

Частота дефицита кальцитриола и полиморфизма гена рецепторов витамина D у беременных с плацентарной дисфункцией на фоне перинатального инфицирования

Г.С. Манасова¹, А.А. Зелинский¹, Н.В. Диденкул¹, Н.В. Кузьмин², З.В. Чумак¹

¹Одесский национальный медицинский университет

²КУ «Родильный дом № 5», г. Одесса

Плейотропным внескелетным эффектам кальцитриола, его влиянию на репродуктивную функцию женщины и развитие различных осложнений беременности сегодня посвящается много работ.

Цель исследования: оценка статуса витамина D (VD) и частоты полиморфизма гена, кодирующего его рецепторы, у беременных с плацентарной дисфункцией (ПД) на фоне верифицированного перинатального инфицирования (ВПИ). **Материалы и методы.** Обследовано 40 пациенток с физиологическим течением беременности и 56 беременных с ПД на фоне ВПИ. Методом ИФА в крови определяли уровень общего VD (25(OH)D); для оценки частоты BsmI-полиморфизма гена рецепторов VD использовали ПЦР-диагностику.

Результаты. При ПД достоверно в 1,9 раза чаще диагностируют VD-дефицитный статус – 28,5% против 15,30% (RR=1,42; 95%CI: 1,08–1,87; p<0,05). Средний уровень VD в крови беременных с ПД был достоверно меньшим, чем у женщин с физиологическим течением беременности (31,73 нг/мл против 43,38 нг/мл соответственно; p<0,01).

У беременных с ПД гетерозиготное сочетание аллелей по типу A/G встречается достоверно чаще (71,43%), чем у здоровых беременных (35%) (OR=3,61; 95%CI: 2,01–6,47; критерий χ^2 19,24; p<0,01); у носителей данного типа BsmI-полиморфизма гена VD-рецепторов риск развития ПД увеличивается в 3,6 раза.

Заключение. Плейотропные эффекты VD могут некоторым образом объяснить формирование плацентарной дисфункции, однако необходимо проводить дальнейшие исследования, в том числе в молекулярно-генетическом направлении, что, вероятно, может позволить прогнозировать и предупреждать развитие дисфункции плаценты у определенного контингента женщин.

Ключевые слова: витамин D, кальцитриол, рецепторы, беременность, плацентарная дисфункция, полиморфизм генов.

В структуре заболеваемости и смертности новорожденных инфекционная патология обуславливает от 11 до 55% потерь в мире [1, 10, 11].

В Украине доля внутриутробных инфекций в структуре перинатальной смертности составляет 25–35%. Причиной 80% врожденных пороков развития считается трансплацентарное инфицирование плода [4].

О плейотропных внескелетных эффектах эндокринной системы витамин D / рецепторы витамина D (VD/VDR) и влиянии ее на функциональное состояние репродуктивной системы женщины в последние годы получены важные данные. Наличие VDR в органах и тканях репродуктивной системы (клетках эндометрия, миометрия, в грудной железе, в ткани яичников, в эндотелии сосудов, в клетках трофобласта, в плаценте) обуславливает значимость системы VD/VDR для организма женщины в целом [2, 7, 8, 9, 14].

Выявлено, что неактивная форма VD – 25(OH)D – способна проходить через гематоплацентарный барьер; непосредственно в плаценте вырабатывается фермент CYP27B1, который переводит неактивную форму VD в активную – 25(OH)2D₃ [13].

