabédian M., ș.a. *Métabolisme phosphocalcique et osseux de l'enfant*. 2^e ed., Paris: Médecine- Sciences Lavoisier, 2011, p. 1-204.
15. Braegger C., et al. Vitamin D in the healthy paediatric population : a position paper by the ESPGHAN Committee on nutrition. In: *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2013, vol.56, p.692-701.
16. Mallet E., Gaudelus J., Reinert P., et al. Prescription prophylactique de la vitamine D en France : enquête épidémiologique multicentrique nationale chez 3240 enfants de moins de 6 ans. In: *Arch Pediatr*, 2012, vol. 19, p. 1203-1302.
17. Elder C.J.; Bishop N.J. Rickets. In: *Lancet*, 2014, vol. 383, p. 1665-1676.
18. Reilly L., et al. Association between Micronutrients (Vitamin A, D, Iron) and Schistosome-Specific Cytokine Responses in Zimbabweans Exposed to *Schistosoma haematobium*. In: *J Parasitol Res*, 2012.
19. Olsen A. Effects of multimicronutrient supplementation on helminth reinfection: a randomized, controlled trial in Kenyan school children. In: *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2011, vol. 97(1), p. 109-114.

20. Froicu M. A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. In: *Mol Endocrinol*, 2009, vol. 17(12), p. 2386-2392.
21. Jehan F., Voloc A. Actions classiques de la vitamine D : apport de la génétique humaine et de modèles de souris génétiquement modifiées. In: *Biologie Aujourd'hui*, 2014, vol. 208(1), p. 45-53.
22. Schoenmakers I, et al. Prevention and consequences of vitamin D deficiency in pregnant and lactating women and children: A symposium to prioritise vitamin D on the global agenda. In: *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2015.
23. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. In: *Am J Clin Nutr*, 2010, vol. 87(4), p. 1080S-6S.
24. Looker A.C., et al. Vitamin D status: U.S., 2001-6. In: *NCHS Data Brief*, 2011, vol.59, p.1-8.
25. Akkermans M.D., et al. Iron and Vitamin D Deficiency in Healthy Young Children in Western-Europe Despite Current Nutritional Recommendations. In: *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2015, vol. 62(4), p. 635-642.
26. Lippi G., et al. Birth season and vitamin D concentration in adulthood. In: *Ann Transl Med*, 2015, vol. 3(16), p. 231.
27. Nair R, Maseeh A. Vitamin D: The "sunshine" vitamin. In: *J Pharmacol Pharmacother* 2012, vol. 3, p. 118-126.
28. Fernández-Alonso A. M., Dionis-Sánchez E. C., Chedraui P. Vitamin D and Women's Health Research Group: First-trimester maternal serum 25-hydroxyvitamin D₃ status and pregnancy outcome. In: *Int J Gynaecol Obstet*, 2012, vol. 116, p. 6-9.
29. Holick M.F. The D-lightful vitamin D for health. In: *J Med Biochem*, 2013;32:1-58.
30. Balasubramanian S., Dhanalakshmi K., Amperayani S. Vitamin D Deficiency in Childhood – A Review of Current Guidelines on Diagnosis and Management. In: *Indian Pediatr*, 2013, vol. 50, p. 669-675.
31. Javaid M. K., et al. Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood bone mass at age 9 years: a longitudinal study. In: *Lancet*, 2006, vol. 367, p. 36-43.
32. Javaid M., Cooper C. Prenatal and childhood influences on osteoporosis. In: *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2012, vol. 16, p. 349-367.

LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE LA TEMA TEZEI

Monografii colective:

1. **Voloc A** cu coautorii. Aspecte clinico-biologice și genetice în patogenia carenței de vitamina D în perioadele pre- și postnatală de dezvoltare a copilului. Iași, România: editura Alfa, 2015. 243p. ISBN: 978-606-540-141-9.
2. Ababii I, **Voloc A.**, Moroșanu L., Maniuc M., Voloc A. A. Afecțiunile respiratorii acute la copil. Chișinău: Tipografia Centrală. 2010. 172p. ISBN 978-9975-78-859-5.
3. **Voloc A.**, Țurea V., Garabedian M., Moroșanu L. ș.a. Dezvoltarea copilului și conduita în maladii nutriționale. Chișinău: Tipografia Centrală. 2007. 312p. ISBN 978-9975-923-95-8.

