

На правах рукописи

Поваляева Александра Александровна

**ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ВИТАМИНА D
ПРИ БОЛЕЗНИ ИЦЕНКО-КУШИНГА И АКРОМЕГАЛИИ**

3.1.19 – Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Пигарова Екатерина Александровна
доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Астафьева Людмила Игоревна

доктор медицинских наук, профессор кафедры нейрохирургии с курсами
нейронаук научно-образовательного центра Федерального
государственного автономного учреждения «Национальный медицинский
исследовательский центр нейрохирургии имени академика
Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Торопцова Наталья Владимировна

доктор медицинских наук, заведующая лабораторией остеопороза отдела
метаболических заболеваний костей и суставов Федерального
государственного бюджетного научного учреждения "Научно-
исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой"

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования "Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2022 г. в ___ часов на
заседании диссертационного совета 21.1.045.01 при ФГБУ «НМИЦ
эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия
Ульянова, д. 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ
эндокринологии» Минздрава России или на сайте www.endocrincentr.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Мазурина Наталия Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Распространенность недостаточности и дефицита витамина D, предрасполагающих к развитию таких значимых осложнений, как остеопения, остеомалация, мышечная слабость и повышение риска переломов, остается высокой в большинстве регионов мира, в том числе в Российской Федерации [Дедов И.И. и соавт., 2021; Cashman K.D. et al., 2016]. Кроме того, открытие локального синтеза активной формы витамина D, стероидного гормона кальцитриола, в различных тканях организма повлекло за собой интенсивное изучение внескелетных эффектов витамина D и привело к формированию новых взглядов на его физиологическую роль [Rosen C.J. et al, 2012]. В связи с этим остается крайне актуальным вопрос поддержания адекватных уровней витамина D, особенно у лиц с факторами риска тяжелого дефицита. В то же время, достаточный уровень витамина D в настоящее время остается предметом споров в международном сообществе [Giustina A. et al., 2020].

Метаболизм витамина D представляет собой ступенчатый процесс, нарушение которого на каждом из этапов может вести к дезорганизации образования и реализации эффектов активной формы витамина D [Bikle D.D., 2014]. Появление хроматографических методов определения витамина D, в частности, высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС), повлекло за собой открытие более 50 метаболитов витамина D [Tuckey R.C. et al., 2019]. При этом, биологическая роль и клиническая значимость определения большинства из них к настоящему времени не охвачена вниманием исследователей, что представляет собой новый горизонт в изучении патофизиологических процессов, ассоциированных с функцией витамина D.

Несмотря на существенные успехи в лечении акромегалии и эндогенного гиперкортицизма, обусловленные совершенствованием хирургических и медикаментозных методов лечения, обратное развитие костных осложнений этих заболеваний представляет собой сложную и нерешенную проблему. Для пациентов с акромегалией и болезнью Иценко-Кушинга (БИК) характерен высокий риск переломов, что является одной из основных причин инвалидизации [Mazziotti G. et al, 2018; Mazziotti G. et al, 2017]. В клинической практике в данных когортах очень широко используются препараты витамина D, однако сведения о метаболизме витамина D при этих состояниях ограничены, в настоящее время фактически экстраполируются данные, полученные в общей популяции. Углубленное изучение метаболизма витамина D в условиях избыточной гормональной секреции, наблюдаемой при БИК и акромегалии, может

способствовать лучшему пониманию патофизиологических процессов, лежащих в основе костных осложнений, и расширению терапевтических возможностей при указанных нозологиях.

Цель исследования

Выявление отличительных особенностей метаболизма витамина D у пациентов с БИК и акромегалией по сравнению со здоровыми лицами в условиях терапии болюсной дозой колекальциферола, путем динамической оценки спектра циркулирующих метаболитов витамина D, свободного витамина D и основных транспортных белков.

Задачи исследования

1. Сравнить взаимосвязь уровней различных метаболитов витамина D и концентрации паратиреоидного гормона (ПТГ) у здоровых лиц.
2. Оценить динамику метаболитов витамина D у здоровых лиц в условиях однократного приема болюсной дозы колекальциферола.
3. Изучить предиктивную ценность определения уровней метаболитов витамина D при оценке эффективности болюсной дозы колекальциферола у здоровых лиц.
4. Проанализировать особенности метаболизма витамина D в зависимости от степени его достаточности в организме у здоровых лиц.
5. Исследовать параметры метаболизма витамина D у пациентов с акромегалией в базальных условиях и на фоне приема болюсной дозы колекальциферола.
6. Охарактеризовать показатели метаболизма витамина D у пациентов с БИК исходно и на фоне приема болюсной дозы колекальциферола.

Научная новизна

Впервые на российской популяции определена точка подавления избыточной секреции ПТГ для метаболитов витамина D, измеренных методом ВЭЖХ-МС/МС, а также охарактеризован метаболизм витамина D в условиях однократного приема болюсной дозы колекальциферола у здоровых лиц. Впервые выполнено исследование широкого спектра метаболитов и транспортных белков витамина D у пациентов с БИК и акромегалией, в том числе в условиях приема болюсной дозы колекальциферола.

Теоретическая и практическая значимость

Предложены дополнительные биомаркеры для оценки степени достаточности витамина D в организме. На основании определения циркулирующих метаболитов витамина D, свободного витамина D и основных

транспортных белков, описаны отклонения в метаболизме витамина D у пациентов с акромегалией и БИК.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор лично провел анализ состояния научной проблемы в мире на основании литературных данных, сформулировал цель, задачи и дизайн диссертационной работы, принимал непосредственное участие в работе с пациентами и организации проведения лабораторных исследований. Основной объем работы по сбору клинико-анамнестических данных, подготовке базы пациентов, статистической обработке данных и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций и докладов по теме работы выполнен лично автором.

Положения, выносимые на защиту

Определение спектра метаболитов витамина D₃ может использоваться при оценке степени достаточности витамина D в организме у здоровых лиц.

В условиях недостаточного содержания витамина D наблюдается функциональная адаптация его метаболизма, что проявляется в виде повышенной продукции активного метаболита, снижения продукции неактивного метаболита и большей эффективности болюсной дозы колекальциферола по сравнению с лицами с нормальным содержанием витамина D.

Для пациентов с акромегалией и БИК характерна дисрегуляция метаболизма витамина D, ассоциированная с избыточной гормональной секрецией и измененной эффективностью болюсной дозы колекальциферола.

Апробация результатов

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 29.03.2022 на расширенном заседании межотделенческой научной конференции ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Основные результаты диссертационной работы представлены на VII Российском конгрессе по остеопорозу, остеоартриту и другим метаболическим заболеваниям скелета с международным участием (онлайн-формат, 2020 г.), конгрессах Эндокринологического общества (ENDO, онлайн-формат, 2020 г. и 2021 г.), 20-м Всемирном конгрессе по остеопорозу (World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases, онлайн-формат, 2020 г.), ежегодных конгрессах Американского общества изучения костного и минерального метаболизма (American Society for Bone and Mineral Research Annual Meeting, онлайн-формат, 2020 г.; г. Сан-Диего, 2021 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе статьи в центральных, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России медицинских журналах – 2; статьи в журналах, индексируемых в SCOPUS – 4 (в том числе в журнале первого квартиля – 1, в журнале второго квартиля – 1); тезисы, опубликованные за рубежом – 7; тезисы, опубликованные в сборниках российских конференций – 1.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 139 страницах, состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, описание материалов и методов проведения исследования, собственные результаты и их обсуждение, заключение), выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Библиография включает 246 источников (из них 19 отечественных и 227 зарубежных). Работа иллюстрирована 20 рисунками и 24 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В соответствии с поставленными целями и задачами, для решения задачи 1 проведено одноцентровое одномоментное исследование, включившее здоровых добровольцев (всего 130 человек). Для решения задач 2–6 проведено одноцентровое проспективное интервенционное исследование, в рамках решения задач 4–6 исследование являлось сравнительным. При решении задачи 4 из числа здоровых добровольцев были сформированы группы с исходным выраженным дефицитом витамина D и нормальными исходными значениями. Для решения задач 5 и 6 было включено 34 пациента с акромегалией и 30 пациентов с БИК, а в соответствующие группы контроля – по 30 лиц из группы здоровых добровольцев, подобранных соответственно возрасту, полу и ИМТ.