Другой функциональной особенностью системы VD/VDR являются ее иммуотропные эффекты. Так, кальцитриол участвует в формировании адаптивного иммунитета путем снижения продукции иммуноглобулина G (IgG), оказывает подавляющее действие на пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, подавляет активацию ряда провоспалительных цитокинов, в частности, продукцию интерферона- γ (IFN- γ), интерлейкина-2 (IL-2) и фактора некроза опухоли- α (TNF- α). Продукция противовоспалительных цитокинов, таких, как интерлейкины-1, 5, 6 и 10 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10), и пролиферация Т-регуляторных клеток в присутствии VD повышается [7]. Установлено и участие системы VD/VDR в регуляции врожденного иммунитета путем стимуляции хемотаксиса, фагоцитоза; путем активации генов, кодирующих синтез пептидов (дефензина и кателицидина) с антибактериальным действием. Непосредственно в очаге воспаления отмечается повышение уровня активного метаболита VD, что обеспечивает протективный эффект и модулирует локальный иммунитет [3, 5].

Известно, что имеются ассоциации между гиповитаминозом D и неблагоприятными исходами беременности, но нет достаточного количества рандомизированных исследований, подтверждающих необходимость проведения универсальной программы скрининга пациенток во время беременности [12].

Цель исследования: оценка VD-статуса и полиморфизма гена, кодирующего его рецепторы, у беременных с плацентарной дисфункцией на фоне верифицированного перинатального инфицирования (ВПИ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 96 беременных, из них 56 пациенток с дисфункцией плаценты (ДП) на фоне ВПИ вошли в основную (I) группу, а 40 пациенток с физиологическим течением беременности – в контрольную (II) группу. Всеми пациентками было предоставлено информированное согласие на проведение обследований.

По возрасту и антропометрическим данным группы были однородными. Средний возраст в группе контроля составил 30,35±3,12 года, пациенток в основной группе – 29,21±4,3 года (p>0,05). Индекс массы тела (ИМТ) у пациенток основной группы соответствовал 22,2±1,7 условных единиц (у.е.), а в группе контроля – 22,8±1,93 у.е. (p>0,05).

В основной группе первородящими были 71,43%, в контрольной – 55,00% (p<0,05), повторнородящими (2-е и 3-и роды) – 28,57% и 45,00% соответственно по группам (p<0,05).

Акушерско-гинекологический анамнез у пациенток основной группы характеризовался рядом особенностей и достовер-

но большей частотой гинекологических заболеваний. Так, на наличие бесплодия длительностью 2–4 года указали 21,43% пациенток из основной группы и 10% женщин из группы контроля, что меньше в 2,1 раза ($F=0,049$; $p<0,05$; $\chi^2=2,19$).

По 3,57% беременных из основной группы указали на наличие синдрома склерополикистозных яичников, догравидарной гипоплазии матки, синдрома Ашермана, тогда как в контрольной группе таких пациенток не отмечено ($p<0,001$). Воспалительные заболевания придатков матки (ВЗПМ) фиксировали у 10,71% женщин из основной группы и у 2,5% – из группы контроля ($p<0,001$).

У 26,79% и у 5,00% беременных основной и контрольной групп были диагностированы фоновые заболевания шейки матки ($F=0,0003$; $\chi^2=7,6$; $p<0,01$); у 10,71% пациенток основной группы диагностирована миома матки, в группе контроля таких пациенток не отмечено ($F=0,002$; $p<0,05$; $\chi^2=4,57$).

Кроме того, у 14,29% и у 12,5% женщин соответственно I и II групп имелся рубец на матке после предыдущего кесарева сечения ($p>0,05$); 28,57% женщин из основной и 2,50% из контрольной группы указали на невынашивание ($F=0,0008$; $\chi^2=10,88$; $p<0,01$).

Общеклиническое обследование и специальные обследования по оценке состояния фетоплацентарного кровообращения и внутриутробного плода проводили в соответствии с требованиями нормативных документов.

Верификацию перинатального инфицирования осуществляли, как минимум, двумя видами исследований: использовали методы бактериоскопического, бактериологического, иммуноферментного анализа (ИФА) и генетического исследования – полимеразной цепной реакции (ПЦР). При выявлении специфических иммуноглобулинов в крови беременных в диагностически значимом титре в динамике проводили повторное исследование «парных сывороток» с определением avidности и аффинности антител с последующей консультацией у врача-инфекциониста.

