

ĐẶT VẤN ĐỀ

Đầu tư cho trẻ em là đầu tư cho phát triển. Đối với trẻ em việc phòng chống suy dinh dưỡng đặc biệt là thấp còi có tầm quan trọng hàng đầu để chăm lo cho giống nòi. Từ năm 2009, Việt Nam xuất hiện hai thái cực: béo phì và suy dinh dưỡng với tỷ lệ lần lượt là 10,7% và 9,3%, cả hai đều giảm mật độ xương và ảnh hưởng đến chiều cao khi trưởng thành. Trẻ em là cơ thể đang lớn và phát triển, hai quá trình tạo xương và hủy xương phụ thuộc vào hai nhóm yếu tố cơ bản: di truyền và môi trường. Đặc điểm của quá trình tạo xương ở trẻ em khác với người trưởng thành, với sự ưu thế của hoạt động các nguyên bào tạo xương so với hoạt tính của hủy cốt bào, vì vậy biểu hiện các marker của tổng hợp quá trình này cũng khác với người lớn. Đặc biệt chế độ dinh dưỡng và tập luyện đóng vai trò quyết định đến sự tăng trưởng thể chất, mà quan trọng là chiều cao cơ thể phụ thuộc vào sự phát triển của hệ xương. Đo mật độ chất khoáng của xương và các marker của chu chuyển xương là rất quan trọng để đánh giá tình trạng sức khỏe của xương. Đo mật độ xương ở trẻ em giúp cho việc phát hiện sớm những người có nguy cơ loãng xương sau này, để có biện pháp can thiệp kịp thời.

Mục tiêu nghiên cứu

1. *Xác định mật độ xương, tình trạng Vitamin D, một số markers chu chuyển xương (PINP, Beta-CTX), PTH huyết thanh ở nhóm trẻ 6-14 tuổi có tình trạng dinh dưỡng bình thường, thấp còi, thừa cân béo phì tại TP. Cần Thơ và xác định mối tương quan giữa mật độ xương với nồng độ vitamin D, các markers chu chuyển xương.*

2. *Đánh giá hiệu quả bổ sung canxi và vitamin D cho nhóm trẻ thiếu, giảm vitamin D và hoặc giảm mật độ xương.*

Những đóng góp mới của luận án

Nghiên cứu thực hiện trên 794 trẻ em (499 trẻ bình thường, 207 trẻ thấp còi, 88 trẻ thừa cân béo phì) tuổi từ 6-14 tuổi tại TP. Cần Thơ. Luận án có những kết luận mới sau

- Xác định được giá trị mật độ xương, giá trị các markers chu chuyển xương của quá trình tạo xương (P1NP) và quá trình tiêu xương (Beta-CTX) ở nhóm trẻ thấp còi, trẻ thừa cân – béo phì và trẻ bình thường. Nhóm trẻ thừa cân – béo phì không có giảm mật độ xương. Giá trị các markers P1NP, β -CTX tăng dần theo tuổi. Xác định giá trị 25 (OH)D, PTH ở trẻ em lứa tuổi học đường theo giới, tuổi và theo tình trạng dinh dưỡng.

- Xác định có sự tương quan yếu giữa nồng độ vitamin D, các markers chu chuyển xương và mật độ xương. Giá trị các markers P1NP, β -CTX không dự đoán được mật độ xương.

- Đánh giá được hiệu quả sự gia tăng mật độ xương, giá trị nồng độ 25(OH)D; sự thay đổi các markers P1NP, β -CTX sau 6 tháng bổ sung canxi và vitamin D cho nhóm học sinh có nồng độ vitamin D mức độ giảm hoặc thiếu và hoặc nhóm trẻ có giảm mật độ xương.

CẤU TRÚC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 115 trang: Đặt vấn đề 2 trang, tổng quan tài liệu 33 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 18 trang, kết quả nghiên cứu 31 trang, bàn luận 28 trang, kết luận 2 trang, kiến nghị 1 trang. Luận án có 49 bảng (kết quả 42 bảng), 10 biểu đồ, 2 hình, có 149 tài liệu tham khảo, trong đó 22 tiếng Việt, 127 tiếng Anh.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Xương luôn được cấu trúc lại, xương già bị tiêu bởi tế bào hủy xương và được thay thế bằng xương mới bởi tế bào tạo xương. Sự cân bằng này phụ thuộc vào độ tuổi, hormon và lượng canxi đưa vào qua thức ăn, nước uống.

1.1. Quá trình tiêu xương và tạo xương

Chuyển hóa xương được đặc trưng bởi hai quá trình đối lập nhau là tạo xương và tiêu xương. Quá trình chuyển hóa xương luôn tạo ra sự thay đổi của một số thành phần trong nội môi. Những thành phần này được sử dụng như là những chỉ số sinh học để đánh giá hoạt động chuyển hóa xương.

1.1.1. Quá trình tạo xương

Quá trình tạo xương diễn ra qua nhiều bước nhưng có thể chia ra hai giai đoạn chính: hình thành mô dạng xương và khoáng hóa. Tạo cốt bào bắt đầu thực hiện quá trình tạo xương bằng việc tổng hợp và bài tiết collagen typ I. Khoáng hóa trên mô hình sụn và xương lưới: xảy ra thông qua các túi chứa khuôn hữu cơ gọi là những nhân hydroxyapatit. Các muối khoáng sẽ lắng đọng trên các nhân ấy tạo thành những tinh thể hình cầu $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Khoáng hóa xương lá: xảy ra trực tiếp do các ion lắng đọng trong các cấu trúc dạng “lỗ” của sợi collagen hoặc giữa các sợi collagen.

1.1.2. Quá trình tiêu xương

Mô xương được tái tạo liên tục trong suốt thời kỳ tăng trưởng. Khởi đầu của quá trình tái tạo là sự thoái hóa chất căn bản xương đang tồn tại. Đây là vai trò của hủy cốt bào. Hiện nay người ta cho rằng bạch cầu đơn nhân lớn, đại thực bào và hủy cốt bào có chung tế bào nguồn ở tủy xương, đó là tế bào tiền thân định hướng dòng bạch cầu hạt-đại thực bào. Sau một số giai đoạn phát triển, tế bào tiền thân của hủy cốt bào được sinh ra và biệt hóa theo hướng riêng, theo dòng máu tới mô xương trở thành hủy cốt bào.

1.1.3. Liên quan giữa quá trình tiêu xương và tạo xương

Quá trình tiêu xương và tạo xương luôn luôn gắn liền nhau trong tiến trình tái tạo hay đổi mới xương. Tiến trình này xảy ra trong suốt cuộc đời người và gồm các hiện tượng: sự tạo thành những khoảng trống Howship; sự tạo thành những hệ thống Havers. Hủy cốt bào tiêu xương nhanh hơn tạo cốt bào tạo xương gấp năm lần, do đó cần có một khoảng nghỉ dài giữa hai giai đoạn của chu kỳ tái tạo xương và đây chính là điều kiện cần thiết cho việc duy trì sự cân bằng giữa tạo xương và tiêu xương. Nếu tốc độ tái tạo xương tăng nhanh, tạo cốt bào sẽ

không bù đắp kịp chỗ tiêu xương do hủy cốt bào tạo ra và như vậy sẽ có hiện tượng mất xương.

1.1.3. Các markers của quá trình tạo xương và tiêu xương

Sự tạo xương và tái hấp thu xương được đánh giá bằng cách đo các sản phẩm bài tiết điển hình (các markers) của tạo cốt bào, hủy cốt bào trong máu, da, mô xương, nước tiểu. Marker tạo xương PINP phản ánh sự tổng hợp các protein dồi dào nhất của mô xương, một trong các sản phẩm hình thành của collagen đặc trưng cho xương, được đánh giá đã cho dự đoán gãy xương và giám sát quá trình điều trị loãng xương. Marker beta CTX là marker tham chiếu cho sự tái hấp thu xương, phản ánh quá trình hủy xương. Beta CTX là một peptide axit, một trong số các sản phẩm thoái hóa của collagen là cụ thể cho xương. Tuy nhiên, CTX được sử dụng trong theo dõi các phương pháp điều trị hủy xương, theo dõi sự giảm các dấu hiệu mất xương, như vậy sử dụng hầu hết các bệnh nhân dùng để đánh giá cho cả dự đoán gãy xương và theo dõi khi áp dụng phương pháp điều trị loãng xương.