Набор пациентов и сбор образцов биологического материала проводился на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, в отделении нейроэндокринологии и остеопатий (зав. отделением – д.м.н. Ж.Е. Белая). Набор здоровых добровольцев проводился из числа сотрудников и обучающихся ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

В ходе проспективной части исследования все участники приняли однократно 150 000 МЕ колекальциферола перорально в форме водного раствора (Аквадетрим®, Medana Pharma S.A., Польша). Забор образцов сыворотки крови и разовой порции мочи для выполнения лабораторных исследований проводился перед принятием однократной болюсной дозы колекальциферола, а также на 1, 3

и 7 день после приема. В ходе проспективного наблюдения по организационным причинам не смогли явиться на один или несколько визитов для забора образцов биологического материала 8 лиц из числа здоровых добровольцев и 4 пациента с акромегалией. На рисунке 1 схематично изображен дизайн работы.

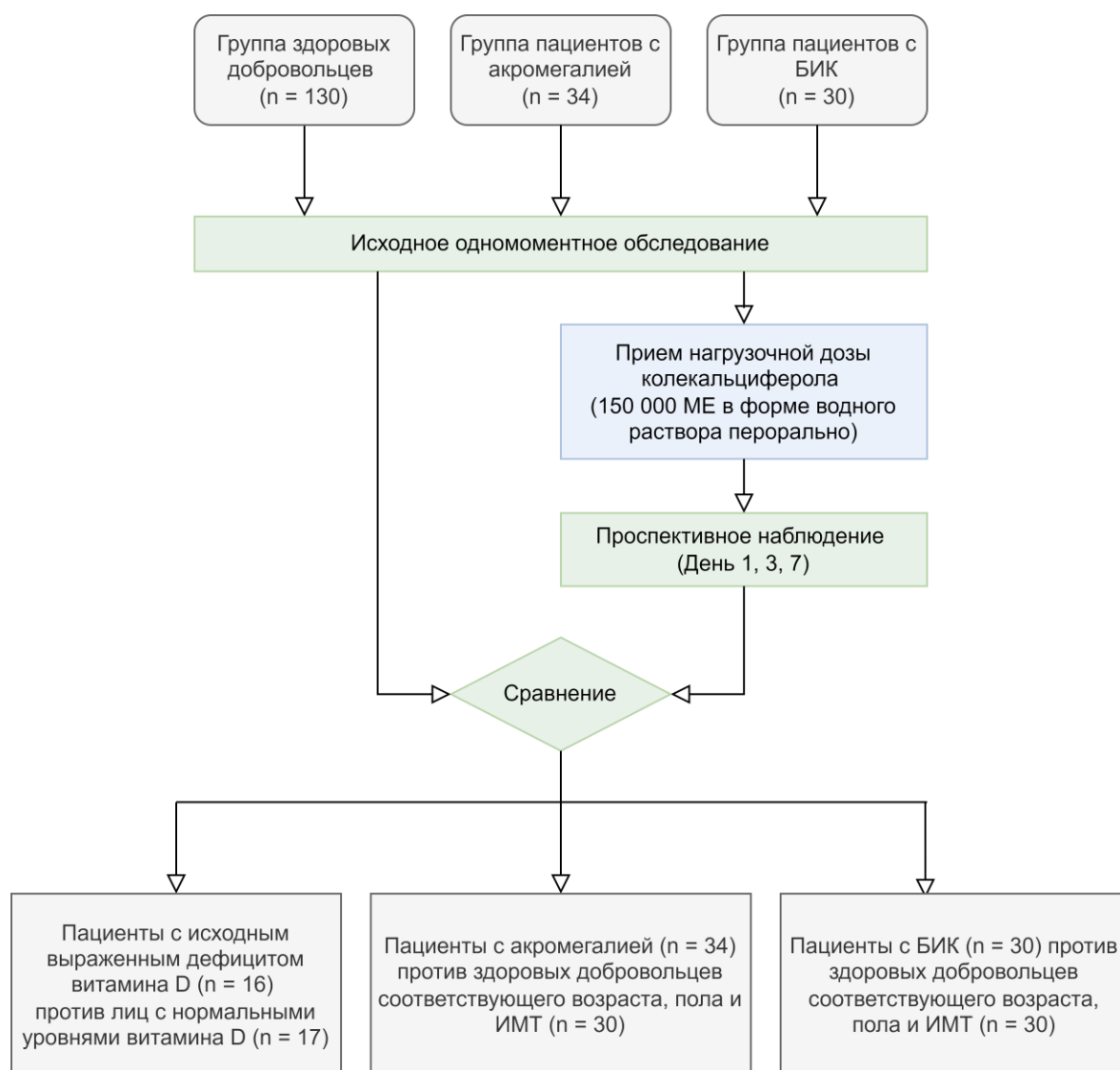


Рисунок 1. Дизайн исследования. БИК – болезнь Иценко-Кушинга, ИМТ – индекс массы тела

Критерии включения

Пациенты с акромегалией: возраст от 18 лет включительно до 60 лет; активная фаза акромегалии, подтвержденная в соответствии с федеральными клиническими рекомендациями [Дедов И.И. и соавт., 2013]: характерные клинические проявления, повышение инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) согласно возрастному референсному интервалу (РИ) и отсутствие подавления секреции соматотропного гормона (СТГ) менее 1,0 нг/мл в ходе перорального глюкозотолератного теста. Способ формирования выборки пациентов с акромегалией – сплошной. Период набора: май 2019 г. – июнь 2020 г.

Пациенты с БИК: возраст от 18 лет включительно до 60 лет; активная фаза БИК, подтвержденная в соответствии с федеральными клиническими рекомендациями [Мельниченко Г.А. и соавт., 2015]. У всех включенных пациентов было подтверждено наличие эндогенного гиперкортицизма как минимум двумя тестами: превышение верхней границы РИ для свободного кортизола в суточной моче и/или кортизола в слюне в 23:00 и/или отрицательный ночной подавляющий тест с 1 мг дексаметазона. Диагноз БИК устанавливался на основании утреннего уровня адренокортикотропного гормона (АКТГ) ≥ 10 пг/мл, а также визуализированной аденомы гипофиза размером ≥ 6 мм при магнитно-резонансной томографии или положительного результата селективного забора крови из нижних каменистых синусов. Способ формирования выборки пациентов с БИК – сплошной. Период набора: май 2019 г. – апрель 2021 г.

Здоровые добровольцы: возраст от 18 лет включительно до 60 лет; отсутствие клинических проявлений эндокринных заболеваний. Способ формирования выборки здоровых добровольцев – произвольный. Период набора: май 2019 г. – апрель 2021 г.