Ультразвуковое обследование с проведением фето- и плацентометрии, Doppler-оценка кровотока в предусмотренные клиническими протоколами сроки беременности и/или по показаниям позволяли оценить функциональное состояние фетоплацентарного комплекса; также применяли актографический тест, кардиотокографию и оценку биофизического профиля плода.

Определение VD-статуса проводили при установлении диагноза «плацентарная дисфункция» (ПД) во II и III триместрах беременности, что явилось основанием для выделения групп I-А и I-Б. У 22 (39,29%) беременных ПД была диагностирована во II триместре беременности (группа I-А), у 34 (60,71%) пациенток – в III триместре (группа I-Б).

Методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови по уровню основного циркулирующего метаболита VD – 25(OH)D определяли статус витамина D. Методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени и анализом кривых плавления оценивали частоту BsmI-полиморфизма гена VDR (rs1544410). ДНК выделяли с помощью комплекта реагентов «проба-рапид-генетика», «ДНК-технология» (Россия). Для ПЦР-диагностики использовали детектирующий амплификатор ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Biostat 6.0.: в основу расчета достоверности полученных результатов легло определение непараметрического критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Диагностика перинатального инфицирования основывалась на ряде прямых и косвенных признаков. Во-первых, у ряда пациенток из основной группы в анамнезе отмечены

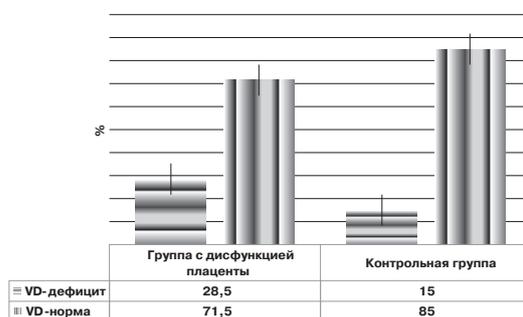


Рис. 1. Удельный вес пациенток с VD-дефицитным статусом среди беременных с дисфункцией плаценты и с физиологическим течением беременности, %



Рис. 2. Уровень общего метаболита витамина D в крови беременных с дисфункцией плаценты и у женщин с физиологическим течением беременности, нг/мл

хронические воспалительные заболевания, которые могли оказывать определенное влияние на течение беременности.

Так, на наличие хронических заболеваний пищеварительного тракта (гастрит, холецисто-панкреатит) указали 5,36% беременных из основной группы и 2,5% – из группы контроля ($F=0,44$; $p<0,05$). У 37,5% и у 15% женщин из I и II групп соответственно (в 2,5 раза чаще, $F=0,0006$; $p<0,05$) выявлен хронический пиелонефрит; у 14,29% из них во время беременности отмечено обострение заболевания. В основной группе 30,36% женщин переболели ОРВИ во время беременности, в группе контроля – 7,5% ($F=0,00004$; $p<0,05$), что достоверно меньше. Инфицирование урогенитального тракта (бактериальный вагиноз, вагиниты смешанной этиологии) диагностировали в 5 раз чаще (64,29% против 12,5%; $F=0,0001$; $p<0,05$) у пациенток I группы. Инфицирование группой TORCH-инфекций (HSV, CMV, Toxoplasma gondii) было диагностировано только в основной группе и составило 5,36%, из них у 1,78% были выявлены IgM, что характерно для первичного инфицирования, у 3,57% определяли IgG низкой avidности.