Bảng 1.1: Các markers của quá trình tạo xương và tiêu xương

Marker	Mô gốc	Mẫu xét nghiệm	Phương pháp phân tích	Chú thích
Các marker tạo xương				
Phosphatase kiềm đặc hiệu của xương (BAP, bone ALP)	Xương	Máu	IRMA, EIA	Sản phẩm đặc trưng của các tế bào tạo xương. Một số xét nghiệm cho thấy khoảng 20% liên quan đến isoenzym gan
Osteocanxin (OC)	Xương	Máu	RIA, IRMA, ELISA	Sản phẩm đặc trưng của các tế bào tạo xương ; Nhưng cũng có thể là sản phẩm của các tế bào hủy xương
C tận cùng propeptid của procollagen typ I (PICP)	Xương, mô mềm, da	Máu	RIA, ELISA	Sản phẩm đặc trưng của các tế bào tạo xương và nguyên bào (fibroblasts)

Bảng 1.1: Các marker phản ánh chu chuyển của xương (tiếp theo)				
Marker	Mô gốc	Mẫu xét nghiệm	Phương pháp phân tích	Chú thích
N tận cùng propeptid của procollagen typ I (P1NP)	Xương, mô mềm, da	Máu	RIA, ELISA	Sản phẩm đặc trưng của các tế bào tạo và nguyên bào; một phần nhỏ kết hợp với các gian bào (matrix)
Các marker hủy xương				
Các marker liên quan đến collagen				
Hydroxyprolin, toàn phần	Xương, sụn, mô mềm, da	Nước tiểu	HPLC	Có mặt trong tất cả các chất keo (collagen) và một phần protein chất keo, kể cả C1q và chất đàn hồi, có mặt trong các chất keo trưởng thành
Hydroxylysine-glycosides	Xương, mô mềm, da	Nước tiểu hay máu	HPLC ELISA	Sự có mặt của hydroxylysin trong collagen tùy thuộc vào mô. Chẳng hạn như glycosylgalactosyl thường có mặt trong các mô mềm, galyctosyl thường thấy trong xương
Pyridinolin (PYD)	Xương, sụn, gân, máu	Nước tiểu, máu	HPLC ELISA	Những collagen có nhiều trong sụn và xương, không có ở da; chỉ có với collagen trưởng thành
Deoxypyridinolin (DPD)	Xương, men răng	Nước tiểu, máu	HPLC ELISA	Là những collagen rất phổ biến trong xương, nhưng ít thấy trong da và sụn

Mô gốc	Mô gốc	Mô gốc	Mô gốc	Mô gốc
Carboxyterminal cross-linked telopeptide of typ I collagen (ICTP, CTX-MMP)	Xương, da	Máu	RIA	Collagen loại I thường thấy trong xương
Carboxyterminal cross-linked telopeptide of typ I collagen (CTX - I)	Tất cả các mô chứa collagen loại I	Nước tiểu, máu	RIA ELISA	Chất keo loại I thường tìm thấy trong mô xương
Aminoterminal cross-linked telopeptide of typ I collagen (NTX-I)	Tất cả các mô chứa collagen loại I	Nước tiểu và máu	RIA ELISA CLIA	Collagen loại I, thường hay được phát hiện trong xương
Collagen I alpha 1 helicoidal peptide (HELP)	Tất cả các mô chứa collagen loại I	Nước tiểu	ELISA	Có mối tương quan cao với các marker collagen, giá trị lâm sàng chưa được xác định

1.2. Đánh giá sức khỏe của xương

1.2.1. Khối lượng xương và chất lượng xương

Sức mạnh của xương bao gồm sự toàn vẹn cả về khối lượng và chất lượng của xương. Khối lượng xương được biểu hiện bằng mật độ xương (BMD-Bone mineral density) là mật độ khoáng hóa khuôn hữu cơ của xương và khối lượng xương (BMC-Bone mass content) là trọng lượng xương. Chất lượng xương phụ thuộc vào thể tích xương (xương đặc, xương xốp), vi cấu trúc xương (thành phần khuôn hữu cơ và chất khoáng), chu chuyển xương (quá trình xây dựng và quá trình tái tạo xương).

Khối lượng xương đỉnh (KLXD) được tích trữ từ giai đoạn tuổi dậy thì, khoảng 40% KLXD trong giai đoạn này, trong thời gian 2 năm ở tuổi khoảng 18 tuổi, ít nhất là 90% KLXD đã được trữ lại, trong khi 10% còn lại sẽ được thêm vào sau này trong giai đoạn củng cố xương. Khối lượng đỉnh càng cao thì nguy cơ loãng xương sau này càng thấp.

1.2.2. Loãng xương, giảm mật độ xương

Trong những năm gần đây, vấn đề khối lượng xương hay mật độ xương thấp ở trẻ em và thanh thiếu niên đã được quan tâm, chú ý. Khối

lượng xương tích tụ được vào cuối giai đoạn tăng trưởng và phát triển là một yếu tố quyết định quan trọng đến sức khỏe của xương. Đối với trẻ em chưa đến tuổi trưởng thành, giá trị BMD so với nhóm tuổi là một yếu tố dự báo tốt về giảm mật độ xương, nguy cơ loãng xương và nguy cơ gãy xương khi BMD giảm đến < -1 SD so với giá trị trung bình BMD của nhóm trẻ khỏe mạnh.

Các phương pháp chẩn đoán loãng xương

- Chụp X quang qui ước
- Đo tỉ trọng khoáng chất của xương

Các phương pháp đo mật độ xương

Độ hấp thụ photon năng lượng đơn (Single photon absorptiometry) được viết tắt là SPA. Độ hấp thụ photon năng lượng kép (Dual photon absorptiometry) được viết tắt là DPA ; Độ hấp thụ tia X năng lượng kép (Dual energy X- ray absorptiometry), được viết tắt là DXA hay DEXA ; Chụp cắt lớp điện toán có định lượng (Quantitative computed tomography) được viết tắt là QCT; Siêu âm; Cộng hưởng từ; Sinh thiết xương.

- *Đo mật độ khoáng xương (BMD) bằng phương pháp DEXA:*

Phương pháp này là tiêu chuẩn vàng chẩn đoán mật độ xương. Trong thực nghiệm, mối liên hệ mật thiết giữa khối lượng xương và sự vững chắc của xương đã được kiểm chứng. 75- 85% những thay đổi về tình trạng vững chắc của xương là do sự thay đổi theo tuổi về tỉ trọng khoáng của xương.

1.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến sức khỏe của xương

Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến sức khỏe xương như: tuổi, giới, chủng tộc, yếu tố di truyền và gia đình, tập luyện, dinh dưỡng, thói quen sinh hoạt... Canxi và vitamin D cần thiết cho duy trì xương và phát triển xương, nhiều nghiên cứu cho thấy lợi ích của việc bổ sung canxi và vitamin D đối với sức khỏe xương.

Tiếp xúc với ánh sáng mặt trời, đặc biệt là tia tử ngoại B là điều cần thiết cho da tổng hợp vitamin D, chỉ cần 10 đến 15 phút tiếp xúc với ánh nắng mặt trời từ năm 10 đến 15 giờ là đủ để tổng hợp đủ vitamin D ở những người da sáng.

1.4. Điều trị dự phòng giảm mật độ xương, loãng xương

Các thuốc đang sử dụng cho việc phòng chống loãng xương và chương trình tập thể dục thường xuyên cũng có thể làm tăng mật độ xương, nâng cao hiệu năng của cơ bắp và giảm nguy cơ gãy xương.

Liệu pháp thay thế hormon chỉ sử dụng cho phụ nữ tuổi tiền mãn kinh, sau mãn kinh.

Canxi, vitamin D giữ một vai trò quan trọng đối với trẻ em, canxi tác động đến sự hình thành khối lượng xương đỉnh. Theo khuyến cáo Viện dinh dưỡng Quốc gia: nhu cầu vitamin D đối với trẻ từ 6 đến 18 tuổi cần 5 mcg/ ngày (tương đương 200UI), nhu cầu canxi cho trẻ từ 6-9 tuổi từ 400-700 mg/ngày, trẻ từ 10 đến 18 tuổi khoảng 1.000mg/ngày.

Bảng 1.2. Nhu cầu canxi và vitamin D cần được bổ sung hàng ngày

Lứa tuổi và tình trạng cơ thể (tuổi)	Nhu cầu canxi hàng ngày (mg)	Nhu cầu vitamin D hàng ngày (UI)
Từ 4 đến 6	600	200 – 400
Từ 7 đến 9	700	200 – 400
Từ 10 đến 18	1.300	400

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là những học sinh từ 6 đến 14 tuổi học tại các trường tiểu học, trung học cơ sở tại địa bàn quận, huyện trực thuộc thành phố Cần Thơ. Thời gian nghiên cứu: từ tháng 10 năm 2012 đến tháng 4 năm 2016.

- Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng

Các đối tượng được chia thành 3 nhóm: nhóm trẻ thấp còi, nhóm trẻ thừa cân - béo phì, nhóm trẻ bình thường, khỏe mạnh.

- Tiêu chuẩn loại trừ

Trẻ đang mắc bệnh cấp tính. Trẻ đã và đang mắc các bệnh lý mạn tính có thể gây giảm mật độ xương. Trẻ được nhận can thiệp từ các nghiên cứu khác. Các trẻ có gia đình từ chối tham gia nhóm nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:

Giai đoạn 1: Tiến cứu: mô tả cắt ngang có phân tích

Giai đoạn 2: Nghiên cứu can thiệp

2.2.2. Cỡ mẫu

* *Giai đoạn 1:*

Cỡ mẫu trong đề tài nghiên cứu được tính theo công thức:

$$n = [Z^2_{1-\alpha/2} \times p \times (1-p)] / d^2$$

Z: giá trị từ phân phối chuẩn với độ tin cậy 95% $\rightarrow Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96$

d: sai số mong muốn $d = 0,05$

Khi chọn p là tỉ lệ giảm mật độ xương ở trẻ thừa cân, béo phì là 18% có cỡ mẫu là 228 trẻ; nếu p là tỉ lệ học sinh trung học cơ sở thấp còi là 15,9 % thì mẫu là 207 trẻ. Do có nhiều nhóm trẻ nên chọn mẫu bằng phương pháp tích hợp các mẫu nhằm ước lượng mẫu tối ưu thích hợp, vì các tỉ lệ trẻ thấp còi và thừa cân, béo phì trong cùng một dân số chứa các đối tượng nghiên cứu, nên chọn cỡ mẫu có số mẫu cao. Cỡ mẫu giai đoạn 1 chọn $p = 0,18$ để đạt mẫu thích hợp là $n = 228$.