Критерии исключения

Прием препаратов витамина D в течение трех месяцев, предшествующих участию в исследовании; выраженное ожирение (ИМТ более 35 кг/м^2); беременность и период грудного вскармливания; наличие в анамнезе гранулематозного заболевания, хронической печеночной недостаточности, синдрома мальабсорции; снижение функции почек (рСКФ по EPI менее $60 \text{ мл/мин/1,73 м}^2$); выраженная гиперкальциемия (концентрация общего кальция сыворотки крови более $3,0 \text{ ммоль/л}$); аллергическая реакция на препараты витамина D в анамнезе; уровень общего 25(OH)D (определенного методом иммунохемилюминесцентного анализа при исходном обследовании) более 60 нг/мл .

Клиническое обследование

Все участники осматривались врачом-исследователем для оценки соответствия критериям включения и выявления возможного попадания под критерии исключения. Схема первичного обследования включала сбор жалоб, анамнеза, измерения антропометрических параметров.

В рамках сбора анамнеза уточнялось наличие хронических заболеваний, переломов, прием лекарственных препаратов и биодобавок, гинекологический анамнез у женщин, а также проводилась характеристика образа жизни: наличие вредных привычек (курение, количество употребляемого алкоголя в неделю), уровень физической активности (количество физических упражнений продолжительностью более 30 минут в неделю; в качестве примеров указывались зарядка, ходьба, бег, работа по дому), сбалансированность питания (количество

употребляемых порций молочных продуктов в день, количество употребляемых порций мясных блюд в неделю, количество употребляемых чашек кофе в неделю, употребление газированных напитков (мл в неделю)), уровень воздействия ультрафиолетового излучения (использование солнцезащитного крема, посещение солярия, путешествие на юг и количество дневных прогулок (пребывание на улице в период с 10:00 по 15:00) в солнечную погоду за 3 месяца, предшествующих участию в исследовании). Статус курения классифицировался как курильщик в настоящее время, бывший курильщик и некурящий; текущие и бывшие курильщики совместно обозначались как общее количество курильщиков. Единица алкоголя была определена как бокал вина, бутылка пива или рюмка крепких спиртных напитков, что эквивалентно 10–12 г этанола. Порция молочных продуктов определялась как 100 г творога, 200 мл молока, 125 г йогурта или 30 г сыра.

Лабораторные методы исследования

Забор крови из периферической вены выполнялся утром натощак в промежуток 8:00–10:00. Образцы подвергались центрифугированию (лабораторная центрифуга Eppendorf 5810R с комплектом роторов А-4-81, Ф-4-81-MTP/Flex, FA45-30-11 и F-45-48-PCR) при температуре 5°C и скорости вращения 3000 оборотов/мин в течение 20 минут. Образцы сыворотки (3 аликвоты), полученные на каждом визите, либо передавались непосредственно в лабораторию для выполнения биохимических анализов и измерения ПТГ или общего 25(ОН)D (1 аликвота), либо направлялись на хранение при температуре -80°C без циклов повторного замораживания-размораживания для последующего измерения витамин D-связывающего белка (DBP), свободного 25(ОН)D и метаболитов витамина D (2 аликвоты).

Гормональные и биохимические исследования проводились в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.м.н. Л.В. Никанкина). Поправка концентрации кальция в сыворотке на альбумин выполнялась по формуле: общий кальций сыворотки (ммоль/л) = измеренный общий кальций сыворотки (ммоль/л) + 0,02 × (40 – измеренный альбумин сыворотки (г/л)) [Thode J. et al., 1989].

Концентрации метаболитов витамина D₃ (25(ОН)D₃, 3-epi-25(ОН)D₃, 24,25(ОН)₂D₃ и 1,25(ОН)₂D₃), а также 25-гидроксивитамина D₂ (25(ОН)D₂) в сыворотке крови были определены в лаборатории метаболомных исследований ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.х.н. В.А. Иоутси) с помощью ВЭЖХ-МС/МС; отдельные РИ для 25(ОН)D₃ и 25(ОН)D₂ не разработаны, РИ для суммы показателей ≥30 нг/мл определен на основе клинических рекомендаций Российской ассоциации эндокринологов и Endocrine Society [Пигарова Е.А. и соавт., 2016; Holick M.F. et al., 2011]; РИ для 3-epi-

25(OH)D₃ не разработан, РИ для 1,25(OH)₂D₃ равен 25-66 пг/мл, РИ для 24,25(OH)₂D₃ равен 0,5–5,6 нг/мл; также для косвенной оценки активности ферментов, осуществляющих метаболизм витамина D, рассчитаны соотношения 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ (РИ 7–23) и 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ (РИ не разработан). Метод определения метаболитов витамина D был разработан и валидирован в лаборатории метаболомных исследований ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России и состоит в следующем: 50 микролитров сыворотки дейтерированных внутренних стандартов (25(OH)D₃-d₆, 1,25(OH)₂D₃-d₆, 3-epi-25(OH)D₃-d₃, 24,25(OH)₂D₃-d₆) были добавлены к 300 микролитрам сыворотки, после чего смесь была перемешана и выдержана при комнатной температуре в течение 20 минут. Осаждение белковой фракции было произведено добавлением 150 микролитров 0,05 молярного раствора сульфата цинка и 500 микролитров метанола, после чего раствор был перемешан и центрифугирован при 14000 оборотах в минуту в течение 15 минут. Надосадочная жидкость была нанесена на картридж для твердофазной экстракции Agilent Bond Elut C18 (50 мг, 1 мл), предварительно последовательно обработанные с помощью 1 миллилитра метанола и 1 миллилитра воды. Промывка картриджей была произведена последовательным добавлением 1 миллилитра воды и 1 миллилитра смеси метанола и воды в отношении 3:7. Элюирование было произведено двумя добавлениями 300 микролитров метанола. Далее элюат был высушен с помощью вакуумной центрифуги. Сухой остаток был дериватизирован с помощью 30 микролитров раствора РТАД (4-фенил-1,2,4-триазаолин-3,5-диона) концентрации 0,5 мг/мл в ацетонитриле. Реакция дериватизации была остановлена через 30 минут добавлением 90 микролитров смеси метанола и воды в соотношении 1:2 по объему. 40 микролитров полученного раствора были введены в хромато-масс-спектрометр (Agilent 1290 Infinity II + AB Sciex Triple Quad 5500), и подвержены хроматографическому разделению на колонке Waters Acquity UPLC HSS T3 column (2,1 x 100 мм, размер частиц 1,8 мкм) с дальнейшим детектированием в режиме регистрации множественных реакций. Начальные условия хроматографического разделения 37% ацетонитрил (растворитель А), 13% метанол (растворитель В) и 50% 0,1% раствор муравьиной кислоты в воде (растворитель С). Градиентная программа: 0 – 13 мин 37% А, 13% В, 50% С; 16 – 18 мин 20% А, 20% В, 60% С; 18 – 20 мин 100% В; 20 – 23 мин 37% А, 13% В, 50% С.

Разработанный метод успешно проходил внешний международный контроль качества The Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS) для метаболитов 25(OH)D ($\pm 25\%$ от целевого значения) и 1,25(OH)₂D ($\pm 30\%$ от целевого значения) в сыворотке крови человека с августа 2020 г.; все измерения указанным методом были выполнены после первого успешного прохождения

контроля (5/5 образцов в пределах целевого диапазона) для обоих аналитов одновременно.

Сывороточные уровни DBP (ПИ 176–623 мг/л) и свободного 25(OH)D (ПИ 2,4–35 пг/мл) измерены методом иммуноферментного анализа в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.м.н. Л.В. Никанкина) с использованием коммерческих наборов (Assaypro, США и DAsource, ImmunoAssays S.A., Бельгия соответственно).