Articole în reviste științifice internaționale cotate ISI și SCOPUS:

1. Поворознюк В. В., Жовинский Э. Я., Бэxnэрел И. Н., **Волок А. К.** и др. Влияние повышенного содержания фтора на структурно-функциональное состояние костной

- ткани, зубочелюстную систему, антропометрические параметры и физическое развитие детей. В: Журнал “Отеопороз”. Киев, Украина 2001. с. 3-19.
2. Stancu M., Colofîţchi A., **Voloc A.** ş.a. Cercetări asupra răspîndirii şi structurii poliparazitismului la copiii din gimnaziul internat al localităţii Cupcini din Nordul Republicii Moldova. În: Revista Romîna de parazitologie, Bucureti, Romînia, 2001. Vol. XI, Nr. 1, p.82- 83.
 3. **Voloc A.**, Colofîţchi A, Stancu M, Moroşanu L. Aspecte clinice şi de combatere a parazitozelor la copiii cu afecţiuni psihomotorii. În: Revista Romîna de parazitologie. Bucureşti, Romînia. 2007. Vol.17.174-175.
 4. Stancu M., **Voloc A.**, Moroşanu L. ş.a. Aspecte clinice şi de combatere ale parazitozelor la copii cu afecţiuni psiho-motorii. În: Revista Romîna de parazitologie, Bucureşti, Romînia 2007. Vol. XVII, Supliment: p 174-175. ISSN 1221-1796.
 5. **Voloc A.**, Esterle E., Nguyen T.M. et al. High prevalence of genu varum/valgum in European children with low vitamin D status and insufficient dairy products/calcium intakes. In: European Journal of Endocrinology. Londra. Anglia, 2010. 163. 811–817. Doi: 10.1530/EJE-10-0434. Online version via www.eje-online.org. **IF-7,70.**
 6. Jehan F., **Voloc A.** , Esterle L. et al. Growth, calcium status and vitamin D receptor (VDR) promoter genotype in European children with normal or low calcium intake. In: Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology. Londra, Anglia, 2010. 121. 117-120. Doi:10.1016/j.jsmb.2010.03.088. (*Special issue article from the 14th Vitamin D Workshop held at Brugge, Belgium on October 4- 8, 2009*)**IF-7,33.**
 7. Jehan F., **Voloc A.** Actions classiques de la vitamine D : apport de la génétique humaine et de modèles de souris génétiquement modifiées. Dans : Biologie Aujourd’hui, Paris, Franţa, 2014. 208 (1). 45-53. Doi:10.1051/jbio/2014009. **IF-7,35.**
 8. **Voloc A.**, Ţurea V., Jehan F., Garabedian M. Studiu genetic asupra intoleranţei la lactoză la copii şi adolescenţi din Republica Moldova. În: Revista de ştiinţe ale sănătăţii. 2015. Vol.5. p. 62-70. Categ. C.
 9. **Voloc A.** Vitamin D and nutritional status in children and adolescents with helminthiases in central Moldova. În: Curierul Medical. December. 2015. ISSN 1857 – 0666. Categ. C.
 10. **Voloc A.** Vitamin D as a prevention factor in acute respiratory infections. In: Curierul medical 2010. nr.2 (314), p.56-61. ISSN 1875-0666.Categ. C.
 11. **Voloc A.**, Ţurea V., Rotari A. Particularităţile clinice de diagnostic şi tratament a stărilor hipocalcemică la copii. În: Buletin de perinatologie. Chişinău, 2008. nr.4 , p.39-44. Categ. C.
 12. Moroşanu L., **Voloc A.**, Stancu M. ş.a. Aspecte clinico-diagnostice şi de tratament în maladiile parazitare la fete cu handicap mintal şi motor. În: Buletin de perinatologie. 2004. nr.2-3 p.230-233. Categ. C.
 13. **Voloc A.**, Voloc A. A., Moroşanu L. ş.a. Particularităţile clinico-diagnostice şi de tratament ale infecţiilor tractului urinar la fetele cu divers grad de retard mintal şi handicap motor dintr-o instituţie de tip închis. În: Buletin de perinatologie. 2004. nr.2-3, p. 230-233. Categ. C.
 14. **Voloc A.** Dezvoltarea intra-uterină a fătului şi incidenţa hipocalcemiei neonatale în dependenţă de statutul vitaminei D matern în ultimul trimestru de sarcină. În: Analele ştiinţifice ale USMF “N. Testemiţanu”. 2009. nr.5(10). p. 281-290. ISSN 1857-1719. Categ. C.