По данным УЗИ были выделены косвенные признаки наличия воспалительного процесса в маточно-плацентарно-плодовой системе. Низкая плацентация достоверно чаще была диагностирована у беременных с ПД – 26,79%, чем в группе контроля – 7,5% ($F=0,0006$; $p<0,05$); гипертрофию плаценты отмечали соответственно у 10,71% и 2,5% пациенток ($F=0,0245$; $p<0,05$). О воспалительных изменениях в амниотической оболочке свидетельствовали многоводие (21,43% и 7,5% соответственно; $F=0,015$; $p<0,05$) и маловодие (39,29% и 5,00% соответственно; $F=0,00001$; $p<0,05$), частота которых была достоверно – соответственно в 3 и 7 раз больше у бере-

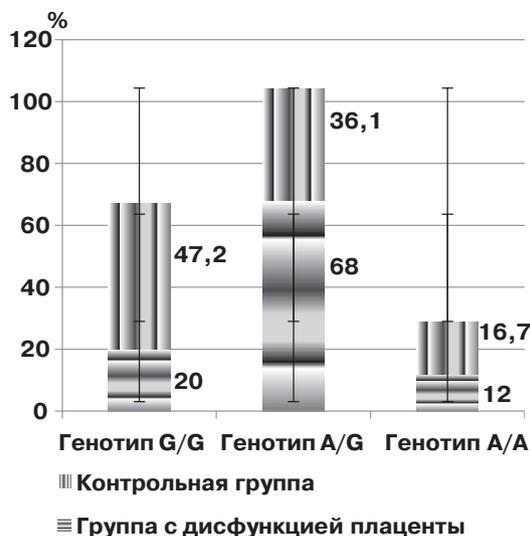


Рис. 3. Частота аллельных вариантов (генотипов) BsmI-полиморфизма гена, кодирующего рецепторы VD, при физиологическом течении беременности и при плацентарной дисфункции, %

менных с ПД. Вентрикуломегалия, которая является одним из косвенных признаков инфицирования ФПК, была выявлена у 10,71% внутриутробных плодов женщин из основной группы. У 10,71% беременных основной группы ПД реализовалась в синдром задержки развития внутриутробного плода (СЗРП).

Определение уровня кальцидиола в крови беременных позволило выделить в обследуемых группах пациенток с VD-дефицитным статусом (VDDS), которых в группе с ПД было достоверно в 1,9 раза больше – 28,5% против 15,30% (RR=1,42; 95%CI: 1,08–1,87; p<0,05; рис. 1).

Средний показатель витамина D в крови беременных с ПД равнялся 31,73 нг/мл и был достоверно меньшим, чем у женщин с физиологическим течением беременности – 43,38 нг/мл (p<0,01) (рис. 2). В контрольной группе пациенток с VDDS выявлено не было, тогда как в основной группе у 50% беременных уровень 25(OH)D был ниже 20 нг/мл (RR=3,0; 95%CI: 2,39–3,76).

Анализ распределения генотипов BsmI-полиморфизма гена, кодирующего рецепторы VD, показал, что у беременных с ПД гетерозиготное сочетание аллелей по типу A/G встречается достоверно чаще (71,43%), чем у здоровых беременных (35%) (OR=4,56; 95%CI: 2,51–8,25; критерий $\chi^2=20,88$; p<0,01). Это увеличивает риск развития ПД у носителей данной аллели в 3,7 раза (рис. 3). Достоверных различий в полиморфизме генов VD-рецепторов в сочетании аллельного варианта A/A в сравниваемых группах выявлено не было (10,71% и 20% соответственно в основной и контрольной группах; p>0,05). Гомозиготное носительство аллели типа G/G выявлено у 45% здоровых беременных, тогда как при ПД данный генотип выявлен только в 17,86% случаев (p<0,01).

Необходимо отметить, что среди 28,5% пациенток с VDDS из основной группы частота гетерозиготного аллельного варианта A/G составила 87,5%, но ни у одной из этих пациенток не выявлено гомозиготной аллели A/A (рис. 4). Напротив, у пациенток из группы женщин с физиологическим течением беременности и VDDS в 83,3% случаев выявлен вариант аллельного сочетания G/G. Наличие у этих беременных VDDS не привело к развитию ПД (RR=9,0; 95%CI: 5,34–15,18; $\chi^2=157,14$; p<0,01), что позволяет предполагать, что аллельное гомозиготное сочетание генов VDR типа G/G может иметь протективный характер.