Vì chọn mẫu trong cụm hệ thống nên cỡ mẫu được điều chỉnh bằng cách nhân với hiệu quả thiết kế bằng 3.

Vậy cỡ mẫu là: $228 \times 3 = 648$. Ước tính tỷ lệ đồng ý tham gia nghiên cứu là 90% nên cỡ mẫu cần thiết là: $648/0,9 = 760$.

* **Giai đoạn 2:**

Tất cả nhóm trẻ có giảm mật độ xương và hoặc trẻ có nồng độ vitamin D mức độ giảm hoặc nồng độ vitamin D mức độ thiếu từ kết quả của giai đoạn 1, được áp dụng biện pháp can thiệp bằng bổ sung canxi và vitamin D 6 tháng.

2.3 Phương thức thực hiện

Giai đoạn 1: Chọn mẫu theo phương thức cụm hệ thống

- Bước 1: Toàn thành phố có 177 trường tiểu học và 63 trường phổ thông cơ sở (thời điểm năm 2010), chọn ra 3 trường tiểu học và 2 trường phổ thông cơ sở trong 240 trường cần khảo sát. Có 9 khối lớp, bốc thăm ngẫu nhiên mỗi khối lớp chọn tương đương là 760/9 tương đương 85 học sinh mỗi khối lớp, trung bình mỗi lớp có 28-30 học sinh, vậy chọn tối đa mỗi khối 5-6 lớp, số lớp cần chọn 54 lớp.

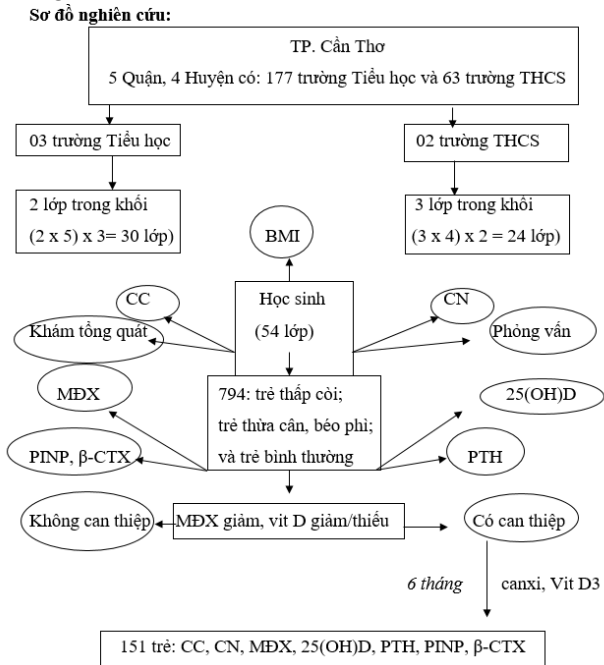
- Bước 2: Tiến hành phỏng vấn theo bộ câu hỏi, đánh giá chiều cao, cân nặng, BMI, khám tổng quát, phỏng vấn theo bộ thu thập số liệu toàn thể học sinh trong lớp được chọn.

- Bước 3: Lọc lại số liệu để phân loại trẻ bình thường, trẻ thấp còi và trẻ thừa cân, béo phì

- Bước 4: Chọn trẻ đúng tiêu chuẩn chọn mẫu trong nhóm chủ cứu: thấp còi, thừa cân, béo phì và nhóm đối chứng: trẻ bình thường,

rước trẻ về Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ để tiến hành làm thủ tục xét nghiệm và đo mật độ xương.

Sơ đồ nghiên cứu:



Giai đoạn 2: Điều trị dự phòng can thiệp

Dành cho những trẻ có giảm mật độ xương so với lứa tuổi và hoặc trẻ có mức nồng độ vitamin D giảm, trẻ có mức nồng độ vitamin D thiếu từ kết quả của giai đoạn 1 được uống canxi và vitamin D theo nhu cầu bình thường của trẻ tương ứng với lứa tuổi trong vòng 6 tháng, thuốc được sản xuất bởi công ty Cổ phần Dược Hậu giang – DHG Pharma.

*** Các biến số, phương pháp đo lường giá trị biến số**

- Tuổi, chiều cao, cân nặng, BMI, thấp còi, thừa cân- béo phì được tính theo tuổi, giới theo tiêu chuẩn WHO 2007, bằng phần mềm WHO Anthro Plus.

- Mật độ xương: được đánh giá bởi chỉ số BMD được đo ở xương cẳng tay. Trẻ trong nhóm nghiên cứu được đo tỉ trọng khoáng chất của xương, tại vị trí xương cẳng tay bằng phương pháp DEXA máy GE

Lunar DXA nhãn hiệu Prodigy Advance, tại Khoa Thăm dò chức năng, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

Đơn vị tính BMD g/cm^2 , đánh giá mật độ loãng xương theo chỉ số Z-score.

$$Z = \frac{iMDX - tMDX}{SD}$$

Trong đó, iMDX là mật độ xương của đối tượng i, tMDX là mật độ xương trung bình của quần thể có cùng độ tuổi với đối tượng, và SD là độ lệch chuẩn của mật độ xương trung bình của quần thể có cùng độ tuổi với đối tượng. Nếu Z-scores là $\leq -1SD$ kết luận đối tượng có mật độ xương thấp, bình thường $> -1SD$.

Trẻ trong nhóm nghiên cứu được lấy máu tĩnh mạch vào lúc sáng, trẻ chưa ăn, ly tâm tại phòng thí nghiệm sinh học phân tử thuộc bộ môn Sinh lý bệnh - miễn dịch, Khoa Y, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, tách 500 μ l huyết thanh chuyển đến Trung tâm Chẩn đoán Y tế Hòa hảo TP. Hồ Chí Minh (MEDIC) để làm xét nghiệm định lượng vitamin D và các marker chu chuyển xương.

- Nồng độ vitamin D được định lượng bằng phương pháp sắc kí lỏng cao áp và quang phổ khối. Hiện đang chấp nhận các tiêu chuẩn để xác định tình trạng vitamin D ở trẻ em và thanh thiếu niên là: khi nồng độ vitamin D $\geq 20ng/mL$ gọi là đủ, khi nồng độ vitamin D từ 15 đến 20 ng/mL gọi là thiếu vitamin D, vitamin D $\leq 15ng/mL$ được xem là giảm vitamin D.

- Nồng độ PTH: được định lượng bằng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang (ECLIA) trên hệ thống Roche Elecsys 2010. Nồng độ PTH bình thường từ 16-65 pg/ml. PTH $< 16pg/ml$ gọi là giảm và PTH $> 65pg/ml$ gọi là tăng.

- Marker tạo xương P1NP: được định lượng sử dụng hệ thống Roche Elecsys 2010 COBA. Giá trị bình thường trong khoảng 17 đến 71 ng/ml , được gọi là giảm khi nồng độ P1NP $< 17ng/ml$.

- Marker hủy xương β -CTX: được định lượng sử dụng hệ thống Roche Elecsys 2010 COBA. Bình thường từ 0,07-0,68 ng/ml , gọi là tăng khi nồng độ β -CTX $> 0,69 ng/ml$.

- Đánh giá mối tương quan giữa mật độ xương với vitamin D, marker chu chuyển xương P1NP và β -CTX. Mối tương quan được thể hiện qua phương trình hồi qui đơn biến và phương trình hồi qui đa biến. Mức độ tương quan được xác định theo giá trị tuyệt đối của hệ số r.

Biến số đánh giá sau can thiệp như: chiều cao, cân nặng được so sánh với biến số trước can thiệp. Các biến số: mật độ xương, nồng độ vitamin D, P1NP huyết thanh, β -CTX huyết thanh, PTH huyết thanh, được so sánh với các giá trị của biến số trước can thiệp.

- Loại thuốc can thiệp trong thời gian 6 tháng: thuốc được sản xuất bởi công ty Cổ phần Dược Hậu Giang – DHG Pharma: loại viên sủi nhãn Davitabone có hàm lượng: Can xi 300 mg, Vitamin D3 200 IU,...; loại viên nén nhãn Calvit D có hàm lượng: 750 mg can xi và 60 IU Vitamin D3.

Do nhu cầu canxi và vitamin D chênh lệch không nhiều giữa các lứa tuổi, nên chọn theo khuyến cáo của Viện dinh dưỡng Quốc gia:

+ Trẻ từ 6-9 tuổi (trẻ bậc tiểu học) sẽ uống với hàm lượng: 600mg canxi và 400 IU Vitamin D3, nên chọn loại viên sủi phối hợp 1 viên uống vào buổi sáng và 1 viên sủi phối hợp uống buổi chiều trước 14 giờ.