Исходный уровень свободного 25(OH)D также оценен расчетным способом с использованием формулы, предложенной Bikle и соавт. [Bikle D.D. et al., 1985; Bikle D.D. et al., 1986]. При расчете принималось значение константы аффинности 25(OH)D к альбумину (Kalb), равное $6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, и значение константы аффинности 25(OH)D к DBP (KDBP), равное $7 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$.

$$\text{Свободный 25(OH)D} = \frac{\text{общий 25(OH)D}}{1 + \text{Kalb} \cdot \text{альбумин} + \text{KDBP} \cdot \text{DBP}}$$

Статистический анализ

Статистический анализ данных выполнен с применением программного пакета Statistica, версия 13.3 (StatSoft, США). Для анализа распределения использованы критерии Shapiro-Wilk и Kolmogorov-Smirnov. Распределения количественных признаков представлены медианами и интерквартильными размахами Me [Q1; Q3], а также, в ряде случаев, минимальным и максимальным значением (Min–Max). Качественные данные представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. Для межгрупповых сравнений по количественным признакам применён критерий Mann-Whitney, для межгрупповых сравнений по качественным признакам использован двухсторонний точный критерий Fisher. Для оценки наличия взаимосвязи между признаками применен метод ранговой корреляции по Spearman. Для определения вида взаимосвязи между показателями выполнен линейный регрессионный анализ, а также нелинейный регрессионный анализ методом наименьших квадратов с использованием алгоритма Левенберга-Марквардта. Динамика изменения показателей в группах оценена с применением рангового дисперсионного анализа по Friedman; при наличии значимых различий вторым этапом выполнено попарное сравнение с применением критерия Wilcoxon. Имеющиеся пропуски в данных не заполнялись, с целью избежать статистического смещения результатов. Для устранения эффекта множественных сравнений применялась поправка Бонферрони. Различия считали значимыми при значениях p менее 0,05. При применении поправки на множественные сравнения, значения p более чем порог статистической значимости, но менее 0,05 рассматривались как тенденция к статистической значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

Характеристика метаболизма витамина D среди здоровых добровольцев

Всего было обследовано 130 здоровых добровольцев, в большинстве своем молодых людей без избыточной массы тела, значимой сопутствующей патологии и вредных привычек (табл. 1).

Таблица 1. Клиническая характеристика здоровых добровольцев (n = 130).

Параметр	Значение
Возраст, лет	25,5 [24,6; 28,8]
Пол, ж(%):м(%)	98(75%):32(25%)
ИМТ, кг/м ²	21,7 [19,6; 24,7]
Курильщики в настоящее время, n (%)	25 (19%)
Употребление алкоголя, единиц в неделю	0,75 [0; 1]
Упражнения продолжительностью более 30 мин, в неделю	3 [2; 5]
Употребление молочных продуктов, порций в день	1 [1; 2]
Употребление мясных продуктов, порций в неделю	5 [3; 6,5]
Употребление кофе, чашек в неделю	5 [2; 10]
Употребление газированных напитков, мл в неделю	0 [0; 200]
Путешествие на юг, n (%)	25 (19%)
Прогулки в дневное время в солнечную погоду, n	7 [2; 18]
Использование солярия, n (%)	5 (4%)
Использование солнцезащитного крема, n (%)	49 (38%)

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3], качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. ИМТ – индекс массы тела.

У 12 участников (9%) по результатам исходного обследования был диагностирован вторичный гиперпаратиреоз, в остальном клинически значимых отклонений биохимических показателей и концентраций ПТГ выявлено не было (табл. 2).

Таблица 2. Результаты исходного биохимического обследования и определения уровней ПТГ здоровых добровольцев (n = 130).

Показатель	Значение
Кальций общий, ммоль/л	2,39 [2,34; 2,46]
Кальций альбумин-скорректированный, ммоль/л	2,26 [2,21; 2,30]
Фосфор, ммоль/л	1,14 [1,05; 1,26]
ПТГ, пг/мл	36,0 [27,4; 44,2]

Креатинин, мкмоль/л	69,9 [65,8; 74,6]
Альбумин, г/л	47 [45; 48]
Магний, ммоль/л	0,81 [0,77; 0,84]
Кальций-креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	0,27 [0,11; 0,42]
Фосфор-креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	1,83 [1,27; 2,62]

Примечания: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. ПТГ – паратиреоидный гормон.

Медиана 25(ОН)D₃ составила 20,3 [12,5; 26,9] нг/мл. При проведении простого регрессионного анализа не было выявлено зависимости исходного уровня 25(ОН)D₃ от возраста, пола и ИМТ. Сильная линейная связь с 25(ОН)D₃ обнаружена для 3-epi-25(ОН)D₃ ($r^2 = 0,75$, $p < 0,001$), 24,25(ОН)₂D₃ ($r^2 = 0,84$, $p < 0,001$) и свободного 25(ОН)D ($r^2 = 0,72$, $p < 0,001$), а также, несколько менее сильная – для соотношения 25(ОН)D₃/1,25(ОН)₂D₃ ($r^2 = 0,56$, $p < 0,001$). Для соотношения 25(ОН)D₃/24,25(ОН)₂D₃ наблюдалась слабая линейная взаимосвязь ($r^2 = 0,23$, $p < 0,001$), а для 1,25(ОН)₂D₃ и DBP не было выявлено взаимосвязи (табл. 3).

Таблица 3. Взаимосвязь возраста, пола, ИМТ и оцениваемых параметров метаболизма витамина D с исходными значениями 25(ОН)D₃ среди здоровых добровольцев (n = 130).

Показатель	Значение	β	P
Возраст, лет	25,5 [24,6; 28,8]	-0,04	0,718
Пол, ж(%):м(%)	98(75%):32(25%)	0,02	0,840
ИМТ, кг/м ²	21,7 [19,6; 24,7]	0,01	0,961
3-epi-25(ОН)D ₃ , нг/мл	1,2 [0,7; 1,7]	0,87	<0,001
1,25(ОН) ₂ D ₃ , пг/мл	41 [36; 47]	0,16	0,066
24,25(ОН) ₂ D ₃ , нг/мл	1,6 [0,8; 2,4]	0,91	<0,001
25(ОН)D ₃ /24,25(ОН) ₂ D ₃	13,4 [10,9; 16,7]	-0,49	<0,001
25(ОН)D ₃ /1,25(ОН) ₂ D ₃	482 [312; 639]	0,75	<0,001
Свободный 25(ОН)D, пг/мл	6,2 [4,2; 7,7]	0,85	<0,001
DBP, мг/л	482 [312; 639]	0,08	0,356

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3], качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. Применен простой линейный регрессионный анализ, приведены значения стандартизированных регрессионных коэффициентов (β). ИМТ – индекс массы тела; DBP – витамин D-связывающий белок.

Расчетные уровни 24,25(ОН)₂D₃ ниже РИ наблюдались при значениях 25(ОН)D₃ менее 10,4 нг/мл, а расчетные уровни свободного 25(ОН)D ниже РИ – при значениях 25(ОН)D₃ менее 6,2 нг/мл (рис. 2).

