

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 (PINP) 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 PINP, 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 PINP, 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 PINP, 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
Osteocalxin (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, galactosyl 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

Bảng 1.1: Các marker phản ánh chu chuyển của xương (tiếp theo)				
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 (KLXĐ) được tích trữ từ giai đoạn tuổi dậy thì, khoảng 40% KLXĐ trong giai đoạn này, trong thời gian 2 năm ở tuổi khoảng 18 tuổi, ít nhất là 90% KLXĐ 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.

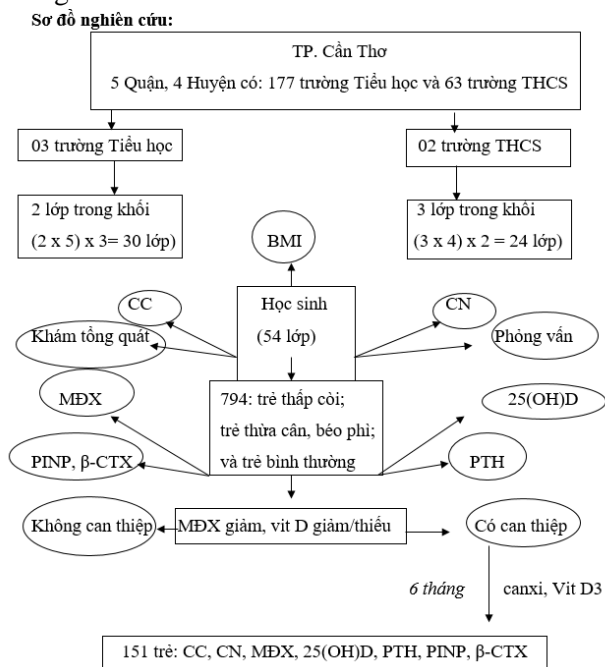
- Bước 2: Tiến hành phỏng vấn theo bộ câu hỏi, đánh giá chiều cao, cân nặng, BMI, khám tổng quát, phỏng vấn theo bộ thu thập số liệu toàn thể học sinh trong lớp được chọn.

- 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.

$$Z = \frac{i \text{MDX} - t\text{MDX}}{SD}$$

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 μl 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 ký 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 $\geq 20\text{ng/mL}$ gọi là đủ, khi nồng độ vitamin D từ 15 đến 20ng/mL gọi là thiếu vitamin D, vitamin D $\leq 15\text{ng/mL}$ 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 $< 16\text{pg/ml}$ gọi là giảm và PTH $> 65\text{pg/ml}$ 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 71ng/ml , được gọi là giảm khi nồng độ P1NP $< 17\text{ng/ml}$.

- 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 $> 0,69 \text{ ng/ml}$.

- 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)
χ^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	421,4	508,4
	258,6	246,9	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

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	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 = $0,3581966 - 0,0000125 \times \text{CTX} - 0,0011482 \times \text{Vit D} - 0,0000183 \times \text{P1NP}$

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. Mối 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 Garnero 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 $0,023\text{g/cm}^2$. 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

Children is the hope of our future. Prevention of malnutrition and rickettsia are the most important problems. Since 2009, Vietnam has appeared two extremes: obesity and malnutrition at a rate of 10,7%, and 9,3%, respectively. Both of them reduce bone density and influence adult height. Genetics and environment affect the growth and development of children's bodies. Predominance of osteoblasts compared to osteoclasts, so the markers of children biosynthesis are difference with the adults. Especially diet and exercise play a decisive role in physical growth, which is important to the body height depends on the growth of the bones. Measurement of bone mineral density and bone turnover markers of very important to evaluate the state of bone health. Bone mineral density measurement in children helps early detection of those at risk of osteoporosis in later life for any interventions needed.

STUDY OBJECTIVES

1- To determine the value of bone density, vitamin D status, some bone turnover markers (P1NP, Beta-CTX), serum PTH in 6-to-14-year-old children who have normal nutritional status, stunting or obesity in Can Tho city. To determine the correlation between bone density, vitamin D levels, and bone turnover markers.

2- To evaluate the effectiveness of supplementation with calcium and vitamin D in children with vitamin D decrease or deficiency and children with reduced bone density.