+ Trẻ từ 10 đến 14 tuổi (trẻ bậc trung học cơ sở) sẽ uống với hàm lượng tương đương 1300 mg canxi và 400 UI vitamin D3, nên vào buổi sáng chọn loại viên sủi phối hợp 1 viên, 1 viên Calvit D và 1 viên sủi phối hợp uống buổi chiều trước 14 giờ.

2.2.4. Phương pháp thu thập số liệu và đánh giá

Tất cả các trẻ tham gia nghiên cứu được quản lý theo bộ hồ sơ riêng. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Stata 8.0 theo chương trình định sẵn để tính ra những đặc trưng thống kê như trung bình cộng, độ lệch chuẩn (SD), sai số chuẩn (SE), tỷ lệ.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành đảm bảo tuân thủ theo các nguyên tắc về đạo đức trong nghiên cứu y học: Các đối tượng và gia đình, nhà trường được giải thích cụ thể, rõ ràng mục đích, quy trình nghiên cứu. Các đối tượng đều được làm các xét nghiệm miễn phí, đo mật độ xương được sử dụng rất rộng rãi trên thế giới và trong nước: không gây đau đớn. Phụ huynh đồng ý cam kết điều trị can thiệp

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm nhóm nghiên cứu

Qua chọn mẫu theo phương thức cụm hệ thống, chọn ra được 794 học sinh tham gia vào nghiên cứu. Kết quả: có 393 trẻ trai, chiếm tỉ lệ 49,5% và 401 trẻ gái chiếm tỉ lệ 50,5%. Có 207 trẻ thấp còi chiếm tỷ lệ 26,07%, có 72 trẻ thừa cân và 16 trẻ béo phì chiếm tỷ lệ 11,08%, 499 trẻ bình thường chiếm tỉ lệ 62,85%.

Bảng 3.1: Phân bố tình trạng dinh dưỡng theo giới tính

Giới Dinh dưỡng	Trẻ trai n (%)	Trẻ gái n (%)	Cộng n (%)
Thấp còi	81 (20,6)	126 (31,4)	207 (26,1)
Bình thường	249 (63,4)	250 (62,3)	499 (62,8)
Thừa cân, béo phì	63 (16,0)	25 (6,3)	88 (11,1)
Cộng	393 (100)	401 (100)	794 (100)
$\chi^2.p$	$\chi^2=12,0354; p < 0,001$		

Tỉ lệ trẻ gái thấp còi cao hơn trẻ trai. Thừa cân, béo phì gặp nhiều ở trẻ trai hơn trẻ gái.

3.2 Mật độ xương, vitamin D, giá trị một số markers chu chuyển xương ở trẻ em. Mối tương quan giữa MĐX với vitamin D và các markers chu chuyển xương

3.2.1 Mật độ xương

Bảng 3.2: Phân bố mật độ xương với tình trạng dinh dưỡng

Dinh dưỡng \ MĐX	Bình thường		Thấp còi		Thừa cân-béo phì		Tổng	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Thấp	69	13,83	32	15,46	0	0	101	12,72
Bình thường	430	86,17	175	84,54	88	100	693	87,28
Tổng	499	100	207	100	88	100	794	100
$\chi^2_{.p}$	$\chi^2=14,77; p=0,001$							

Nhóm trẻ thấp còi có tỉ lệ giảm mật độ xương là 15,46% cao hơn, trẻ thừa cân béo phì không có giảm mật độ xương.

3.2.2. Nồng độ vitamin D

Bảng 3.3: Phân bố nồng độ Vitamin D theo tình trạng dinh dưỡng

Dinh dưỡng \ Vit D	Bình thường		Thấp còi		Thừa cân-béo phì		Tổng	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Giảm	63	12,63	29	14,01	30	34,09	122	15,4
Thiếu	80	16,03	34	16,43	7	7,95	121	15,2
Bình thường	356	71,34	144	69,57	51	57,95	551	69,4
Tổng	499	100	207	100	88	100	749	100
$\chi^2_{.p}$	$\chi^2=28,1628; p<0,0001$							

Nhóm trẻ thừa cân, béo phì thì tỉ lệ giảm vitamin D cao nhất 34,09%. Các nhóm trẻ có nồng độ vitamin D giảm và thiếu là 30,6%.

Bảng 3.4: Tỷ lệ trẻ có nồng độ Vitamin D thiếu, vitamin D giảm, vitamin D bình thường theo nơi cư trú

Vit D \ Cư trú	Thành thị n (%)	Nông thôn n (%)	Tổng số n (%)
Vit D bình thường	158 (50,0)	393 (82,2)	551 (69,4)
Vit D thiếu	57 (18,0)	64 (13,4)	121 (15,2)
Vit D giảm	101 (32,0)	21 (4,4)	122 (15,4)
Tổng số	316 (100)	478 (100)	794 (100)
$\chi^2.p$	$\chi^2= 8,0200$ $p < 0,05$		

Trẻ có nơi cư trú tại thành thị có tỉ lệ trẻ vitamin D giảm và thiếu cao hơn ở nông thôn.

3.2.3. Các markers chu chuyển xương

Bảng 3.5: Nồng độ PINP (ng/ml) theo nhóm tuổi

Gới \ Tuổi	Trẻ bình thường			Trẻ thấp còi			Trẻ thừa cân, béo phì		
	Trung vị	Thấp	Cao	Trung vị	Thấp	Cao	Trung vị	Thấp	Cao
6	480	371,7	563,3	225	163,4	300,4	391,7	238,4	851,3
7	490,3	355,2	618,4	272	230,1	338,2	474,8	358,2	528,5
8	486,6	367,8	637,8	390,5	239,4	541,1	451,3	302,8	502,1
9	531,5	422	665,2	409,6	277	440,5	510,7	495,9	537,2
10	457,2	365,9	614,5	384	299,8	411,6	603,8	468,1	616,5
11	520,1	387,4	682,5	393,8	305,3	558,3	495,8	425,6	770,9
12	574,9	421,7	825,5	445,3	331,6	578,4	625,8	475	781,1
13	539,6	362,7	767,4	520,4	375	729,2	503,7	240,4	706,6
14	323,5	174,9	590,3	305,6	142,7	532,3	115,3		
p	p=0,0001			p=0,0001			p> 0,05		

Nồng độ PINP tăng dần theo tuổi, cao nhất nhóm 12-13 tuổi. Nhóm trẻ thấp còi có nồng độ PINP thấp hơn nhóm trẻ bình thường và nhóm trẻ thừa cân béo phì.

Bảng 3.6: Nồng độ PINP trung bình theo tình trạng dinh dưỡng

Dinh dưỡng PINP trung bình	Trẻ bình thường	Trẻ thấp còi	Trẻ thừa cân, béo phì
\bar{X} ng/ml \pm 6 ng/ml	526,7 258,6	421,4 246,9	508,4 216,6
χ^2, p	$\chi^2=5,0304; p<0,0001$		

Nồng độ PINP trung bình ở nhóm trẻ bình thường cao hơn trẻ thừa cân, béo phì và cao hơn nhóm trẻ thấp còi.

Bảng 3.7: Nồng độ β -CTX (pg/ml) theo nhóm tuổi

Giới Tuổi	Trẻ bình thường			Trẻ thấp còi			Trẻ thừa cân, béo phì		
	Trung vị	Thấp	Cao	Trung vị	Thấp	Cao	Trung vị	Thấp	Cao
6	952,5	843,4	1049	510,9	477,7	609,2	1038	841,1	1346
7	957,9	671,2	1070	581	410,2	707,7	763,3	554,1	998,9
8	1102	885,1	1234	706,2	535,7	832,6	868,3	624	1274
9	952,1	796,9	1105	700,1	471,6	887,9	788,3	684,5	910,1
10	929,9	653,9	1189	826,8	716,1	933,7	963,7	804,4	1004
11	1050	829,1	1401	823,7	700	1134	1047	854,4	1331
12	1308	999,9	1703	995,8	717,7	1234	1248	1207	1332
13	1231	812,7	1568,5	884,3	591,2	1334	863,8	450,1	1226,7
14	669,1	368	963,9	683,4	371	1332	432,9		
p	p<0,0001			p=0,0001			p=0,0170		

Nồng độ β -CTX tăng dần theo tuổi, đến 12 tuổi β -CTX đạt giá trị cao. Nhóm trẻ thấp còi có nồng độ β -CTX thấp hơn nhóm trẻ bình thường và nhóm trẻ thừa cân béo phì.

Bảng 3.8: Nồng độ β -CTX trung bình theo tình trạng dinh dưỡng

Dinh dưỡng β-CTX trung bình	Trẻ bình thường	Trẻ thấp còi	Trẻ thừa cân, béo phì
\bar{x} pg/ml \pm 6 pg/ml	1022 424	838 409	979 396
χ^2, p	$\chi^2=2,0520; p = <0,0001$		

Nồng độ β -CTX trung bình ở nhóm trẻ bình thường cao hơn trẻ thừa cân, béo phì và cao hơn nhóm trẻ thấp còi.

3.2.4 Mối tương quan giữa MĐX với vitamin D và các marker chuyển xương

Hệ số tương quan bình phương $r^2 = 0,0735$, như vậy phương trình hồi quy giải thích được 7,35% sự biến thiên của mật độ xương.