15. **Voloc A.** Prophylaxie de la carence en vitamine D chez les nouveaux-nés et les nourrissons en Moldavie. În: Anale științifice. 2005. Ediția VI, Volumul V, p. 253-258. ISMB 9975-907-79-2. Categ. C.
16. **Voloc A.** A 10-year study of vitamin D in Moldova. In: Endocrine Abstracts. Florența, Italia 2012. 29 P254. *Congresul al 15 Internațional și al 14 European de endocrinologie din 5 – 9 mai 2012.* ISSN 1470 – 3947 / ISSN 1479 – 6848 (online). **IF-7,33**
17. Garabedian M., Mekhbi H. Ben., Zeghud F., **Voloc A.** et al. Suplementation maternelle en vitamine D et la croissance pre- et postnatale de l'enfant. În: *Prezentare la ziua principală de ortopedie și traumatologie din Havana (Cuba) 12 Decembrie 2010 (Diplomă parafată și semnată de către președintele societății cubaneze de ortopedie, filiala CAMAGUEY.*
18. Jehan F., **Voloc A.**, Laure Esterle et al. Growth, calcium status and vitamin D receptor (VDR) promoter genotype in European children with normal or low calcium intake. În: *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology.*2010. (*Special issue article from the 14th Vitamin D Workshop held at Brugge, Belgium on October 4 – 8, 2009*).121 .117-120. Doi:10.1016/j.jsmb.2010.03.088.**IF-7,33**
19. Jehan F., **Voloc A.**, Esterle L. et al. A polymorphisme of the human vitamin d receptor (vdr) promoter is associated with variations in bone growth and bone mass accrual in humans. In: “*Ier Journée de l’Institut Claude Bernard* ”, Groupe « Os & Articulations », UFR de médecine, Paris, France , 2 décembre 2009. **IF-7,33**
20. Bivol O., Stratulat P., **Voloc A.** Estimarea riscului mediului ambiant pentru sănătatea mamei și copilului. În: *Materialele Conferinței Naționale (cu prezență internațională). Studiu asupra nutriției mamei și copilului în Republica Moldova. Secția poligrafie operativă a USM. Chișinău. 2009. p. 52 -54.*
21. **Voloc A.** Des aspects clinico-biologiques et génétiques de la carence en vitamine D dans la période a pre- et postnatale de l'enfant. Dans: *Présentation des objectifs de la thèse et les résultats des premières étapes de l'étude 1996 – 1998 devant les collaborateurs de l’Institute national de la santé et de la recherche médicale Unité 561 et du „Centre de Référence des Maladies du Calcium et du Phosphore de l’Enfant”.* Paris 13 Juin 2007.

Materiale la forurile științifice naționale:

22. **Voloc A.** L’impact clinico-biologique de la carence en vitamin D chez la femme enseinte et les enfants. În: *Raport în plenară cu decernarea diplomei de gradul II. Zilele francofoniei din incinta Universității de stat de medicină și farmacie „Nicolae Testemițanu” care s-a desfășurat sub lozinca “Etre pédiatre – un don particulier ou un souci supplémentaire”.* 23.03.2007.
23. **Voloc A.**, Panu V., Ganușciac N. ș.a. Frecvența unor factori de risc la copiii cu astm bronșic spitalizați în secția de pediatrie generală a IMSP SCMC nr.1. În: *Astmul bronșic la copil. Conferința națională cu participare internațională. Chișinău 12 mai 2006. 5 – 10. CZU: 616.248 – 053.2(036). ISBN 9975 – 9822 -1- 2.*
24. Stancu M., **Voloc A.**, Cecan A. ș.a. Date privind impactul helmintozelor asupra imunității postvaccinale la difterie și tetanos la copiii dintr-o instituție de tip închis. În: *Materialele Congresului V al igieniștilor, epidemiologilor și microbiologilor din Republica Moldova din 26 -27 septembrie, 2003. Vol.2a, p. 109-110.*