THE NEW CONCLUSIONS OF THE TRIAL

The study was implemented in 794 children with 499 normal, 207 stunted and 88 obese children at the age from 6 to 14 in schools located in Can Tho city from October, 2011 to April, 2015.

- To determine the value of bone density, vitamin D status, some bone turnover markers (P1NP, Beta-CTX), serum PTH in 6-to-14-year-old children who have normal nutritional status, stunting or obesity in Can Tho city. The study gave many reference values of bone mineral density, bone turnover markers of bone formation (P1NP) and bone resorption (Beta- CTX). P1NP, Beta- CTX concentration increased with ages. Determined PTH and 25(OH)D in stunting, overweight obese, normal children.

- To determine the correlation between bone density, vitamin D levels, and bone turnover markers; there was a weak correlation between vitamin D levels, bone turnover markers and BMD.

- To evaluate the effectiveness of supplementation with calcium and vitamin D in children with vitamin D decrease or deficiency and/or children with reduced bone density.

STRUCTURE OF THE THESIS

The thesis consists of 115 pages, introduction: 2 pages, overview: 33 pages, objects and methods: 18 pages, results: 31 pages, discussion: 28 pages, conclusions: 2 pages and recommendations 1 page . The thesis has 49 tables (results 42 tables), 10 figures, 2 pictures, with 149 references: 22 Vietnamese, English 127.

Chapter 1

OVERVIEW

Bones has always been restructured, old bones consumed by osteoclasts and replaced by new bone osteoblasts. This balance depends on age, hormones and calcium taken in through food and drinking water.

1.1. Bone resorption and bone formation

Bone metabolism characterized by two opposing processes that generate bone and bone resorption. Bone metabolism and creating the change of some components in vivo. These components are used as biological indicators to assess bone metabolism.

1.1.1. Bone formation

Osteoblast bone formation through the implementation of differentiated phases. Bone formation takes place through many steps, but can be divided into two main phases: the bone tissue formation and mineralization types. Started osteoblast bone formation done by the synthesis and secretion of collagen type I. Stage of mineralization on cartilage and bone happens through vesicles containing organic mold hydroxyapatite's. The deposition of mineral salts on the human will that form the spherical crystal $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Bone mineralization foil occurs directly by the ion deposition in the form structure "hole" of collagen fibers or between the collagen fibers.

1.1.2. Bone resorption

Regeneration of bone tissue is continuously during growth. The existed bone is metabolised as trigger of start of reconstruction. This is the role of osteoclasts, after some stages of development, the precursor cells of osteoclasts are born and differentiated, then follow the blood flow to bone tissue as osteoclasts.

1.1.3. Association between bone resorption and bone formation

Bone resorption and bone formation always linked together in the process of bone regeneration or renewal. This process occurs throughout the life of people and phenomena include: the creation of gaps Howship; the creation of the system of Havers. Osteoclast bone resorption faster osteoblast bone formation five times, so need a long break between the two phases of the cycle of bone regeneration and is a necessary condition for maintaining the balance between bone formation and bone resorption. If the pace accelerated bone regeneration, osteoblast up spot will not offset bone resorption by osteoclasts and thus creating the phenomenon of bone loss.

1.1.4. The markers of bone formation and resorption

Bone formation and bone resorption was assessed by measuring the secretion of typical products (the markers) of the osteoblast, osteoclasts in the blood, skin, bone tissue, urine. P1NP bone formation markers reflect the synthesis of the most abundant proteins of bone tissue, a product in the formation of collagen characterize bone. P1NP are produced in the bone formation process, it has been assessed for predicting fractures were monitoring and treatment of osteoporosis. CTX beta reference marker for bone resorption, reflecting the process of bone destruction. CTX beta peptide is an acid, a product of the degradation of collagen is specific to bone. However, CTX used in monitoring the treatment of bone destruction, monitoring reduces the signs of bone loss, so most of the engineers use to evaluate patients for fracture prediction and monitoring when applied treatments for osteoporosis.