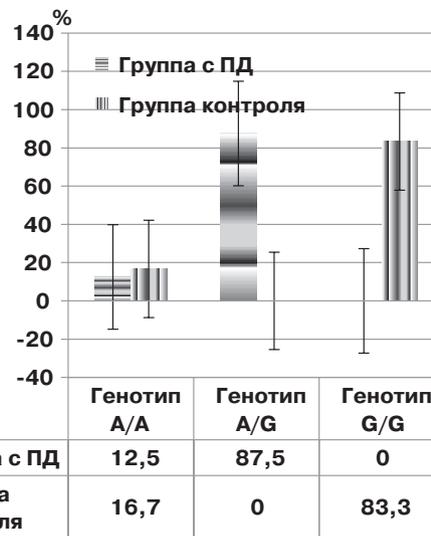


Рис. 4. Частота аллельных вариантов генов, кодирующих VDR, у беременных с дефицитом VD в обследуемых группах, %

ВЫВОДЫ

Результаты проведенного исследования VD-статуса и частоты аллельных вариантов BsmI-полиморфизма гена, кодирующего рецепторы кальцитриола, у беременных с дисфункцией плаценты на фоне верифицированного перинатального инфицирования и у беременных с физиологическим течением беременности позволяют сделать следующие выводы.

У женщин с недостаточным уровнем витамина D в крови достоверно чаще наблюдается осложнение беременности плацентарной дисфункцией (ПД). При формировании дисфункции плаценты на фоне верифицированного перинатального инфицирования удельный вес пациенток с дефицитом VD в 1,86 раз больше, чем при физиологическом течении беременности (28,5% против 15,3% соответственно; RR=1,42; 95%CI: 1,08–1,87).

Средний уровень витамина D в крови беременных с дисфункцией плаценты на фоне перинатального инфицирования достоверно ниже, чем при физиологическом течении беременности (31,73 нг/мл и 43,38 нг/мл соответственно; p<0,05).

В условиях недостаточности или дефицита кальцитриола у женщин с полиморфизмом гена VD-рецепторов по типу аллельного варианта A/G риск реализации перинатального инфицирования и формирования ПД возрастает в 3,61 раза (OR=3,61; 95%CI: 2,01–6,47; $\chi^2=19,24$; p<0,01).

У женщин – носителей гомозиготного аллельного варианта G/G гена, кодирующего VDR, риск осложнения гестационного процесса ПД, несмотря на недостаточность или дефицит кальцитриола, незначителен (RR = 9,0; 95%CI: 5,34–15,18; $\chi^2=157,14$; p<0,01).

Показатель критерия Пирсона при различных аллельных вариантах (A/G – $\chi^2 = 20,88$ и G/G – $\chi^2 = 16,71$) дает возможность говорить о наличии достоверных различий между генотипами у пациенток с дефицитом кальцитриола и ПД; вероятно, это может быть использовано для прогнозирования развития ПД при гетерозиготном A/G -аллельном варианте гена VDR.

Таким образом, плейотропные эффекты витамина D могут некоторым образом объяснить формирование ПД, однако необходимо проводить дальнейшие исследования, в том числе в молекулярно-генетическом направлении, что, вероятно, может позволить прогнозировать и предупреждать развитие ПД у определенного контингента женщин.

Частота дефіциту кальцитріолу і поліморфізму гена рецепторів вітаміну D у вагітних з плацентарною дисфункцією на тлі перинатального інфікування
Г.С. Манасова, О.О. Зелінський, Н.В. Диденкул, Н.В. Кузьмін, З.В. Чумак

Frequency of calcitriol deficiency and polymorphism of Vitamine D receptors gene in pregnant women with placental dysfunction and perinatal infection
G.S. Manasova, N.V. Didencul, N.V. Kuzmin, Z.V. Chumak

Плейотропним позаскелетним ефектам кальцитріолу та його впливу на функціональний стан репродуктивної системи жінки і розвиток різних ускладнень гестаційного процесу сьогодні присвячуються багато робіт.