25. Stancu M., **Voloc A.**, Moroșanu L. ș.a. Despre răspândirea poliparazitismului într-o instituție de tip închis. În: Materialele Congresului V al igieniștilor, epidemiologilor și microbiologilor din Republica Moldova din 26 -27 septembrie, 2003. Vol 2a, p.244 - 249.
26. Stancu M., **Voloc A.**, Moroșanu L., ș.a. Materiale privind situația parazitologică în Casa –internat Hîncești. În: Materialele Congresului V al igieniștilor, epidemiologilor și microbiologilor din Republica Moldova din 26 -27 septembrie, 2003. Vol.2a, p. 191-192.
27. Stancu M., **Voloc A.**, Moroșanu L. Despre combaterea parazitozelor într-o instituție de tip închis. În: Materialele Congresului V al igieniștilor, epidemiologilor și microbiologilor din Republica Moldova din 26 -27 septembrie, 2003. Vol.2a, p. 193-194.
28. **Voloc A.**, Nistor N., Catană V. et al. The morbidity and the mortality level of the children of Republic of Moldova in dependence on alimentation status. In: Materialele congresului al II-lea al obstetricienilor –ginecologilor și pediatriilor din Republica Moldova, Chișinău, 1999. p.218-219.
29. Nistor I., Catană V., Gutțul A., Chirilici, A., **Voloc A.** Aspecte igienice în profilaxia unor afecțiuni la copii în Republica Moldova. În: Materialele congresului al III-lea al obstetricienilor – ginecologi și pediatriilor din Republica Moldova. Chișinău 1999. p.161 – 162.CZU [618+616-053.2](478) M 47. ISBN 9975-61-100-1 M-157-115.
30. **Voloc A.** Morbiditatea și nivelul mortalității copiilor din Republica Moldova în dependență de starea lor alimentară din prezent.În: Materialele congresului al III-lea al obstetricienilor – ginecologi și pediatriilor din Republica Moldova. Chișinău 1999. p.217 – 219.CZU [618+616-053.2](478) M 47. ISBN 9975-61-100-1 M-157-115.
31. **Voloc A.**, Hotineanu V., Sănătatea mamei și copilului în condițiile socio-economice noi din Republica Moldova În :Materialele Congresului III al obstetricienilor – ginecologi și pediatriilor din Republica Moldova. Chișinău, 1999. p.217-219.

LUCRĂRI ȘTIINȚIFICO-METODICE ȘI DIDACTICE

32. **Волок А.**, Де Ла Тоор., и др. Практический справочник по применению основных лекарственных средств и медицинских материалов. Фармацевты без границ. Гуманитарный Отдел Европейского Сообщества. Выпуск 1.Кишинэу 1999 г. 77 стр.
33. Быркэ А., **Волок А.**, и др. Практический справочник по применению основных лекарственных средств и медицинских материалов. Фармацевты без границ. Гуманитарный Отдел Европейского Сообщества. Выпуск 2. Кишинэу 2000 г. 119 стр.
34. Stratulat P.,**Voloc A.** ș.a. Studiu național de nutriție. Moldova – 1996. În: Raport final. Ediție publicată cu spriginul oficiului UNICEF Moldova. 41p.
35. Bacalov I., **Voloc A.**, ș.a. Îngrijiri paliative. Ghid./- Ch.: EPIGRAF, 2002 (Combinatul Poligrafic).- 168p. ISBN 9975 – 903 – 54 – 1.
36. Chauliac M., Bivol O., Toma Șt., **Voloc A.** ș.a. Evaluarea situației alimentare și nutriționale a femeelor și copiilor din Republica Moldova. În: Studiu efectuat în cadrul întregii republici, inclusiv și Transnistria pe un eșantion reprezentativ cu suportul UNICEF Moldova. 1996.

ADNOTARE
Voloc Alexandru

„Modificările clinico – biologice și genetice în statutul vitaminei D în perioadele pre – și postnatală a copilului”

Teză de doctor habilitat în științe medicale. Chișinău, 2016

Structura tezei: introducere, 5 capitole, sinteza rezultatelor obținute, concluzii generale, recomandări practice, bibliografia include 434 de surse, 177 pagini text de bază, 21 figuri, 47 tabele, 4 formule, design-ul studiului, 1 algoritm. Rezultatele obținute sunt publicate în 36 lucrări științifice.

Cuvinte – cheie: Profilaxia prenatală și postnatală a carenței vitaminei D, statutul vitaminei D, gena Klotho, VDR, haplotipul, gena lactazică LCT.

Domeniul de studiu: pediatrie.