Table 1.1: The markers of bone turnover

Marker	Tissue of Origin	Specimen	Analytical Method	Remarks
Markers of bone formation				
Bone-specific alkaline phosphatase (BAP)	Bone	Serum	Electrophoresis, Precipitation, IRMA, EIA	Specific product of osteoblasts. Some assays show up to 20% cross-reactivity with liver isoenzyme (LAP)
Osteocalcin (OC)	Bone, platelets	Serum	RIA, IRMA, ELISA	Specific product of osteoblasts; many immunoreactive forms in blood; some may be derived from bone resorption.
C-terminal propeptide of type I procollagen (PICP)	Bone, soft tissue, skin	Serum	RIA, ELISA	Specific product of proliferating osteoblasts and fibroblasts.
N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP)	Bone, soft tissue, skin	Serum	RIA, ELISA	Specific product of proliferating osteoblast and fibroblasts; partly incorporated into bone extracellular matrix.
Markers of bone resorption				
Collagen-related				
Hydroxyproline, total and dialyzable (Hyp)	Bone, cartilage, soft tissue, skin	Urine	Colorimetry, HPLC	Present in all fibrillar collagens and partly collagenous proteins, including C1q and elastin. Present in newly synthesized and mature collagen, i.e. both collagen synthesis and tissue breakdown contribute to urinary Hyp.

Hydroxylysine-glycosides (HLG)	Bone, soft tissue, skin, serum complement	Urine (serum)	HPLC ELISA	Collagen HL is glycosylated to varying degrees, depending on tissue type. Glycosylgalactosyl-HL in high proportion in collagens of soft tissues, and C1q; Galactosyl-HL high in skeletal collagens.
Pyridinoline (PYD)	Bone, cartilage, tendon, blood vessels	Urine Serum	HPLC ELISA	Collagens, with highest concentrations in cartilage and bone; absent from skin; present in mature collagen only.
Deoxypyridinoline (DPD)	Bone, Dentin	Urine Serum	HPLC ELISA	Collagens, with highest concentration in bone; absent from cartilage or skin; present in mature collagen only.
Carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen (ICTP, CTX-MMP) Carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen (CTX-I)	Bone, Skin All tissues containing type I collagen	Serum Urine (a/p) Serum (β only)	RIA ELISA RIA	Collagen type I, with highest contribution probably from bone; may be derived from newly synthesized collagen. Collagen type I, with highest contribution probably from bone. Isomerization of aspartyl to β -aspartyl occurs with ageing of collagen molecule.

Aminoterminal cross-linked telopeptide of type I collagen (NTX-I)	All tissues containing type I collagen	Urine Serum	ELISA CLIA RIA	Collagen type I, with highest contribution from bone.
Collagen I alpha 1 heliocidal peptide (HELP)	All tissues containing type I collagen	Urine	ELISA	Degradation fragment derived from the helical part of type I collagen ($\alpha 1$ chain, AA 620-633). Correlates highly with other markers of collagen degradation, no specific advantage or difference in regards to clinical outcomes.

1.2. Assess bone health

1.2.1 The volume of bone and bone quality

Bone strength include integrity in both volume and quality of the bone. Bone mass is expressed in bone mineral density (BMD -Bone mineral density) is the density of mineralized bone mold and organic bone mass (BMC-Bone mineral content) is the weight of bone. Bone quality depends on the volume of bone (dense bone, cancellous bone), bone microarchitecture (mold organic ingredients and minerals), turnover (bone building process and the process of bone regeneration).

Peak bone mass stored from the stage of puberty, around 40% peak bone mass in this period, during 2 years at the age of about 18, at least 90% Peak bone mass were stored, while the remaining 10% will be added later in the bone consolidation phase. Volume peaks higher risk of osteoporosis later lower.

1.2.2 Osteoporosis, low of bone mineral density

In recent years, the problem of bone mass or low bone mineral density in children and adolescents were concerned, attention. Bone

mass is accumulated in the late stages of growth and development is an important determinant of bone health. For children under the age of majority, BMD values than age is a good predictor of bone loss, the risk of osteoporosis and fracture risk when BMD decreased to <-1 SD compared to prices the mean BMD of healthy children.

The method of diagnosing osteoporosis

- *X rays*
- *Measurements of bone mineral density*

The method of measuring bone density

Energy photon absorption unit (single photon absorptiometry) was abbreviated to SPA. Energy photon absorption dual (dual photon absorptiometry) was abbreviated to DPA; Absorbance dual energy X-rays (X-ray dual energy absorptiometry), abbreviated as DXA or DEXA; Computerized tomography with quantitative (Quantitative computed tomography) is abbreviated QCT; Supersonic; Magnetic Resonance; Bone biopsy.