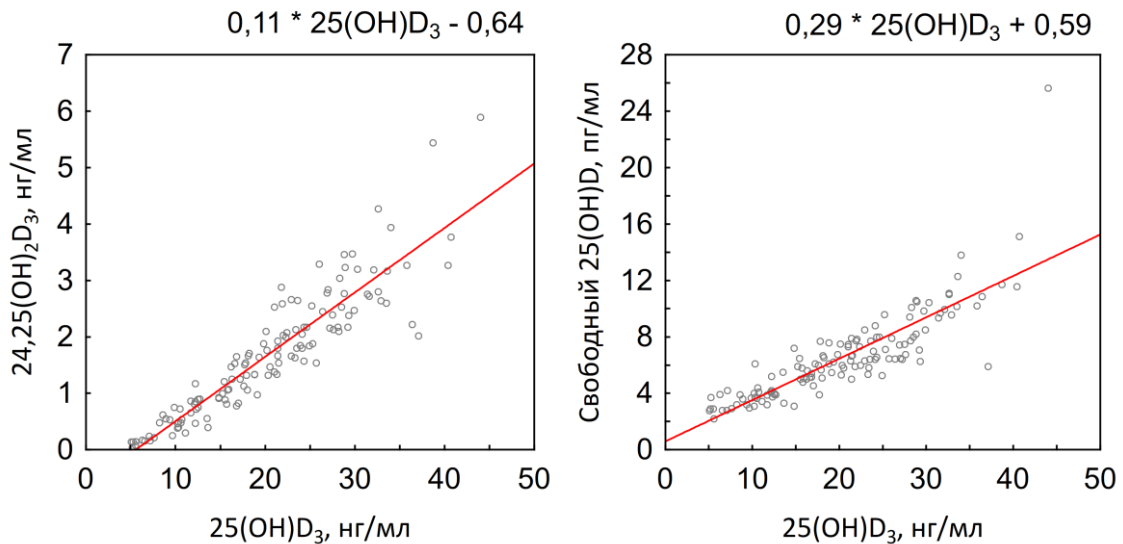


Рисунок 2. Графики зависимости уровней $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и свободного $25(\text{OH})\text{D}$ от концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ среди здоровых добровольцев ($n = 130$). Линейная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * x + b$; $y - 24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (слева), свободный $25(\text{OH})\text{D}$ (справа), $x - 25(\text{OH})\text{D}_3$

$24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в сопоставимой с $25(\text{OH})\text{D}_3$ степени описывал вариацию концентраций ПТГ у обследованных лиц ($r^2 = 0,20$, $p < 0,001$ против $r^2 = 0,16$, $p < 0,001$) (рис. 3).

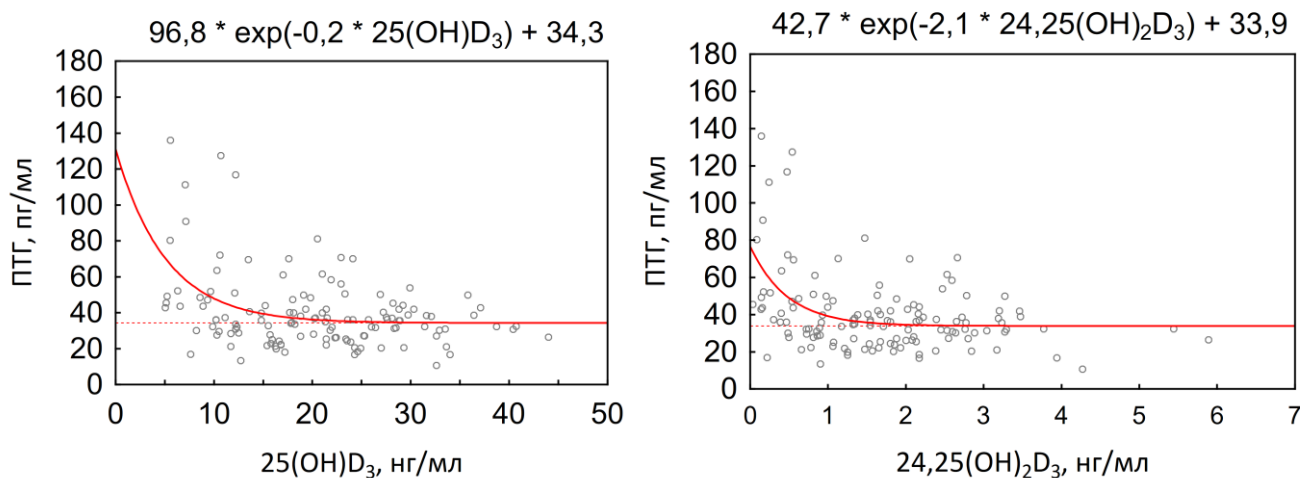


Рисунок 3. Графики зависимости концентрации ПТГ от уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ среди здоровых добровольцев ($n = 130$). ПТГ – паратиреоидный гормон. Экспоненциальная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * \exp(b * x) + c$; $y - \text{ПТГ}$, $x - 25(\text{OH})\text{D}_3$ (слева), $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (справа)

Концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, соответствующие точке «выхода на плато» концентрации ПТГ, определялись исходя из полученного уравнения, описывающего зависимость показателей, а также погрешности измерения концентрации ПТГ. За максимальное допустимое значение ПТГ принималось значение, равное константе полученной функции (34,3 пг/мл для $25(\text{OH})\text{D}_3$ и 33,9 пг/мл для $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) + 2 средних квадратических отклонения концентрации

ПТГ при ее измерении в физиологических концентрациях (0,8 пг/мл, согласно инструкции к используемому набору для определения ПТГ). Таким образом, отрезная точка подавления избыточной секреции ПТГ для 25(OH)D₃ составила 20,5 нг/мл, а при проведении аналогичного расчета для 24,25(OH)₂D₃ – соответственно 1,6 нг/мл.

После приема колекальциферола мы наблюдали рост концентрации основного циркулирующего метаболита (25(OH)D₃) на протяжении всего периода наблюдения ($p < 0,001$). Уровни 1,25(OH)₂D₃ значимо повысились к первому дню наблюдения ($p_{0-1} < 0,001$), после чего сохранялись стабильными, тогда как концентрация 24,25(OH)₂D₃ продолжала увеличиваться на протяжении периода наблюдения ($p < 0,001$) (рис. 4).