Scopul. Evaluarea impactului carenței/ insuficienței vitaminei D asupra metabolismului fosfocalcic și sănătății osoase în corelație cu factorii genetici la copii și adolescenți, căile de corecție.

Obiective de investigare. Evaluarea impactului carenței/insuficienței vitaminei D asupra statutului clinico-fiziologic și genetic la copii și adolescenți. Studiarea manifestărilor deficitului vitaminei D în dependență de perioada ontogenetică de dezvoltare a copilului (intrauterină, postnatală precoce și tardivă), de anotimp și zonele climato-geografice (Moldova, Franța, Algeria, Martinica, Ingușetia). Analiza comparativă a deformărilor membrelor inferioare și a parametrilor biochimici în asociere cu valorile vitaminei D la copii și adolescenți din Moldova și Franța. Depistarea impactului factorilor genetici asupra metabolismului calciului, sănătății osoase, dezvoltării fizice, prin prisma polimorfismului a 3 gene: VDR, Klotho și LCT, în asociere cu valorile vitaminei D serice la copii de diferite vârste și adolescenți. Elaborarea algoritmului de diagnostic al hipocalcemiilor, pentru optimizarea diagnosticului timpuriu. Emiterea managementului de conduită al carenței vitaminei D în scopul eficientizării tratamentului și profilaxiei specifice.

Metodologia: două tipuri de studiu: studiul clinic controlat cu selectarea randomizată a femeilor gravide și nou-născuților și studiul de cohortă.

Noutatea și originalitatea științifică. Primar în RM, prin studiu multicentric internațional a fost cercetată pluridimensional dilema carenței vitaminei D, aplicând o strategie de profilaxie specifică și analizând polimorfismul genetic al diferitor gene cu impact asupra masei și densității osoase, totodată fiind elucidat impactul asupra sănătății osoase a aportului de calciu/produse lactate, prin investigații asupra polimorfismului genetic al genei lactazice LCT.

Problema științifică soluționată în cercetare rezidă în estimarea patternului clinico-fiziologic și genetic al carenței vitaminei D în perioadele pre- și postnatale de dezvoltare a copilului prin prisma determinării corelației statutului vitaminei D, aportului de calciu cu genotipul VDR și polimorfismul genei Klotho la copii și adolescenți în scopul obiectivizării diagnosticului și eficientizării tratamentului stărilor de hipocalcemie.

Importanța teoretică a lucrării: Evidențierea verigilor patogenetice antrenate în crearea tabloului clinico-paraclinic al demineralizării țesutului osos, constituie un reper esențial în extinderea și aprofundarea cunoștințelor existente privind deformările osoase.

Valoarea aplicativă a lucrării: A fost elaborat un nou concept de profilaxie specifică ante- și postnatală al hipocalcemiilor neonatale și al rahitismului carențial, optimizând managementul de conduită al acestora, astfel ameliorând calitatea vieții copiilor și adulților în timp.

Implementarea rezultatelor științifice multicentrice internaționale: Rezultatele studiului au fost implementate în activitatea Departamentului pediatrie al USMF „N. Testemițanu”; Centrului Spitalicesc Regional din Franceville și Centrele universitare din Angondge, Koula-Moutou, Owendo și Libreville (Africa Ecuatorială).

SUMMARY

Alexandru Voloc

" Clinical-biological and genetic changes in vitamin D status in pre- and postnatal periods of child's development "

Thesis of Doctor of Science in Medicine. Chisinau, 2016

Structure of thesis: introduction, 5 chapters, synthesis of obtained results, general conclusions, practical recommendations, bibliography of 434 titles, 177 pages basic text, 21 images, 47 tables, 4 formulas, one study design, one algorithm. The results of this study were published in 36 scientific papers.

Keywords: prenatal and postnatal prevention of vitamin D deficiency, vitamin D status, Klotho gene, VDR, haplotype, lactase gene LCT.

The field of study: pediatrics.

Goal: Evaluation of the impact of vitamin D deficiency on phospho-calcic metabolism and bone health in correlation with genetic factors in children and adolescents, ways of correction.

The study objectives: Evaluation of the impact of vitamin D deficiency on the clinical-physiological and genetic status in children and adolescents. Study of manifestations of vitamin D deficiency depending on the ontogenetic period of child development (in utero, early and late postnatal), season and climatic and geographic area (Moldova, France, Algeria, Martinique, Ingushetia). Comparative analysis of inferior limbs deformities and biochemical parameters in association with vitamin D values in children and adolescents from Moldova and France.