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

This method is the gold standard diagnostic bone density. In the experiment, an intimate relationship between bone mass and bone strength has been proven. 75- 85% of the change in status of bone strength is due to the change with age on bone mineral density.

1.3. Factors affecting bone health

There are many factors that affect bone health, such as age, sex, race, genetic factors and family, exercise, nutrition, living habits ... Calcium and vitamin D are essential for maintaining bone and bone growth, many studies show that the benefits of calcium and vitamin D supplements for bone health.

Exposure to sunlight, especially ultraviolet B is essential for the skin to synthesize vitamin D, just 10 to 15 minutes of exposure to the sun from year 10 to 15 hours is sufficient for synthesis enough vitamin D in the skin brightness.

1.4. Prophylactic treatment reduces bone density, osteoporosis

The drugs are used for the prevention of osteoporosis and exercise program often can also increase bone density and improve muscle performance and reduce the risk of fractures.

Hormone replacement therapy is only used for postmenopausal women, after menopause.

Calcium, vitamin D plays an important role for children, calcium affects the formation of bone mass peaks. As recommended by the National Institute of Nutrition: Vitamin D needs for children aged 6 to 18 years of age need 5 mcg / day (equivalent 200UI), needs calcium for children aged 6-9 years old from 400-700 mg / day, children 10 to 18 years about 1000mg / day.

Table 1.2. Needs daily of Calcium and vitamin D

Age old	Calcium (mg)	vitamin D (UI)
4- 6	600	200 - 400
7- 9	700	200 - 400
10- 18	1.300	400

Chapter 2

OBJECTS AND METHODS

2.1. Objects, Time

The study was implemented in 794 children with 499 normal, 207 stunted and 88 obese children at the age from 6 to 14 in schools located in Can Tho city from October, 2011 to April, 2015.

- Criteria for selecting objects

The subjects were divided into 3 groups: group of children stunting, overweight - obese, normal children healthy.

- Exclusion criteria

Children are suffering from acute illness. Young has been suffering from a chronic disease that can cause bone loss. Children receive intervention from studies young khac.Cac family refused to join the team.

2.2. Methodology

2.2.1. Study design:

Stage 1: Cross - sectional

Stage 2: Uncontrolled intervention.

2.2.2. Data base

* *Stage 1:*

Sample

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

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

When choosing p is the ratio decreased bone density in children are overweight, obese is 18% with a sample of 228 children; if p is the ratio is 15,9% stunted children, the sample was 207 children. Due to the large group of children should sample by sample integrated approach to estimate the optimal form suitable, because the rate of child stunting and overweight and obesity in the population containing the same object of study, should sample has a high number of samples.

* *Stage 1:* selected sample size $p = 0.18$ to achieve proper form is $n = 228$.

Because the sample in terms of sample size the system should be adjusted by multiplying by 3 effective design.

So is the sample size: $228 \times 3 = 648$. The estimated percentage of agreeing to participate in the study was 90%, so the sample size needed is: $648 / 0.9 = 760$.

* *Stage 2:*

All children with reduced bone density and / or children with vitamin D levels reduce the level or levels of vitamin D deficiency as a result the level of phase 1, apply intervention measures by additional calcium and vitamin D 6 months.

2.3 Method of implementation

* *Stage 1: Sampling manner cluster system*

- *Step 1:* The whole city has 177 primary schools and 63 secondary schools (at 2010), select the 4 primary schools and two secondary schools in 240 school facility needs to be examined. There

are 9 grades, each grade level is selected equivalent 760/9 or 85 students per grade, the average class has 28-30 students, so each block select up to 5-6 layers, the number of classes to choose 54 classes.

- *Step 2:* Conduct interviews according to the questionnaire, assessed height, weight, BMI, physical examinations, interviews to collect data of all students in the selected class.

- *Step 3:* Filter the data to classify normal children, child stunting and overweight children, obese

- *Step 4:* Choose the standard children sampled in all research groups: stunting, overweight, obese and control groups: normal children, young procession of Hospital Medicine University of Can Tho to conduct the procedure further tests and bone density measurement.