Phương trình hồi quy tương quan giữa mật độ xương và CTX, VITD, P1NP như sau:

Mật độ xương = 0,3581966 - 0,0000125 x CTX -0,0011482 x Vit D -0,0000183 x P1NP

3.3. Hiệu quả bổ sung bằng canxi và vitamin D ở nhóm trẻ có giảm hoặc thiếu vitamin D và hoặc có giảm MĐX.

3.3.1 Thay đổi mật độ xương sau can thiệp

Bảng 3.9: Thay đổi phân loại mật độ xương sau can thiệp

Mật độ xương		Trước can thiệp	Sau can thiệp
MĐX bình thường	n	50	135
	%	33,11	89,40
MĐX giảm	n	101	16
	%	66,89	10,60
Tổng	n	151	151
	%	100	100
χ^2, p		$\chi^2=5,8307; p < 0,05$	

Sau can thiệp, tỉ lệ trẻ giảm mật độ xương từ 66,89% giảm xuống 10,6%.

3.3.2. Thay đổi vitamin D sau can thiệp

Bảng 3.10: Thay đổi nồng độ vitamin D trung bình theo tình trạng dinh dưỡng

Nồng độ Vit D trung bình	Trước can thiệp (\bar{x} ng/mL$\pm\sigma$ ng/mL)	Sau can thiệp (\bar{x} ng/mL$\pm\sigma$ ng/mL)	Δ sau-trước (ng/mL)	T test
Trẻ bình thường (n=87)	26,84 \pm 9,0	35,48 \pm 8,9	8,64	t=-6,337 p<0,0001
Trẻ thấp còi (n=50)	27,95 \pm 11,7	31,11 \pm 9,9	3,16	t=-4,686 p<0,0001
Trẻ thừa cân, béo phì (n=14)	20,19 \pm 6,8	31,16 \pm 8,6	10,97	t=-3,746 p<0,001

Sau can thiệp, nồng độ vitamin D thay đổi đáng kể, không còn trẻ có nồng độ vitamin D mức độ giảm, tỉ lệ nhóm có nồng độ vitamin D thiếu từ 31,79 % xuống còn 5,3%.

3.3.3. Thay đổi các marker chu chuyển xương sau can thiệp

Bảng 3.11: Thay đổi nồng độ P1NP trung bình theo giới

Nồng độ P1NP trung bình	Trước can thiệp (\bar{x} ng/ml$\pm\sigma$ng/ml)	Sau can thiệp (\bar{x} ng/ml$\pm\sigma$ng/ml)	Δ sau-trước (ng/ml)	T test
Trẻ trai (n=64)	462,07 \pm 216,75	352,19 \pm 196,16	-109,85	t= 3,006 p=0,003
Trẻ gái (n=87)	441,98 \pm 213	368,58 \pm 131	-73,4	t= 2,731 p=0,007

Nồng độ P1NP trung bình của trẻ sau can thiệp giảm nhiều so với trước can thiệp ở cả nhóm trẻ trai và trẻ gái. Nhóm trẻ bình thường, trẻ thừa cân béo phì giảm có ý nghĩa so với nhóm trẻ thấp còi.

Bảng 3.12: Thay đổi nồng độ β -CTX theo giới

Nồng độ β-CTX trung bình	Trước can thiệp (\bar{x} pg/ml$\pm\sigma$pg/ml)	Sau can thiệp (\bar{x} pg/ml$\pm\sigma$pg/ml)	Δ sau-trước (pg/ml)	T test
Trẻ trai (n=64)	837,67 \pm 341,42	875,81 \pm 368,18	38,14	t=-0,607 p=0,5445
Trẻ gái (n=87)	835,15 \pm 333,17	943,47 \pm 262,1	108,32	t=-2,383 p=0,0182

Nồng độ β -CTX trung bình của trẻ sau can thiệp tăng so với trước can thiệp, trẻ gái tăng nhiều hơn trẻ trai.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm nhóm nghiên cứu

Các đặc điểm phân bố giới tính, tuổi trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi cũng gần tương đồng với các nghiên cứu trong nước. Về giới tính trẻ gái và trẻ trai cũng tương đương nhau theo nhóm tuổi.

Thành phố Cần Thơ là thành phố trực thuộc trung ương đang trong giai đoạn phát triển cũng như dinh dưỡng đang trong thời kỳ chuyển tiếp, điều kiện kinh tế cao hơn các khu vực ở Quy Nhơn, Bình Định, Buôn Ma Thuột... nhưng thấp hơn Hà Nội, Hồ Chí Minh, Hải Phòng, do đó tình trạng tỷ lệ thấp còi, thừa cân béo phì trong nghiên cứu chúng tôi cũng phản ánh tình trạng dinh dưỡng chịu tác động bởi tình trạng kinh tế.

4.2. Mật độ xương, vitamin D, giá trị một số markers chu chuyển xương ở trẻ em và mối tương quan giữa MĐX với vitamin D và các markers chu chuyển xương

4.2.1. Mật độ xương:

Mật độ khoáng xương thấp trong nghiên cứu của chúng tôi là 12,72%, tỷ lệ nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn Chlebna- Sokol D trong 74 trẻ không bệnh lý thấy có: 2/74 trường hợp (2,7%) loãng xương, 12/74 (16,2%) thiếu xương, 60/74 bình thường. Giống tác giả L.Gracia Marco (Tây Ban Nha) thấy MĐX trẻ gái cao hơn trẻ trai tuổi từ 12,5 -17,5 tuổi. Phù hợp với tác giả Pairunyar (Thái Lan) MĐX trẻ gái cao hơn trẻ trai nhóm từ 12-16 tuổi.

4.2.2. Vitamin D:

Nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu đa quốc gia khảo sát tình trạng dinh dưỡng trẻ em từ 6 tháng đến 12 tuổi tại 4 nước Đông Nam Á từ 2010-2012 của tác giả Poh Bee Koon. So với các nghiên cứu tại Việt Nam trong vài năm gần đây (Vũ Thị Thu Hiền, Phạm Thúy Vân), thì kết quả nghiên cứu tại TP. Cần Thơ, trẻ có nồng độ vitamin D thiếu và nồng độ vitamin D giảm thấp hơn các nghiên cứu các tác giả. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đương nghiên cứu của Hyppönen: nồng độ trung bình của 25-OH-D trong huyết thanh của nam giới cao hơn ở nữ giới. Tỷ lệ thiếu vitamin D là 20% ở nam giới và 46% ở nữ giới tuổi trưởng thành. Mặc dù thời gian và địa điểm khác nhau, nhưng nhìn chung nồng độ trung bình của vitamin D ở trẻ trai cao hơn trẻ gái và tỷ lệ trẻ gái thiếu và giảm vitamin D nhiều hơn so với trẻ trai. Kết quả cũng tương tự nghiên cứu của tác giả Misra M, thực hiện trên nhóm cha mẹ và con ở tây nam nước Anh của 7560 trẻ với tuổi trung bình là 9,9 năm, cho thấy tình trạng thiếu vitamin D (<20ng/ml) là 29% và Parikh trẻ béo phì có nồng độ 25(OH) D thấp hơn so với người có trọng lượng cơ thể bình thường.

4.2.3. Các markers chu chuyển xương

Kết quả nghiên cứu P1NP của trẻ em tại TP. Cần Thơ cũng tương tự với nhóm tác giả nghiên cứu tại Phần Lan (Riitta K Tähtelä), P1NP được so sánh trong nhóm dân số khỏe mạnh theo nhóm tuổi và giới tính, cho thấy P1NP ở nhóm nam cao hơn nữ, nhóm trẻ cao hơn nhóm người lớn. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự nghiên cứu của Gwang Suk Kim ghi nhận marker tạo xương thấp ở trẻ béo phì và tác giả M.Bayer, giá trị P1NP giao động trong những năm đầu của cuộc sống, P1NP ở trẻ trai cao hơn trẻ gái. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đương nghiên cứu của L.Gracia Marco thấy beta CTX giảm theo tuổi, β -CTX ở trẻ trai cao hơn so với trẻ gái.

4.2.4. Môi tương quan giữa MĐX với vitamin D và các markers chu chuyển xương

Tương quan giữa MĐX với vitamin D và các markers cũng như tác giả Donvina Vaitkeviciute nghiên cứu trẻ tuổi trung bình $11,9 \pm 0,6$ tuổi, tìm mối liên hệ giữa marker chu chuyển xương và MĐX sau thời điểm 12 và 24 tháng. Nghiên cứu ghi nhận sự thay đổi beta CTX không ảnh hưởng lên sự thay đổi của MĐX, mà sự thay đổi các markers ảnh hưởng ngược với MĐX trong giai đoạn dậy thì.

Các tác giả S. Vasikaran, R. Eastell, Patrick Garner nhận thấy có sự tương quan giữa MĐX và marker chu chuyển xương có ý nghĩa thống kê, nhưng giá trị marker không thể sử dụng để tiên đoán định hướng loãng xương như là dấu hiệu tiên đoán của BMD ở một bệnh nhân. Cả hai đều là yếu tố dự báo độc lập với nguy cơ gãy xương, nhưng marker chỉ có thể được sử dụng như là một yếu tố nguy cơ bổ sung trong quyết định điều trị

4.3. Đánh giá hiệu quả bổ sung bằng canxi và vitamin D ở nhóm trẻ có giảm hoặc thiếu vitamin D và hoặc có giảm MĐX.