Detecting the impact of genetic factors on calcium metabolism, bone health, physical development, through the prism of 3 gene polymorphism: VDR, Klotho and LCT in association with serum level of vitamin D in children and adolescents of different ages. Development of diagnostic algorithm of hypocalcaemia to optimize early diagnosis. Elaboration of therapeutic management of vitamin D deficiency aiming to improve specific treatment and prophylaxis.

Methodology: two types of study: clinical controlled study with randomized selection of pregnant women and newborns, and a cohort study.

Scientific novelty and originality: For the first time in the Republic of Moldova we have conducted a multicentric international study to assess multiple aspects of vitamin D deficiency, applying a specific vitamin D deficiency prevention strategy, in-depth study of genetic polymorphism of different genes with an impact on bone mass and density. We have studied the influence of calcium/dairy products intake on bone health by testing the LCT lactase gene polymorphism.

Scientific problem solved through this research lies in estimating the clinical-physiological and genetic pattern of vitamin D deficiency in pre- and postnatal child development through the prism of determining the correlation between vitamin D status, calcium intake with VDR genotype and Klotho gene polymorphism in children and adolescents for an objective diagnosis and efficient treatment of hypocalcaemia conditions.

Theoretical value: Highlighting pathogenetic links leading to clinical and laboratory picture of bone demineralization is an essential baseline in broadening the existing knowledge in bone deformities.

Practical value of the research: A new concept of pre- and postnatal specific prevention of neonatal hypocalcaemia and vitamin D deficiency rickets was developed by optimizing the therapeutic management, thus improving the quality of life in children and adults in the long term.

Implementation of international multicentric scientific results: The result of the study were implemented in Department of pediatrics of the SMPU "N. Testemitanu", Regional Hospital Centre of Franceville, University Centers in Angondge, Koula-Moutou, Owendo and Libreville (Equatorial Africa).

РЕЗЮМЕ

Волок Александр

« Клинико-биологические и генетические изменения статуса витамина Д в пре- и постнатальном периодах развития ребёнка »

Диссертация доктора хабилитат медицинских наук, г. Кишинэу, 2016.

Структура диссертации: введение, 5 глав, синтез полученных результатов, общие выводы и практические рекомендации, список литературы, включающий 434 источников, 177 основных страниц текста, 21 рисунок, 47 таблицы, 4 формулы, дизайн исследования, 1 алгоритм. Результаты исследования опубликованы в 36 научных работах.

Ключевые слова: Пренатальная и постнатальная профилактика дефицита витамина Д, статус витамина Д, ген Клото, рецептор VDR, гаплотип, ген лактазы LCT.

Область исследования: педиатрия.

Цель: Оценка воздействия дефицита/недостаточности витамина Д на фосфо-кальциевый метаболизм и костное здоровье в корреляции с генетическими факторами у детей и подростков, способы коррекции.

Задачи исследования: Оценка воздействия дефицита/недостаточности вит. Д на клинико-физиологический и генетический статус у детей и подростков. Исследование проявления дефицита витамина Д в зависимости от разных периодов онтогенетического развития ребенка (внутриутробный, ранний и поздний постнатальный), сезона и климатической зоны (Молдова, Франция, Алжир, Мартиника, Ингушетия). Сравнительный анализ деформаций нижних конечностей и биохимических показателей, в сочетании с уровнем вит. Д у детей Молдовы и Франции. Определение влияния генетических факторов на метаболизм кальция, костное здоровье, физическое развитие через призму полиморфизма 3 генов: VDR, Клото и LCT, в сочетании с уровнем сывороточного вит. Д у детей разного возраста и подростков. Разработка диагностического алгоритма гипокальциемии для оптимизации ранней диагностики. Разработка схемы ведения дефицита вит. Д, с целью улучшения специфического лечения и профилактики.

Методология: Два типа исследований: контролируемое клиническое исследование с рандомизированным выбором беременных женщин и новорожденных и в когорте.

Новизна и научная оригинальность: Впервые в Молдове проведено разностороннее международное исследование недостаточности витамина Д с применением стратегии специфической профилактики и анализом генетического полиморфизма разных генов, воздействующих на костную массу и плотность, одновременно раскрыв проблему воздействия потребления кальция/молочных продуктов на состояние здоровья костного аппарата путем исследования генетического полиморфизма гена лактазы LCT.