* *Stage 2: Prophylactic treatment intervention*

For those with reduced bone density compared to age and / or children with reduced levels of vitamin D levels, children lack the vitamin D levels from the results of phase 1 is taking calcium and vitamin D on-demand average children usually corresponds to the age of 6 months, the drug produced by the Hau giang Pharmaceutical Joint Stock company - DHG Pharma.

* *The variables, methods of measuring the value of variables*
- Age, height, weight, BMI, stunting, obesity is excess passive drag by age, gender WHO standards in 2007, by WHO Anthro Plus software.

- Bone density: is assessed by index measured BMD in the forearm bones. Young research team measured bone mineral density, bone forearm in position by means of DEXA machine DXA GE Lunar Prodigy Advance brand, in the Department of functional Exploration, Hospital Medical University of Can Tho.

Unit BMD g / cm², osteoporosis assessment density Z-score index.

$$Z = \frac{i \text{ MDX} - t \text{ MDX}}{\text{SD}}$$

In particular, the bone density iBMD object i, tBMD the average bone density of population of the same age with the audience, and

SD is the standard deviation of the average bone density of population of the same age with the object. If Z-scores $\leq -1SD$ concluded that the object had low bone density, normal $> -1SD$. Children in the study group were taken in the morning venous blood, children have not breakfast, laboratory centrifugal molecular biology department of pathophysiology - immune, Faculty of Medicine, University of Medicine and Pharmacy Tho, separated 500 μ l serum transferred to Health Diagnostic Center City Hoa Hao. Ho Chi Minh (MEDIC) to be tested for vitamin D levels and bone turnover markers.

- Vitamin D concentrations were quantified by means of high pressure liquid chromatography and mass spectroscopy. We accepted the criteria for determining the status of vitamin D in children and adolescents is: when vitamin D levels ≥ 20 ng / mL called enough, when vitamin D levels between 15 and 20ng / mL called missing vitamin D, vitamin D ≤ 15 ng / mL are considered vitamin D reduced

- The concentration of PTH: be quantified by immunological methods electrochemical luminescence (ECLIA) on Roche Elecsys 2010 system normal PTH concentrations of 16-65 pg / ml. PTH < 16 pg/ml called slash and PTH > 65 pg / ml called increased.

- Bone-P1NP marker: quantified using the Roche Elecsys 2010 COBA system. The normal value in the range of 17 to 71ng / ml, called P1NP reduce concentrations < 17 ng / ml.

- B-CTX bone resorption marker: is quantified using the Roche Elecsys 2010 COBA system. From 0.07 to 0.68 normal ng / ml, increasing the concentration called β -CTX > 0.69 ng / ml.

- Assessment of the relationship between vitamin D and bone density, bone turnover markers, and β -CTX P1NP. Correlation is expressed through univariate regression and multivariate regression. The degree of correlation is determined by the absolute value of the coefficient r. Variables evaluated after the intervention, such as height, weight is compared with pre-intervention variables. Variables: bone density, vitamin D levels, P1NP serum, serum CTX-

β , serum PTH, was comparable to the values of the variables before the intervention.

- The drug intervention for 6 months: drug manufactured by the Hau Giang Pharmaceutical Joint Stock Company - DHG Pharma: effervescent tablets Davitabone label content: 300 mg calcium, 200 IU of vitamin D3, ...; Tablets label type Calvit D content: 750 mg of calcium and 60 IU of Vitamin D3.

Due to calcium and vitamin D needs not much difference between the ages, should choose as recommended by the National Institute of Nutrition:

- + Children age 6-9 (elementary school children) will drink with content: 600 mg calcium and 400 IU of Vitamin D3, choose one member to coordinate effervescent drink in the morning and 1 effervescent drink afternoon prior coordination 14 hours.

- + Children from 10 to 14 years old (children of lower secondary level) will drink the equivalent concentration of 1300 mg of calcium and 400 IU of vitamin D3, so in the morning pick effervescent tablets 1 tablet coordination, 1 D and 1 member Calvit coordinate effervescent drink afternoon before 14 hours.

2.2.4. Methods of data collection and evaluation

All children involved in the research are managed in separate dossier. The data is processed using Stata 8.0 software program to calculate predefined statistical characteristics as the arithmetic mean, standard deviation (SD), standard error (SE), rate.