4.3.1. Thay đổi mật độ xương sau can thiệp

Mật độ xương trung bình của trẻ sau can thiệp tăng có ý nghĩa so với trước can thiệp. Trẻ trai tăng trung bình tăng $0,041 \text{g/cm}^2$, trẻ gái

tăng $0,023\text{g}/\text{cm}^2$. So sánh với các nghiên cứu tác giả J. W. Nieves tổng kết 8 công trình nghiên cứu các tác giả từ năm 2007 - 2012 nhận xét rằng, thời gian can thiệp canxi và vitamin D ở người trưởng thành có giảm mật độ xương, thời gian can thiệp từ 1 đến 3 năm tùy theo tác giả nhận thấy: mật độ xương gia tăng không đáng kể, trừ 01 nghiên cứu của Marini H thấy có sự gia tăng đáng kể mật độ xương (BMD) ở xương cột sống và xương đùi.

4.3.2. Thay đổi nồng độ vitamin D sau can thiệp

Nồng độ vitamin D trung bình sau can thiệp tăng nhiều so với trước can thiệp. Đặc biệt, sau can thiệp ở nhóm trẻ gái tăng nhiều hơn so với nhóm trẻ trai, trẻ gái tăng 15 ng/mL , trẻ trai tăng $7,19\text{ ng/mL}$. Ở tất cả các nhóm trẻ: trẻ thừa cân béo phì giá trị tăng nhiều hơn trẻ thấp còi và trẻ bình thường.

Mật độ xương, nồng độ vitamin D của trẻ sau 6 tháng can thiệp bằng canxi và vitamin D tăng nhiều so với trước can thiệp cũng tương tự như các nghiên cứu các tác giả Helen McDevitt, Amy MCGowan bằng những phương thức khác như tập thể dục, bổ sung canxi qua thức ăn, thuốc...

4.3.3. Thay đổi các markers chu chuyển xương: P1NP, β -CTX sau can thiệp

Nồng độ P1NP của trẻ sau can thiệp giảm nhiều so với trước can thiệp ở cả nhóm trẻ trai và trẻ gái, nhóm trẻ bình thường, trẻ thừa cân, béo phì giảm có ý nghĩa so với nhóm trẻ thấp còi. K. Solarz và A. Kopec nhận định: 25 (OH) D, P1NP và CTX nhóm cầu thủ bóng đá chuyên nghiệp cao hơn trong các nhóm người ít hoạt động. Nồng độ β -CTX của trẻ sau can thiệp nhóm trẻ gái tăng nhiều so với nhóm trẻ trai, nhóm trẻ thấp còi tăng hơn nhóm trẻ thừa cân, béo phì, trẻ bình thường nhưng tăng không đáng kể. Marker P1NP giảm và beta CTX tăng sau 6 tháng can thiệp bằng canxi và vitamin D từ nghiên cứu của chúng tôi có khác hơn so với tác giả Timo Rantalainen: cả P1NP và beta CTX đều tăng sau thời gian tập luyện thể dục.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 794 học sinh từ 6 đến 14 tuổi học tại các trường tiểu học, trung học cơ sở tại địa bàn thành phố Cần Thơ từ tháng 10 năm 2012 đến tháng 4 năm 2016, chúng tôi rút ra kết luận như sau:

1. Mật độ xương, nồng độ Vitamin D, một số markers chu chuyển xương (P1NP, Beta-CTX), mối tương quan giữa mật độ xương với nồng độ vitamin D, các markers chu chuyển xương

- Trẻ có mật độ xương thấp là 12,72%. Nhóm trẻ thấp còi có tỷ lệ giảm mật độ xương là 15,46% cao hơn so với nhóm trẻ bình thường.

- Mật độ xương tăng dần theo tuổi và mật độ xương ở trẻ trai cao hơn trẻ gái. Nhóm từ 13 tuổi trở lên thì mật độ xương trung bình ở trẻ gái tăng cao hơn trẻ trai.

- Nồng độ 25-OH-D trung bình ở trẻ trai cao hơn trẻ gái. Tỷ lệ trẻ có nồng độ vitamin D giảm và thiếu là 30,6%, trẻ ở thành thị thiếu nhiều hơn so với trẻ ở nông thôn .

- Nồng độ P1NP tăng dần theo tuổi, cao nhất nhóm 12-13 tuổi, nồng độ beta CTX cũng tăng dần theo tuổi, cao nhất nhóm 13 tuổi. Nồng độ trung bình P1NP, beta CTX nhóm trẻ thấp còi thấp hơn nhóm trẻ bình thường và nhóm thừa cân béo phì.

- Nồng độ PTH tăng dần theo tuổi, không có sự khác biệt giữa các nhóm trẻ.

- Có sự tương quan yếu giữa nồng độ vitamin D, marker chu chuyển xương và mật độ xương (g/cm^2). Nồng độ các markers P1NP, β -CTX không dự đoán được mật độ xương. Phương trình hồi quy:

$$\text{MĐX}=0,3581966-0,0000125*\text{CTX}-0,0011482*\text{VitD}-0,0000183*\text{P1NP}$$

2. Hiệu quả bổ sung bằng canxi và vitamin D ở nhóm trẻ có nồng độ vitamin D mức độ giảm hoặc thiếu và hoặc nhóm trẻ có giảm mật độ xương.

- Mật độ xương trung bình của trẻ sau can thiệp tăng nhiều so với trước can thiệp. Trẻ trai tăng cao hơn trẻ gái.

- Nồng độ 25-OH- D trung bình ở trẻ sau can thiệp tăng nhiều so với trẻ trước can thiệp, trẻ gái tăng nhiều trẻ trai tăng.

- Nồng độ P1NP trẻ sau can thiệp giảm có ý nghĩa so với trước can thiệp ở nhóm trẻ bình thường và trẻ thừa cân béo phì.

- Nồng độ β -CTX sau can thiệp nhóm trẻ gái tăng nhiều so với nhóm trẻ trai.

- Nồng độ PTH không thay đổi sau can thiệp.

KIẾN NGHỊ

Qua kết quả nghiên cứu chúng tôi có một số đề xuất kiến nghị cho trẻ từ 6 đến 14 tuổi như sau:

- Tất cả trẻ cần được kiểm tra định kỳ ít nhất 01 lần/năm: đo nồng độ vitamin D và đo mật độ xương đối với tất cả trẻ: thấp còi, thừa cân, béo phì và trẻ bình thường.

- Trẻ có nồng độ vitamin D thiếu hoặc giảm và có mật độ xương giảm cần được áp dụng những biện pháp can thiệp về chế độ ăn uống và bổ sung canxi và vitamin D theo nhu cầu của trẻ. Đặc biệt là trẻ thấp còi và trẻ thừa cân – béo phì.

- Cần có nghiên cứu cấp quốc gia về vitamin D và mật độ xương của trẻ, can thiệp toàn diện cho trẻ ở lứa tuổi học đường.

INTRODUCTION

The study was conducted in 2009, in the city of ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
 The study was conducted in ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
 The study was conducted in ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
 The study was conducted in ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
 The study was conducted in ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
 The study was conducted in ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
 The study was conducted in ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
 The study was conducted in ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
 The study was conducted in ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...

STUDY OBJECTIVES

- 1- To investigate the ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...
- 2- To investigate the ... (10,7%, 19,3%, ...). The study aimed to investigate the ... and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts ...

THE NEW CONCLUSIONS OF THE TRIAL

1994 to 1997

1988 to 1996

1992 to 2015.

- 1994

1994 (PNB) - 1996 - 14-

1994 - 1996

1994 - 1996 6

1994 - 1996

(PN 1994) - 1996 - 1996

1994 - 1996

1994

- 1994

1994 - 1996

1994 - 1996

- 1996

1994 - 1996

1994

STRUCTURE OF THE THESIS

1994

1994

1994

1994

1994

1994

1994

1994

1994

1994

1994

127.

Chapter 1

OVERVIEW

Bone biology

bone biology

bone biology

bone

1.1. Bone resorption and bone formation

Bone biology

bone biology

bone biology

bone

1.1.1. Bone formation

bone formation

bone formation

bone

bone

bone formation

bone formation

bone formation

e

bone formation

bone formation

bone formation

bone formation

bone

(1) 6 (12. bone formation)

bone formation

bone

1.1.2. Bone resorption

bone resorption

bone

bone

bone resorption

bone resorption

bone resorption

bone

Table 1.1: The markers of bone turnover

Marker	Tissue of Origin	Specimen	Analytical Method	Remarks
Markers of bone formation				
B- α ALP (RA)	B	sn	E s P , R MA, E	BB bSn spD 20% b -ly hinn (A)
OC C-in pP I p g (P CP) N-in pP lp (PN)	B b BS sk BS sk	sn sn sn	R M E RA RA	B p b b mn in simD s en pbfm lp BB b in b B p b b d b p - ly pfb in
Markers of bone resorption				
Collagen-related				
III tel HPI	B b sn k	uj	sn E	snhb b d b b p b Cq d b E n w b d mbg b b - b b d s hbh cpf

<p> $\frac{h}{s} - h$ $\frac{p}{I} \frac{h}{6}$ (X - J) </p>	<p> $\frac{h}{h}$ $\frac{p}{h}$ </p>	<p> $\frac{h}{h}$ </p>	<p> $\frac{R}{R}$ </p>	<p> $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ </p>
<p> $\frac{h}{h}$ $\frac{p}{h}$ (H) </p>	<p> $\frac{h}{h}$ $\frac{p}{h}$ </p>	<p> $\frac{h}{h}$ </p>	<p> $\frac{R}{R}$ </p>	<p> $\frac{h}{h}$ ifn $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ 20 -633). $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ - h $\frac{h}{h}$ $\frac{h}{h}$ </p>

1.2. Assess bone health

1.2.1 The volume of bone and bone quality

The volume of bone is determined by the amount of bone mineral density (BMD) and the amount of bone mineral content (BMC). BMD is the amount of mineral in a given volume of bone, while BMC is the total amount of mineral in a given volume of bone. BMD is measured by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), while BMC is measured by quantitative computed tomography (QCT).