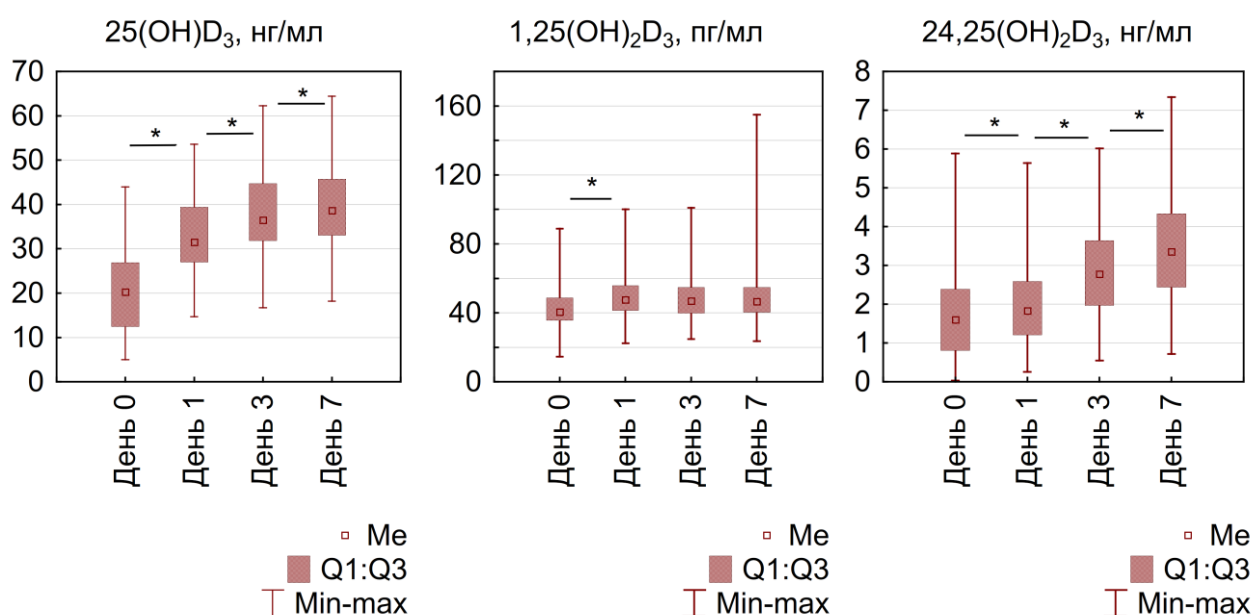


Рисунок 4. Динамика изменения основных метаболитов витамина D (25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ и 24,25(OH)₂D₃) среди здоровых добровольцев на протяжении периода наблюдения (n_{День 0} = 130, n_{День 1} = 129, n_{День 3} = 123, n_{День 7} = 122). * - значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

Чтобы оценить предсказательную способность исследуемых метаболитов витамина D, а также ИМТ и возраста в отношении оценки эффективности терапии колекальциферолом, мы выполнили регрессионный анализ, результаты которого представлены в Таблице 4.

Таблица 4. Взаимосвязь ИМТ, возраста и исходных значений оцениваемых параметров метаболизма витамина D с концентрацией 25(OH)D₃ на 7-й день исследования и приростом 25(OH)D₃ к 7-му дню исследования среди здоровых добровольцев (n = 122).

Показатель	25(OH)D ₃ , нг/мл (День 7)		Δ25(OH)D ₃ , нг/мл	
	β	P	β	P
ИМТ, кг/м ²	-0,26	0,004	-0,31	<0,001
Возраст, лет	-0,2	0,031	-0,21	0,022
25(OH)D ₃ , нг/мл	0,74	<0,001	-0,31	<0,001
3-epi-25(OH)D ₃ , нг/мл	0,6	<0,001	-0,32	<0,001
1,25(OH) ₂ D ₃ , пг/мл	0,25	0,006	0,09	0,358
24,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	0,65	<0,001	-0,3	<0,001
25(OH)D ₃ /24,25(OH) ₂ D ₃	-0,3	<0,001	0,23	0,012
25(OH)D ₃ /1,25(OH) ₂ D ₃	0,49	<0,001	-0,18	0,045
Свободный 25(OH)D, пг/мл	0,59	<0,001	-0,28	0,002

Примечания: Применен простой линейный регрессионный анализ, приведены значения стандартизованных регрессионных коэффициентов (β). Δ25(OH)D₃ – прирост сывороточного уровня 25(OH)D₃ к 7-му дню исследования; ИМТ – индекс массы тела.

В однофакторном анализе большинство из исследуемых метаболитов, а также ИМТ и возраст продемонстрировали значимую линейную взаимосвязь как с концентрацией 25(OH)D₃ на 7-й день исследования, так и с приростом 25(OH)D₃ к 7-му дню исследования, однако, ни для одного из показателей коэффициент детерминации не превышал таковой для исходного значения 25(OH)D₃ ($r^2 = 0,55$ и $0,09$ соответственно, модели представлены на рисунке 5).

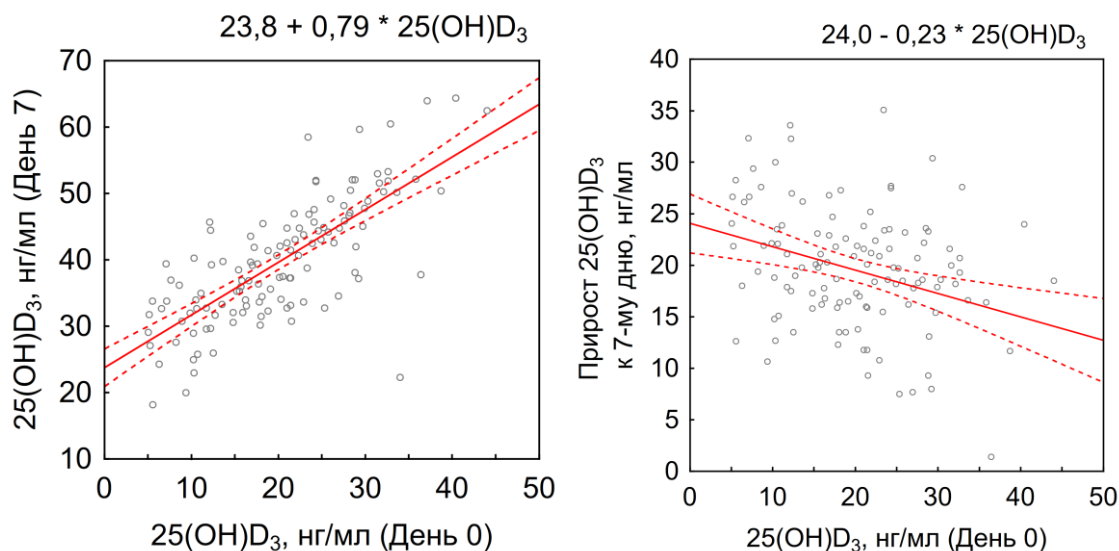


Рисунок 5. Зависимость концентрации 25(OH)D₃ на 7-й день наблюдения и прироста 25(OH)D₃ к 7-му дню наблюдения от исходной концентрации 25(OH)D₃ среди здоровых добровольцев (n = 122). Линейная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * x + b$; y – 25(OH)D₃ (день 7) (слева), прирост 25(OH)D₃ к 7-му дню (справа), x – 25(OH)D₃ (день 0)

Включение параметров, продемонстрировавших значимую взаимосвязь в однофакторном анализе, в модель при проведении многофакторного анализа также не привело к значимому улучшению по сравнению моделью на основе исходного значения 25(OH)D₃: для концентрации 25(OH)D₃ на 7-й день исследования $R^2 = 0,59$, $p < 0,001$; для $\Delta 25(OH)D_3$ $R^2 = 0,16$, $p < 0,001$; наблюдаемое небольшое увеличение коэффициента детерминации было достигнуто за счет включения в модель ИМТ ($\beta = -0,19$, $p = 0,005$ для концентрации 25(OH)D₃ на 7-й день исследования и $\beta = -0,26$, $p = 0,006$ для $\Delta 25(OH)D_3$).

Исследование метаболизма витамина D при его дефиците среди здоровых добровольцев

Для оценки особенностей метаболизма витамина D в условиях его дефицита выделены когорты здоровых добровольцев с исходными уровнями витамина D менее 10 нг/мл ($n=16$) и ≥ 30 нг/мл ($n=17$), что по рекомендациям Российской ассоциации эндокринологов расценивается как выраженный дефицит витамина D и нормальные (целевые) уровни витамина D соответственно [Пигарова Е.А. и соавт., 2016]. Половозрастная структура групп и ИМТ были сопоставимы между собой (табл. 5).

Таблица 5. Общая характеристика пациентов с исходным выраженным дефицитом витамина D и его нормальными значениями на исходных визитах.