Решенная в исследовании научная проблема заключается в прогнозировании клинико-физиологической и генетической картины дефицита витамина Д в пре- и постнатальном периодах развития ребенка через определение корреляции статуса витамина Д, потребления кальция, генотипом VDR и полиморфизмом гена Клото у детей и подростков, с целью объективной диагностики и эффективного лечения гипокальциемий.

Теоретическое значение работы: Определение патогенетических звеньев, вовлеченных в клинико-параклиническую картину деминерализации костной ткани, является важной основой для расширения имеющихся знаний о деформации скелета.

Практическая значимость работы: Разработана новая концепция пре- и постнатальной специфической профилактики неонатальной гипокальциемии и витамин-Д-дефицитного рахита, путем оптимизации схем ведения данных состояний, таким образом улучшая качество жизни детей и взрослых в долгосрочной перспективе.

Внедрение результатов международного многоцентрового исследования: Результаты исследования были внедрены в работе Департамента педиатрии ГУМФ «Н. Тестемицану», регионального госпитального центра г. Франсвиль, университетских центров Ангондж, Кула-Муту, Овендо и Либревиль (Экваториальная Африка).

LISTA ABREVIERILOR

ADHR	Rahitism hipofosfatic autosom dominant
BET	Bromura de etidium
BHE	Bariera hematoencefalică
BMC	Conținutul mineral al osului
BMP	Proteina morfogenetică a osului
BRU	Unitate osoasă de remodelare
CaBP	Proteina de legare a calciului
Calbindin-D9K	Proteina transportatoare de calciu
CaR	Receptor sensibil la calciu
CASR	Receptor cu rol „sensor” pentru nivelul calciului
CAT1	Canal de calciu epitelial
Cbfa	Reglator esențial al dezvoltării osoase, numit și Runx2, PEB2A, Osf2
Cdx2	Factor al diferențierii intestinale
CGP	Peptidă generată de calcitonină
CICN5	Gena codantă pentru canalele clor
CMO	Conținut mineral osos
Col2a1	Colagen de tipul II
CPM	Celule progenitoare mezenchimale
CREB	Proteina de legare a elementului de răspuns dependent de AMPc
CSF	Factor de stimulare a coloniei
CSF-M	Factor de stimulare a coloniei de monocite
CUD	Coeficient de utilizare digestivă
CYP24	Hidroxilaza mitocondrială
DBP	Proteina purtătoare de vitamina D
DEXA	Absorbtiometrie duală cu raze X
DRIP	Proteina de interacțiune cu receptorul vitaminei D
DSPP	Sialo-fosfoproteina dentiției
EAE	Encefalita autoimună experimentală
ECCE	Enzima de conversie a endoteliului
EFMPZD	Enzimele familiei de metaloproteaze zinc - dependente
EGF	Factorul de creștere epidermală
FCS-GM	Factorul cloniostimulator granulocitar - macrofagal
FGFR	Receptorul factorului de creștere a fibroblaștilor
GnRH	Hormonul eliberator al gonadotropinei
HACCP	Analiza Factorilor de Risc și Punctele Critice de Control
Hap1, Hap2, Hap3	Haplotipul 1, haplotipul 2, haplotipul 3
HPLs	Leziuni periosteocitice hipomineralizate
HRE	Element reactiv la acțiunea hormonului
IGF-1	Factorul de creștere – 1 de tipul insulinei
LCT	Gena codantă a lactazei
LeyCell	Celulele Leydig din testicule, epididim, ovare, uter, glande mamare, placentă
LHP	Lactaz-florizin hidrolaza
RM	Republica Moldova

VOLOC ALEXANDRU

**MODIFICĂRILE CLINICO – BIOLOGICE ȘI GENETICE
ÎN STATUTUL VITAMINEI D ÎN PERIOADELE PRE – ȘI
POSTNATALĂ A COPILULUI**

322.01– PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE

Autoreferatul

tezei de doctor habilitat în științe medicale

Aprobat spre tipar: 21.11.2016

Formatul hîrtiei 60x84 1/16

Hîrtie ofset. Tipar ofset.

Tiraj 60 ex.

Coli de tipar.: 2,8

Comanda nr. 6

SRL „PRIMEX-Com”

Chișinău, str. Armenească, 25. tel. 0-22-27-53-05