Мета дослідження: оцінювання статусу вітаміну D (VD) і поліморфізму гена, що кодує його рецептори, у вагітних з плацентарною дисфункцією (ПД) на тлі верифікованого перинатального інфікування (ВПІ).

Матеріали та методи. Обстежено 40 пацієнок з фізіологічним перебігом вагітності (група контролю) та 56 вагітних з ПД на тлі ВПІ (основна група). Методом ІФА у крові визначали рівень загального вітаміну D (25 (ОН) D); для оцінювання частоти BsmI-поліморфізму гена рецепторів VD (VDR) використовували ПЛІР-діагностику.

Результати. При ПД достовірно частіше, в 1,9 разу, діагностують VD-дефіцитний статус – 28,5% проти 15,30% (RR=1,42; 95% CI: 1,08–1,87; p<0,05). Середній рівень VD у крові вагітних з ПД був достовірно менший, ніж у жінок з фізіологічним перебігом вагітності (31,73 нг/мл проти 43,38 нг/мл відповідно; p<0,01).

У вагітних з ПД гетерозиготне поєднання алелів за типом A/G діагностують достовірно частіше (71,43%), ніж у здорових вагітних (35%) (OR=3,61; 95%CI: 2,01–6,47; критерій χ^2 19,24; p<0,01); у носіїв даного типу BsmI-поліморфізму гена VD-рецепторів ризик розвитку ПД збільшується у 3,6 разу.

Заключення. Плейотропні ефекти вітаміну D можуть деяким чином пояснити формування плацентарної дисфункції, проте необхідно проводити подальші дослідження, у тому числі у молекулярно-генетичному напрямку, що, ймовірно, може дозволити прогнозувати розвиток дисфункції плаценти у певного контингенту жінок.

Ключові слова: вітамін D, кальцитріол, рецептори, взаємність, плацентарна дисфункція, поліморфізм генів.

The pleiotropic extra-skeletal effects of calcitriol and its effect on the development of pregnancies various complications are now devoted to many researches.

The objective: to evaluate the vitamin D status and frequency of polymorphism of the VD receptor's (VDR) gene in pregnant women with placental dysfunction (PD) and verified perinatal infection (VPI).

Materials and methods. There were 40 patients with a physiological pregnancy and 56 pregnant women with PD on the VPI background examined.

The level of total VD in serum was determined by immunoassay; by polymerase chain reaction were assessed the frequency of the BsmI-polymorphism (A>G, rs1544410) of the VDR gene.

Results. In patients with PD, a vitamin D-deficiency status is diagnosed more frequently – 28.5% VS 15.30% (RR=1.42; 95%CI: 1.08–1.87; p<0.05). The level of VD in serum of women with PD is lower than in women with a physiological pregnancy (31.40±8.6 ng/ml VS 43.54±11.20 ng/ml, p<0.01).

In women with PD (71.43%), the heterozygous combination of A / G-type alleles was identified more often than in healthy pregnant women (35%) (OR=3.61; 95%CI: 2.01–6.47; χ^2 19.24; p<0.01); in carriers of this type of BsmI-polymorphism of the VDR gene, the risk of PD increases 3.6-fold.

Conclusions. The formation of PD of the pleiotropic effects of vitamin D can be explained particularly, but further research is necessary, including in the molecular genetic direction, which are likely to help in preventing the development of placental dysfunction in a some group of women.

Key words: vitamin D, calcitriol, receptors, pregnancy, placental dysfunction, gene polymorphism.