Параметр	Выраженный дефицит (25(OH)D <10 нг/мл) (n=16)	Норма (25(OH)D ≥ 30 нг/мл) (n=17)	P
Возраст, лет	25,3 [24,9; 26,4]	24,9 [24,4; 28,7]	0,382
Пол, ж(%):м(%)	14(88%):2(12%)	12(71%):5(29%)	0,398
ИМТ, кг/м ²	19,9 [19,0; 22,0]	22,3 [20,1; 23,5]	0,157

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3], качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. ИМТ – индекс массы тела.

Пациенты с выраженным дефицитом витамина D характеризовались более высокими исходными уровнями ПТГ (48,0 [43,3; 66,3] против 32,3 [27,1; 38,6] пг/мл, $p < 0,001$) и не имели значимых отличий по оцениваемым биохимическим показателям крови и мочи в сравнении с пациентами, имеющими нормальные исходные уровни витамина D. В группе выраженного дефицита витамина D наблюдались также более низкие исходные уровни основных исследуемых метаболитов витамина D – 3-epi-25(OH)D₃ (0,3 [0,3; 0,5] против 2,4 [1,8; 2,6] нг/мл, $p < 0,001$), 1,25(OH)₂D₃ (36 [31; 40] против 41 [38; 53] пг/мл, $p = 0,041$) и 24,25(OH)₂D₃ (0,2 [0,1; 0,5] против 3,2 [2,7; 3,8] нг/мл, $p < 0,001$), а также более низкие уровни свободного 25(OH)D (3,1 [2,8; 3,7] против 10,9 [9,9; 11,7] пг/мл, p

$<0,001$), тогда как уровни DBP значимо не различались между группами. При этом, соотношение $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ было более высоким (36,6 [17,3; 40,8] против 10,9 [9,5; 12,4], $p < 0,001$), что соответствовало снижению активности 24-гидроксилазы, тогда как соотношение $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ было ниже, чем среди лиц с нормальными уровнями витамина D (201 [144; 272] против 816 [667; 956], $p < 0,001$), и указывало на более высокую продукцию активного метаболита витамина D – $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

После приема колекальциферола уровни $25(\text{OH})\text{D}_3$ увеличивались в обеих группах преимущественно до 3-го дня наблюдения ($p_{0-3} < 0,001$ в обеих группах), после чего находились на плато ($p_{3-7} = 0,009$ и $0,300$ среди лиц с исходным дефицитом и нормальными значениями витамина D соответственно) (рис. 6); уровни $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ увеличивались на протяжении всего периода наблюдения в группе дефицита и до 3-го дня в группе нормальных значений ($p < 0,001$); уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в группе дефицита значимо увеличились к 1-му дню ($p_{0-1} < 0,001$), после чего сохранялись стабильными, тогда как в группе нормальных значений уровни не изменялись на протяжении периода наблюдения (рис. 7). Абсолютный прирост $25(\text{OH})\text{D}_3$ за период наблюдения был больше в группе исходного выраженного дефицита витамина D (24,1 [19,4; 27,6] против 18,6 [16,4; 20,7] нг/мл, $p = 0,010$).

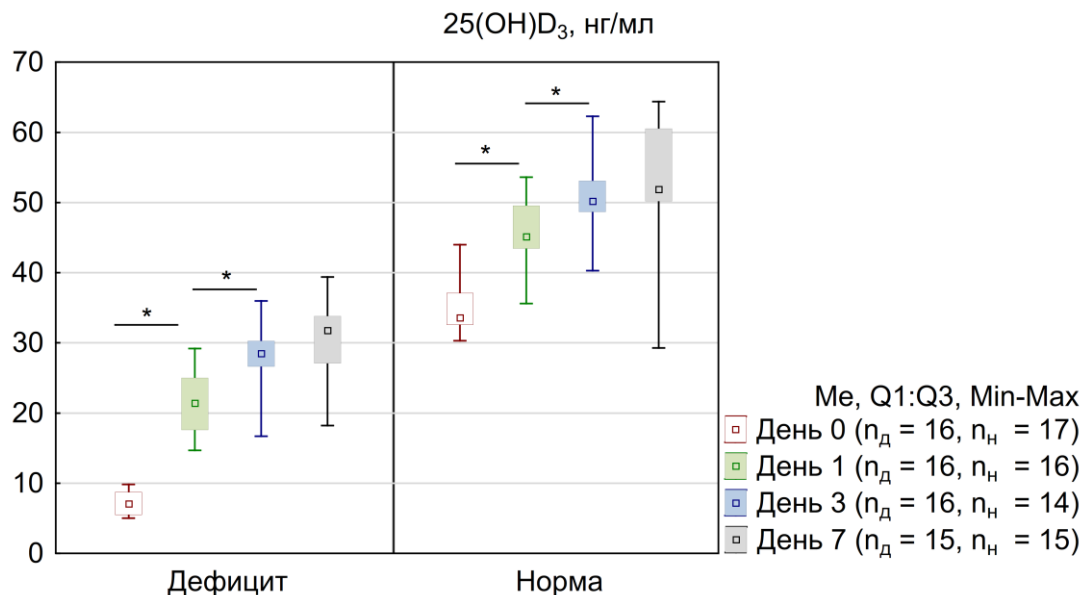


Рисунок 6. Динамика изменения концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ среди здоровых добровольцев с исходным выраженным дефицитом витамина D и целевыми значениями на протяжении периода наблюдения. n_d – количество обследованных лиц с исходным выраженным дефицитом витамина D; n_n – количество обследованных лиц с исходными целевыми значениями; * - значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

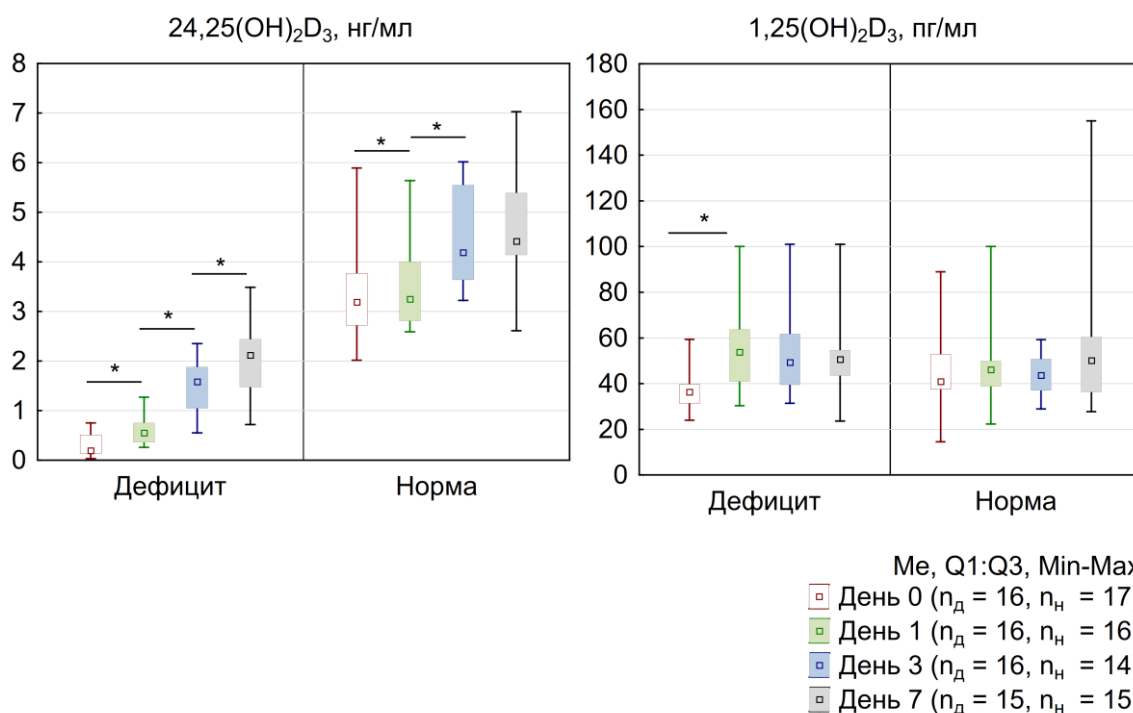


Рисунок 7. Динамика изменения концентраций $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ среди здоровых добровольцев с исходным выраженным дефицитом витамина D и целевыми значениями на протяжении периода наблюдения. n_d – количество обследованных лиц с исходным выраженным дефицитом витамина D; n_n – количество обследованных лиц с исходными целевыми значениями; * - значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

Оценка метаболизма витамина D у пациентов с акромегалией

В анализ вошли 34 пациента с акромегалией и 30 здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту, полу и ИМТ, составивших группу контроля (табл. 6).