The volume of bone is also determined by the quality of the bone. Bone quality is determined by the strength of the bone, which is influenced by factors such as bone structure, bone mineral density, and bone turnover. Bone quality is measured by bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC).

The volume of bone is also determined by the amount of bone mineral density (BMD) and the amount of bone mineral content (BMC). BMD is the amount of mineral in a given volume of bone, while BMC is the total amount of mineral in a given volume of bone. BMD is measured by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), while BMC is measured by quantitative computed tomography (QCT).

The volume of bone is also determined by the quality of the bone. Bone quality is determined by the strength of the bone, which is influenced by factors such as bone structure, bone mineral density, and bone turnover. Bone quality is measured by bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC).

1.2.2 Osteoporosis, low of bone mineral density

Osteoporosis is a condition characterized by low bone mineral density (BMD) and bone quality, leading to an increased risk of fractures.

1.2.1.1

1.2.1.1

1.2.1.1.1

1.2.1.1.1.1

1.2.1.1.1.1

1.2.1.1.1.2

-1

1.2.1.1.1.3

1.2.1.1.1.3

The method of diagnosing osteoporosis

- X rays
- Measurements of bone mineral density

The method of measuring bone density

1.2.1.1.1.4

1.2.1.1.1.4.1

1.2.1.1.1.4.1

1.2.1.1.1.4.2

-

1.2.1.1.1.4.3

1.2.1.1.1.4.4

1.2.1.1.1.4.5

1.2.1.1.1.4.5

1.2.1.1.1.4.6

- Measurement of bone mineral density (BMD) by DEXA method:

1.2.1.1.1.4.6.1

1.2.1.1.1.4.6.2

1.2.1.1.1.4.6.3

75- 85% 1.2.1.1.1.4.6.3

1.2.1.1.1.4.6.4

1.3. Factors affecting bone health

1.3.1

1.3.1.1

1.3.1.1

1.3.1.2

1.3.1.3

1.3.1.4

1.3.1.4.1

1.3.1.4.2

1.3.1.4.3

1.3.1.4.4

1.4. Prophylactic treatment reduces bone density, osteoporosis

18 2007 2015
 1000mg
 600 700 1300
 200 - 400 200 - 400 400

Table 1.2. Needs daily of Calcium and vitamin D

Age	Calcium (mg)	Vitamin D (IU)
4- 6	600	200 - 400
7- 9	700	200 - 400
10- 18	1.300	400

Chapter 2

OBJECTS AND METHODS

2.1. Objects, Time

2007-2015
 1000mg
 2011-2015

- Criteria for selecting objects

1000mg 2011-2015

- Exclusion criteria

1000mg 2011-2015

2.2. Methodology

2.2.1. Study design:

Stage 1: C - b

Stage 2: H

2.2.2. Data base

* Stage 1:

n

$$n = [Z_{1-U/2}^2 \times p(1-p) / d^2]$$

$$Z_{1-U/2} = 1,96, d = 0,05$$

$n = 6228$

by 18% in 6228 h of ps

in 15, 9% of 207 h

of 6 h of 6 h

of 6 h of 6 h

of 6 h of 6 h

of 6 h of 6 h of 6 h

of 6 h

* Stage 1: $n = 18 \times 6228$

$n = 112104$

$n = 6$

$$6228 \times 3 = 18684$$

of 90%, of 6 h

$$18684 / 0,9 = 20760$$

* Stage 2:

$n = 6228 / 0,1$

$n = 62280$

of 6 h of 6 h of 6 h

of 6 h

2.3 Method of implementation

* Stage 1: Sampling manner cluster system

- Step 1: $n = 177$ of 63

of (2010), of 4 h

of 6 h

of 240 h of 6 h

60/9 85

28

-30

-6

54

- Step 2: $\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

- Step 3: $\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

- Step 4: $\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

* Stage 2: Prophylactic treatment intervention

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

* The variables, methods of measuring the value of variables

- $\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

- $\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

x.

$$Z_1 = \frac{i - \bar{i}}{\sigma}$$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

$\frac{1}{2}$

Diagnosis of

hypoparathyroidism

etiology - scores ≤ -1.96

or hypocalcemia

or hypocalcemia - 1.96

or hypocalcemia

or

hypocalcemia

, hypocalcemia

hypocalcemia

- in 6M

University of Medicine and Pharmacy Tho, separated 500µl serum

for analysis

(Methionine)

k

- Methionine

ethionine

ethionine

ethionine

adolescents is: when vitamin D levels ≥ 20 ng / mL called enough,

ethionine ≥ 15 and 20 ng / mL

vitamin D, vitamin D ≤ 15 ng / mL called

- hypocalcemia

ethionine

2010 ethionine

616 -65 g/ mL

16g / mL

15g / mL

- B -PNM ≥ 2010

ethionine 617 671g / mL

ethionine 7g / mL

- B -ethionine

2010 ethionine 0.07 to 0.68 g / mL

ethionine ion called β -ethionine 0.69 g / mL

- ethionine

ethionine

ver markers, and β -ethionine

ethionine

ethionine

for ethionine

ethionine ≥ 1.5 g / mL

- ethionine

ethionine PNM

V, ~~11/10/11~~
11

11/10

- 11/10/11

11/10

11/10/11

- 11/10

11/10/11 300 gm 200

11/10/11 ...; 11/10/11 750 gm

11/10/11

11/10

11/10/11

11/10/11

11

+ 11/10

-9 (11/10/11)

11/10/11 600 gm 400 11/10/11

11/10/11 e 11/10/11

11/10/11 4 11

+ 11/10/11 14 11/10/11

11/10/11 300 gm

11/10/11 400 11/10/11

1 11/10/11 1 11/10/11

11/10/11 4 11

2.2.4. Methods of data collection and evaluation

11/10/11

11/10/11

11/10/11 11/10/11 8.0 11/10/11

11/10/11

11/10/11

2.3. Research Ethics

11/10/11

11/10/11

11/10/11 11/10/11

11/10/11

11/10/11

11/10/11 11/10/11

11/10/11

Chapter 3

RESULTS

794 (49,5%), 401 (50,5%)
 207 (26,07%), 172 (6
 11,08%), 499 (62,85%).

3.1 General features

393 (49,5%), 401 (50,5%)
 207 (26,07%), 172 (6
 11,08%), 499 (62,85%).

Table 3.1: Distribution of nutritional status by sex

Nutriton \ Sex	Boys n (%)	Girls n (%)	Total n (%)	χ^2, p
B	81 (20,6)	126 (31,4)	207 (26,1)	$\chi^2 \pm 2,0354$ p0,001
N	249 (63,4)	250 (62,3)	499 (62,8)	
D	63 (16,0)	25 (6,3)	88 (11,1)	
F	393 (100)	401 (100)	794 (100)	

794 (49,5%), 401 (50,5%)
 207 (26,07%), 172 (6
 11,08%), 499 (62,85%).

3.2 bone density, vitamin D and the value of some markers of bone turnover in children.

3.2.1 BMD

Table 3.2: Distribution of bone density with the nutritional status

Nutri \ BMD	Normal		Stunting		Overweight, Obese		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
B	69	13,83	32	15,46	0	0	101	12,72
N	430	86,17	175	84,54	88	100	693	87,28
F	499	100	207	100	88	100	794	100
χ^2, p	$\chi^2 \pm 4,77; 0,001$							

794 (49,5%), 401 (50,5%)
 207 (26,07%), 172 (6
 11,08%), 499 (62,85%).