2.3. Research Ethics

Research conducted to ensure compliance with the principles of ethics in medical research: The objects and their families, the school is explained in detail, clear purpose and process research. The subjects were free tests, measuring bone density is very widely used in the world and in the country: painless. Parents agree to commit treatment intervention

Chapter 3

RESULTS

The study was implemented in 794 children with 499 normal, 207 stunted and 88 obese children at the age from 6 to 14 in schools located in Can Tho city from October, 2011 to April, 2015.

3.1 General features

The result: there are 393 boys (49,5%), 401 girls (50,5%) proportion. 207 children have stunting (26,07%), with 72 children overweight and 16 obese children (11,08%), 499 normal children (62,85%).

Table 3.1: Distribution of nutritional status by sex

Nutriton \ Sex	Boys n (%)	Girls n (%)	Total n (%)	χ^2, p
Stunting	81 (20,6)	126 (31,4)	207 (26,1)	$\chi^2=12,0354$ $p < 0,001$
Normal	249 (63,4)	250 (62,3)	499 (62,8)	
Overweight, Obese	63 (16,0)	25 (6,3)	88 (11,1)	
Total	393 (100)	401 (100)	794 (100)	

The rate of stunting is higher in girls. Overweight obese children in boys more than girls.

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

3.2.1 Bone mineral density

Table 3.2: Distribution of bone density with the nutritional status

Nutri \ BMD	Normal		Stunting		Overweight, Obese		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Low	69	13,83	32	15,46	0	0	101	12,72
Normal	430	86,17	175	84,54	88	100	693	87,28
Total	499	100	207	100	88	100	794	100
χ^2, p	$\chi^2=14,77; p=0,001$							

Stunted children has decreased bone density ratio is 15,46% higher, overweight obese children without bone loss.

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	%
Unsufficiency	63	12,63	29	14,01	30	34,09	122	15,4
Deficiency	80	16,03	34	16,43	7	7,95	121	15,2
Adequate	356	71,34	144	69,57	51	57,95	551	69,4
Tổng	499	100	207	100	88	100	749	100
χ^2, p	$\chi^2=28,1628; p<0,0001$							

Groups of children are overweight - obese the rate of vitamin D deficiency highest 34,09%. The group of children with vitamin D levels of 30,6% is not sufficient.

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

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

Children are living in urban have ratio decreased vitamin D children was higher in rural areas.

3.2.3. The bone turnover markers

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

Sex Age	Normal			Stunting			Overweight, Obese		
	Med	Low	Hight	Med	Low	Hight	Med	Low	Hight
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		

PINP concentration increases with age, and 14 years PINP lower back. Stunted children had lower concentrations PINP normal children and overweight children.

Table 3.6: Average concentration PINP by nutritional status

Nutrition PINP	Normal	Stunting	Overweight, Obese
\bar{x} ng/ml	526,7	421,4	508,4
$\pm \sigma$ ng/ml	258,6	246,9	216,6
χ^2, p	$\chi^2=5,0304; p<0,0001$		

PINP average concentrations at higher normal children group of overweight children, obese children and stunting higher.

Table 3.7: Concentration of β -CTX (pg / ml) by age group

Sex Age	Normal			Stunting			Overweight, Obese		
	Med	Low	Hight	Med	Low	Hight	Med	Low	Hight
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		

β -CTX concentration increases with age, and 12 β -CTX peaked and started 13 β -CTX lower back. Stunting children with β -CTX levels lower than normal children and overweight obese children.

Table 3.8: Concentration of β -CTX average by nutritional status

β -CTX Nutrition	Normal	Stunting	Overweight, Obese
\bar{x} pg/ml	1022	838	979
$\pm \sigma$ pg/ml	424	409	396
χ^2, p	$\chi^2=2,0520; p=<0,0001$		

β -CTX concentrations averaged above normal young group of overweight children, obese children and stunting higher.