Сведения об авторах

Манасова Гульсым Серикбаевна – Кафедра акушерства и гинекологии № 2 Одесского национального медицинского университета, 65009, г. Одесса, ул. Маршала Говорова, 28; тел.: (050) 502-70-58. E-mail: gulsymmanasova@gmail.com

Зелінський Александр Алексеевич – Кафедра акушерства и гинекологии № 2 Одесского национального медицинского университета, 65009, г. Одесса, ул. Маршала Говорова, 28; тел.: (066) 220-20-59

Диденкул Наталья Васильевна – Кафедра акушерства и гинекологии № 2 Одесского национального медицинского университета, 65009, г. Одесса, ул. Маршала Говорова, 28; тел.: (093) 844-67-66. E-mail: didenkunatalya@gmail.com

Кузьмін Наталья Васильевна – КУ «Родильный дом № 5», 65009, г. Одесса, ул. Маршала Говорова, 28; тел.: (097) 686-82-36. E-mail: tata.od.us@ukr.net

Чумак Зинаида Васильевна – Кафедра акушерства и гинекологии № 2 Одесского национального медицинского университета, 65009, г. Одесса, ул. Маршала Говорова, 28; тел.: (067) 116-73-59. E-mail: chumakdoc@gmail.com

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Внутритрубная инфекция: современное состояние проблемы / Н.М. Подзолкова, М.Ю. Скворцова, Н.И. Мельникова, И.Ф. Острейков // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 3. – С. 27–32
2. Калиниченко С.Ю. Витамин D и репродуктивное здоровье женщин / С.Ю. Калиниченко и др. // Проблемы репродукции. – 2016. – № 4. – С. 28–36.
3. Мальцев С.В. Роль Витамина D в регуляции иммунной системы / С.В. Мальцев, Н.В. Рылова, А.В. Жолнинский // Практическая медицина. – 2017. – № 5 (106). – С. 11–14.
4. Профилактика перинатальных инфекций и их последствий у беременных / Ю.В. Давыдова // Репродуктивная эндокринология. – 2013. – № 3 (11). – С. 17–35.
5. Agier J. Cathelicidin impact on inflammatory cells. / J. Agier, M. Efenberger, E. Brzezińska-Błaszczuk // Central-European Journal of Immunology. – 2015. – Vol. 40, № 2. – P. 225–235.
6. Barrera D. Calcitriol affects hCG gene transcription in cultured human syncytiotrophoblasts. / D. Barrera // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2008. – Vol. 6, № 3. – P. 1–8.
7. Cantoria M.T. Vitamin D and 1,25(OH)2D Regulation of T cells. / M.T. Cantoria, L. Snyder, Y.D. Lin, L. Yang. // Nutrients. – 2015. – Vol. 7, № 4. – P. 3011–3021.
8. DeLuca H.F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D / H.F. DeLuca // Am. J. Clin. Nutr. – 2004. – Vol. 80. – P. 1689–1696.
9. Javorskia I.N. Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms are associated to spontaneous preterm birth and maternal aspects / I.N. Javorskiabetal. // Gene Volume. – 2017. – Vol. 642. – P. 58–63.
10. Management of Perinatal Infections // Australasian society for infectious diseases. – 2014; ACOG Guidelines at a Glance: Key points about 4 perinatal infections. – 2015.
11. Perinatal infections transmitted by them other to her infant // Pan American Health Organization / World Health Organization (PAHO/WHO). – 2008.
12. Rostami M. Effectiveness of prenatal vitamin D deficiency screening and treatment program: a stratified randomized field trial / M. Rostami et al. // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, jc.2018 00109, Режим доступа : https://doi.org/10.1210/jc.2018-00109
13. Torne-Lyman A. Vitamin D during pregnancy and maternal, neonatal and infant health outcomes: a systematic review and meta-analysis. / A. Torne-Lyman, W.W. Fawz. // Paediatr. Perinat. Epidemiol. – 2012. – Vol. 26. – P. 23.
14. Wacker M. Vitamin D – Effects on Skeletal and Extraskeletal Health and the Need for Supplementation / M. Wacker, M.F. Holick // Nutrients. – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 111–148.

Статья поступила в редакцию 06.10.2018