3.2.2. The concentration of vitamin D

Table 3.3: Distribution of Vitamin D concentrations according to nutritional status

Nutri Vit D	Normal		Stunting		Overweigh, Obese		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Đ	63	12,63	29	14,01	30	34,09	122	15,4
Đ	80	16,03	34	16,43	7	7,95	121	15,2
Đ	356	71,34	144	69,57	51	57,95	551	69,4
Tổng	499	100	207	100	88	100	749	100
χ^2, p	$\chi^2=28,1628; p,0001$							

~~Đ~~

~~- Đ~~

~~Đ 34,09%. Đ Đ~~

~~Đ 30,6% Đ~~

Table 3.4: Percentage of children lack vitamin D levels, vitamin D reduced, normal vitamin D according to place

Vit D	Place	Urban	Rural	Total
		n (%)	n (%)	n (%)
Đ		158 (50,0)	393 (82,2)	551 (69,4)
Đ		57 (18,0)	64 (13,4)	121 (15,2)
Đ		101 (32,0)	21 (4,4)	122 (15,4)
Tổng	Đ	316 (100)	478 (100)	794 (100)
χ^2, p		$\chi^2=8,0200 p0,05$		

~~Đ Đ Đ Đ Đ~~

~~Đ Đ~~

3.2.3. The bone turnover markers

Table 3.5: Concentration PINP (ng / ml) by age group

Sex \ Age	Normal			Stunting			Overweight, Obese		
	M	lv	hl	M	lv	hl	M	lv	hl
6	480	371,7	563,3	225	163,4	300,4	391,7	238,4	851,3
7	490,3	355,2	618,4	272	230,1	338,2	474,8	358,2	528,5
8	486,6	367,8	637,8	390,5	239,4	541,1	451,3	302,8	502,1
9	531,5	422	665,2	409,6	277	440,5	510,7	495,9	537,2
10	457,2	365,9	614,5	384	299,8	411,6	603,8	468,1	616,5
11	520,1	387,4	682,5	393,8	305,3	558,3	495,8	425,6	770,9
12	574,9	421,7	825,5	445,3	331,6	578,4	625,8	475	781,1
13	539,6	362,7	767,4	520,4	375	729,2	503,7	240,4	706,6
14	323,5	174,9	590,3	305,6	142,7	532,3	115,3		
p	p,0001			p,0001			p,05		

\bar{x} 480
 \pm 371,7
 \pm 563,3
 \pm 225
 \pm 163,4
 \pm 300,4
 \pm 391,7
 \pm 238,4
 \pm 851,3

Table 3.6: Average concentration PINP by nutritional status

PINP	Nutrition		
	Normal	Stunting	Overweight, Obese
\bar{x} gn	526,7	421,4	508,4
\pm gn	258,6	246,9	216,6
χ^2, p	$\chi^2 5,0304; p,0001$		

\bar{x} 526,7
 \pm 258,6
 \bar{x} 421,4
 \pm 246,9
 \bar{x} 508,4
 \pm 216,6

V c d n g " 5 0 9 < " E β -CTX(ppm) by age group " q h "

Sex \ Age	Normal			Stunting			Overweight, Obese		
	M	w	n	M	w	n	M	w	n
6	952,5	843,4	1049	510,9	477,7	609,2	1038	841,1	1346
7	957,9	671,2	1070	581	410,2	707,7	763,3	554,1	998,9
8	1102	885,1	1234	706,2	535,7	832,6	868,3	624	1274
9	952,1	796,9	1105	700,1	471,6	887,9	788,3	684,5	910,1
10	929,9	653,9	1189	826,8	716,1	933,7	963,7	804,4	1004
11	1050	829,1	1401	823,7	700	1134	1047	854,4	1331
12	1308	999,9	1703	995,8	717,7	1234	1248	1207	1332
13	1231	812,7	1568,5	884,3	591,2	1334	863,8	450,1	1226,7
14	669,1	368	963,9	683,4	371	1332	432,9		
p	p0,0001			p,0001			p,0170		

β -CTX concentration increases with age, and 12 β -CTX and started 13 β -CTX lower back. Stunting children with β -CTX

V c d n g " 5 0 : < " E β -CTX age by nutritional status "

Nutrition \ -CTX	Normal	Stunting	Overweight, Obese
	\bar{x} gm	1022	838
\pm g gm	424	409	396
χ^2, p	$\chi^2=2,0520; p,0001$		

β -CTX
by

3.3. The relationship between BMD with vitamin D and markers of bone turnover. Evaluate the effectiveness supplement with calcium and vitamin D in children has decreased or insufficiency of vitamin D and / or reduce the BMD.

3.3.1. The correlation between vitamin D and MDX with markers of bone turnover

$r = -0,0735$ $p = 0,000183$
 $r = 0,3581966$ $p = 0,0000125$ $r = -0,0011482$ $p = 0,0000183$

3.3.2. Changes in bone density after intervention

Table 3.9: Change classification Bone mineral density

Bone mineral density		Before	After
N	n	50	135
	%	33,11	89,40
L	n	101	16
	%	66,89	10,60
N	n	151	151
	%	100	100
χ^2, p		$5,8307; 0,05$	

$66,89\%$
 $10,6\%$.

3.3.3. Changing vitamin D after intervention

Table 3.10: Change in average levels of vitamin D by nutritional status

Vitamin D	Before (\bar{x} ng/mL ± g ng/mL)	After (\bar{x} ng/mL ± g ng/mL)	" * (Be) (ng/mL)	T test
N (87)	26,84 ±9,0	35,48 ±8,9	8,64	t = -6,3377 p,0001
L (50)	27,95 ±1,7	31,11 ±9,9	3,16	t = -4,6865 p,0001
D (14)	20,19 ±6,8	31,16 ±8,6	10,97	t = -3,7463 p,001

~~Figure 3.10: Change in PINP levels before and after intervention in the study group (n=64) and control group (n=87). PINP levels were significantly lower in the study group after intervention (p=0.003).~~

3.3.4. Changing bone turnover markers after intervention

Table 3.11: Change PINP average levels by gender

PINP	Before (\bar{X} ng/ml \pm gng/ml)	After (\bar{X} ng/ml \pm gng/ml)	"-C Be (ng/ml)	T test
♀ (64)	462,07 \pm 16,75	352,19 \pm 96,16	-109,85	t=3,006 p,003
♂ (87)	441,98 \pm 13	368,58 \pm 31	-73,4	t=2,731 p,007

~~Figure 3.11: Change in PINP levels before and after intervention in the study group (n=64) and control group (n=87). PINP levels were significantly lower in the study group after intervention (p=0.003).~~

Table 3.12: Change in CTX average levels by gender

-CTX	Before (\bar{X} pg/ml \pm gpg/ml)	After (\bar{X} pg/ml \pm gpg/ml)	"-C Be (pg/ml)	T test
♀ (64)	837,67 \pm 341,42	875,81 \pm 368,18	38,14	t=-0,607 p,5445
♂ (87)	835,15 \pm 333,17	943,47 \pm 262,1	108,32	t=-2,383 p,0182

~~Figure 3.12: Change in CTX levels before and after intervention in the study group (n=64) and control group (n=87). CTX levels were significantly higher in the study group after intervention (p=0.0182).~~

0.9 g/20g

29 25

(1)

4.2.3. Bone turnover markers.

PNP

(1)

10g 10g 10g

10g

10g

10g

5

years of life. Our β -

β -

4.3. Evaluate the effectiveness supplement with calcium and vitamin D in infants has decreased or insufficiency vitamin D and / or reduce the BMD.

4.3.1. Changes in bone density after intervention

0.041g

10g

0.023g

18

-2012

10g

10g

10g

4.3.2. Changing levels of vitamin D after intervention

10g

10g

10g

10g 10g 10g

10g

10g

10g

10g

10g

10g

4.3.3. Changes of bone turnover markers: R 3 P R-CTX after intervention

Professional football players higher in the least active group. B- κ (P1NP, Beta-CTX) in children

1. Bone mineral density, Vitamin D status, some bone turnover markers (P1NP, Beta-CTX) in children

CONCLUSIONS

79.4% (n=49) vs 20.6% (n=13) in the least active group. B- κ (P1NP, Beta-CTX) in children

1. Bone mineral density, Vitamin D status, some bone turnover markers (P1NP, Beta-CTX) in children

72% (n=45) vs 28% (n=17) in the least active group. B- κ (P1NP, Beta-CTX) in children

- **Urethra**
Fig 6. H. in D. d
Fig 30,6%. H. in b (50%)
Fig (17,8%).

- **Phalange**
Fig 4. H. in b
Fig 13. H. in b
Fig 13. H. in b
Fig 13. H. in b

- **H. in b**
Fig 13. H. in b

2. The correlation between bone density, vitamin D levels and bone turnover markers

- **Urethra**
Fig 13. H. in b

$$R = 0,3581966 - 0,0000125 * K - 0,0011482 * V - 0,0000183 * P$$

3. The effectiveness of supplementation with calcium and vitamin D in children with vitamin D insufficiency and deficiency and/or children with reduced bone density

- **Urethra**
Fig 13. H. in b
Fig 13. H. in b
Fig 13. H. in b
Fig 13. H. in b

- **Urethra**
Fig 13. H. in b
Fig 13. H. in b
Fig 13. H. in b

5,3%, ~~10,1%~~ ~~10,1%~~

67,68% 04, 7%.

- ~~10,1%~~ ~~10,1%~~

~~10,1%~~

~~10,1%~~

- The concentration of β -~~10,1%~~

~~10,1%~~

RECOMMENDATIONS

~~10,1%~~

~~10,1%~~

- ~~10,1%~~ ~~10,1%~~ ~~10,1%~~

~~10,1%~~

~~10,1%~~

- ~~10,1%~~

~~10,1%~~

in

~~10,1%~~

~~10,1%~~

- ~~10,1%~~

~~10,1%~~