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

The correlation coefficient $r^2 = 0,0735$ squared, so the regression equation explains the variation of 7,35% bone density. The regression equation correlation between bone density and CTX, VITD, P1NP as follows:

$$\text{BMD} = 0,3581966 - 0,0000125 \times \text{CTX} - 0,0011482 \times \text{Vit D} - 0,0000183 \times \text{P1NP}$$

3.3.2. Changes in bone density after intervention

Table 3.9: Change classification Bone mineral density

Bone mineral density		Before	After
Normal	n	50	135
	%	33,11	89,40
Low	n	101	16
	%	66,89	10,60
Normal	n	151	151
	%	100	100
χ^2, p		$\chi^2 = 5,8307; p < 0,05$	

After the intervention, the rate of children decreased from 66,89% bone density decreased by 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 \pm σ ng/mL)	After (\bar{x} ng/mL \pm σ ng/mL)	Δ (Af-Be) (ng/mL)	T test
Normal (n=87)	26,84 \pm 9,0	35,48 \pm 8,9	8,64	t=-6,3377 p<0,0001
Stunting (n=50)	27,95 \pm 11,7	31,11 \pm 9,9	3,16	t=-4,6865 p<0,0001
Overweight, Obese (n=14)	20,19 \pm 6,8	31,16 \pm 8,6	10,97	t=-3,7463 p<0,001

After intervention, vitamin D levels vary considerably, not young concentration levels of vitamin D deficiency, the ratio of the concentration of vitamin D group fell from 31,79% to 5,3%.

3.3.4. Changing bone turnover markers after intervention

Table 3.11: Change PINP average levels by gender

P1NP	Before (\bar{X} ng/ml $\pm\sigma$ ng/ml)	After (\bar{X} ng/ml $\pm\sigma$ ng/ml)	Δ Af- Be (ng/ml)	T test
Boys (n=64)	462,07 \pm 216,75	352,19 \pm 196,16	-109,85	t= 3,006 p=0,003
Girls (n=87)	441,98 \pm 213	368,58 \pm 131	-73,4	t= 2,731 p=0,007

The average concentration of children P1NP after interference reduction than before the intervention in both groups of boys and girls. Normal children, overweight obese children decreased significantly compared with the group of children stunted.

Table 3.12: Change of β -CTX levels by gender

β-CTX	Before (\bar{X} pg/ml $\pm\sigma$ pg/ml)	After (\bar{X} pg/ml $\pm\sigma$ pg/ml)	Δ Af- Be (pg/ml)	T test
Boys (n=64)	837,67 \pm 341,42	875,81 \pm 368,18	38,14	t=-0,607 p=0,5445
Girls (n=87)	835,15 \pm 333,17	943,47 \pm 262,1	108,32	t=-2,383 p=0,0182

B-CTX concentrations average increase of children after the intervention than before the intervention, girls increased more than boys.

Chapter 4

DISCUSSION

4.1. Demographic characteristics

Our demographic characteristics is also the same as of other domestic researches. Can Tho, a literally centrally directed city, is on the way of development. Care of nutrition here is higher than Quy Nhon, Binh Dinh, Buon Ma Thuot ... but lower than in Hanoi, Ho Chi Minh City, Hai Phong; thus rickettsia status or overweight-obesity in our study also correlates to the nutritional status affected by the economic situation.

4.2. Bone mineral density, vitamin D, the value of some markers of bone turnover in children and the relationship between BMD with vitamin D and markers of bone turnover

4.2.1. Bone density: Low bone density in our study is 12,72%, lower than Chlebna- Sokol D. In our 74 normal children found: 2/74 cases of osteoporosis (2 , 7%), 12/74 cases of low bone density (16,2%), 60/74 cases of healthy. L.Gracia breeder Marco (Spain) found higher bone density of girls of ages from 12,5 to 17,5, the same as of Pairunyar (Thailand) with bone density of girls of 12-16 years old is higher that of boys.

4.2.2 Vitamin D: Our data shows better results compared to that of research on nutritional status of children aged 6 months to 12 years in four Southeast Asian countries from 2010 to 2012. To the domestic researches in recent years, our study says stronger. Hyppönen found exactly as us: The average concentration of 25-OH-D in the serum of boy is higher than that of girls. The rate of vitamin D deficiency is 20% in boys and 46% of adult girls. Although differences of time and locations, but overall average concentration of vitamin D in boys higher than girls. The results are similar to other cohort studies of the parents and children in southwest England in 7560 children with a

mean age of 9,9 years, suggesting that vitamin D deficiency ($<20\text{ng / ml}$) was 29 Parikh% and obese children have a concentration of 25 (OH) D lower than people with normal body weight.

4.2.3. Bone turnover markers.

P1NP level in the Can Tho is the same as of the Finnish authors (Riitta K Tahtela). P1NP in healthy population by age and gender is higher in boys to girls, higher in the younger. Gwang Suk Kim's research told the same record of low bone formation markers in obese children; and M.Bayer impressed the fluctuation of P1NP in the first years of life. Our β -CTX decreases with age same as L.Gracia Marco, β -CTX higher in boys.

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

The average bone density increased post-interventionally. Boys have enhancement of $0,041\text{g / cm}^2$, and $0,023\text{g / cm}^2$ in girls. Authors in 8 researches of 2007-2012 noted that 1 to 3 years of intervention not much helps in bone density unless Marini found a significant increase in bone mineral density (BMD) at the spine and femur.

4.3.2. Changing levels of vitamin D after intervention

The average vitamin D levels increases markedly after intervention. Especially, after the intervention, girls gains much more than that of boys, girls increased up to 15 ng / mL , boys at 7.19 ng / mL . In all groups of children: overweight and obesity get more benefits than rickettsia and normal children.

After 6 months of intervention, bone density and vitamin D levels strengthen as the authors talked by exercise, and calcium supplementation via food, medicine.

4.3.3. Changes of bone turnover markers: P1NP, β -CTX after intervention

P1NP titration decreased after the intervention in both groups of gender. Normal children and children of overweight-obesity significantly reduced compared to group of rickettsia. Solarz and A. Kopec confirmed that: 25 (OH) D, P1NP and CTX in group of professional football players higher in the least active group. B-CTX concentrations of young girls is better than group of boys. Rickettsia gets small profit than children of overweight, obese or healthy.

After 6 months of intervention with calcium and vitamin D, marker P1NP reduced and beta CTX increased from our study is a little bit different than that of Rantalainen: Both beta CTX and P1NP increased after the exercise.

Although the correlation between BMD and markers of bone remodeling has statistical significance, but the value of the markers can not be used to predict the orientation of osteoporosis as an additional risk factor for treatment decisions.

CONCLUSIONS

The study was implemented in 794 children with 499 normal, 207 stunted and 88 obese children at the age from 6 to 14 in schools located in Can Tho city from October, 2011 to April, 2015.

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

- The proportion of the group of children with low bone density was 12,72%. The stunted children had decreased percentage of bone density of 15,46% which was higher than that of normal children. Bone density increased with ages. The bone density of boys was higher than that of girls. In the group of children more than 13 years old, the average bone density of girls was higher than that of boys.

- The boys had concentration of vitamin D higher than the girls. The percentage of children with vitamin D insufficiency and deficiency was 30,6%. This figure was higher in the urban (50%) than in the rural areas (17,8%).

- P1NP concentration increased with ages and decreased when being older than 14. The concentration of CTX beta also increased with ages, then reducing at the age of 13. The average concentration P1NP, CTX beta of the stunted children was less than that of normal children and obese ones.

- PTH concentration also increased with ages and had no difference between groups of children.

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

- There was a weak correlation between vitamin D levels, bone turnover markers and BMD (g / cm²).

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

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

- After intervention, the average bone density increased much more than before. The average one in boys increased to 0,041g/cm², and the corresponding figure in girls climbed to 0,023g /cm². The proportion of children with decreased bone density fell from 66,89% to 10,6%.

- The average vitamin D concentration in children increased significantly after intervention. The corresponding figure increased to 15 ng/mL in girls and to 7,19 ng / mL in boys. The percentage of the group with vitamin D insufficiency levels dropped from 31,79% to

5,3%, while that of the group with normal vitamin D levels climbed from 47,68% to 94,7%.

- The concentration of P1NP in children after intervention reduced significantly compared to before intervention in normal children and obese ones.

- The concentration of β -CTX after intervention in girls was higher than in boys.

RECOMMENDATIONS

Through our research results with a number of recommendations for children aged 6 to 14 years are as follows:

- All children should be checked every 6 months or 12 months: vitamin D levels and bone mineral density for all children: stunting, overweight, obese and normal children.

- Children with vitamin D levels are not adequate and decreased bone density should be applied to the intervention of diet and calcium and vitamin D supplements on the needs of children.

- There should be a national research on vitamin D and bone mineral density in children.