Таблица 6. Общая характеристика пациентов с акромегалией и группы контроля на исходном визите.

Параметр	Акромегалия ($n=34$)	Контрольная группа ($n=30$)	P
Возраст, лет	39,2 [33,3; 48,7]	33,4 [26,5; 42,5]	0,124
Пол, ж(%):м(%)	20(59%)/14(41%)	19(63%)/11(37%)	0,800
ИМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$	27,5 [24,8; 29,5]	27,2 [25,4; 30,4]	0,693
Общий $25(\text{OH})\text{D}$, нг/мл	13,5 [9,8; 20,5]	21,7 [14,4; 28,0]	0,008

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3], качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. ИМТ – индекс массы тела.

У пациентов с акромегалией выявлены более высокие исходные уровни кальция, как общего (2,46 [2,38; 2,52] против 2,37 [2,31; 2,43] ммоль/л, $p = 0,004$), так и альбумин-скорректированного (2,32 [2,28; 2,41] против 2,25 [2,21; 2,31] ммоль/л, $p < 0,001$), а также фосфора в сыворотке крови (1,39 [1,27; 1,58] против

1,10 [1,00; 1,22] ммоль/л, $p < 0,001$). В группе акромегалии также наблюдалась тенденция к более низким исходным уровням $25(\text{OH})\text{D}_3$ (14,8 [11,9; 20,5] против 19,5 [12,5; 25,7] нг/мл, $p = 0,055$) с сопутствующими более низкими уровнями свободного $25(\text{OH})\text{D}$ (4,5 [3,5; 5,5] против 6,4 [4,1; 7,7] пг/мл, $p = 0,007$), 3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ (1,0 [0,6; 1,4] против 1,4 [0,9; 1,7] нг/мл, $p = 0,045$) и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (0,8 [0,4; 1,1] против 1,5 [0,9; 2,6] нг/мл, $p < 0,001$), тогда как уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ были выше, чем в контрольной группе (50 [42; 63] против 42 [34; 48] пг/мл, $p = 0,003$). Более высокие соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (19,2 [15,6; 31,3] против 12,7 [9,9; 17,0], $p < 0,001$) и более низкие соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (289 [223; 438] против 501 [356; 641], $p = 0,001$) в группе акромегалии указывали на более низкую продукцию $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и более высокую продукцию $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. При этом, несмотря на тенденцию к более низким уровням $25(\text{OH})\text{D}_3$, исходные уровни ПТГ были ниже в группе акромегалии (33,1 [23,6; 42,3] против 38,6 [31,0; 50,3] пг/мл, $p = 0,044$), и ни у одного из пациентов с акромегалией не было выявлено вторичного гиперпаратиреоза в сравнении с 5 пациентами (17%) в контрольной группе ($p = 0,018$). Пациенты с акромегалией имели более низкое значение плато ПТГ (27,4 против 38,2 пг/мл), которое достигалось при более высоких расчетных уровнях $25(\text{OH})\text{D}_3$ (22,9 против 20,7 нг/мл; расчет проведен аналогично группе здоровых добровольцев) (рис. 8).

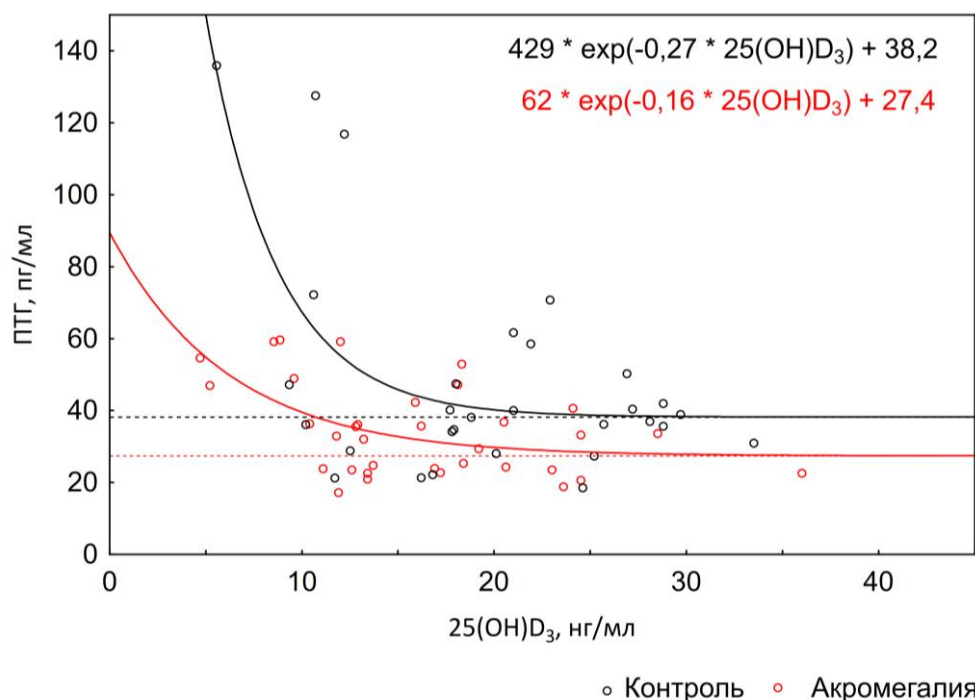


Рисунок 8. Взаимосвязь между исходными уровнями ПТГ и $25(\text{OH})\text{D}_3$ в группе акромегалии ($n = 34$) и контрольной группе ($n = 30$). ПТГ – паратиреоидный гормон. Экспоненциальная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * \exp(b * x) + c$; y – ПТГ, x – $25(\text{OH})\text{D}_3$, для обеих моделей $p < 0,001$

Уровни ИФР-1 показали умеренную положительную корреляцию с уровнями общего и скорректированного на альбумин сывороточного кальция ($r = 0,50$, $p = 0,002$ и $r = 0,45$, $p = 0,007$ соответственно) и уровнями фосфора ($r = 0,69$, $p < 0,001$), а также с креатинином сыворотки ($r = 0,36$, $p = 0,038$) и уровнями DBP ($r = 0,39$, $p = 0,022$), в то время как среди оцененных метаболитов витамина D и их соотношений ни один показатель не продемонстрировал значимой ассоциации с уровнями ИФР-1.

Концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ изменялись сходным образом между группами; у пациентов с акромегалией к 1-м суткам наблюдалось повышение концентрации $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в сыворотке ($p_{0-1} < 0,001$), после чего она снижалась к 7-м суткам ($p_{1-7} = 0,002$), тогда как в контрольной группе уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ не имели значимых изменений на протяжении всего периода наблюдения (рис. 9).

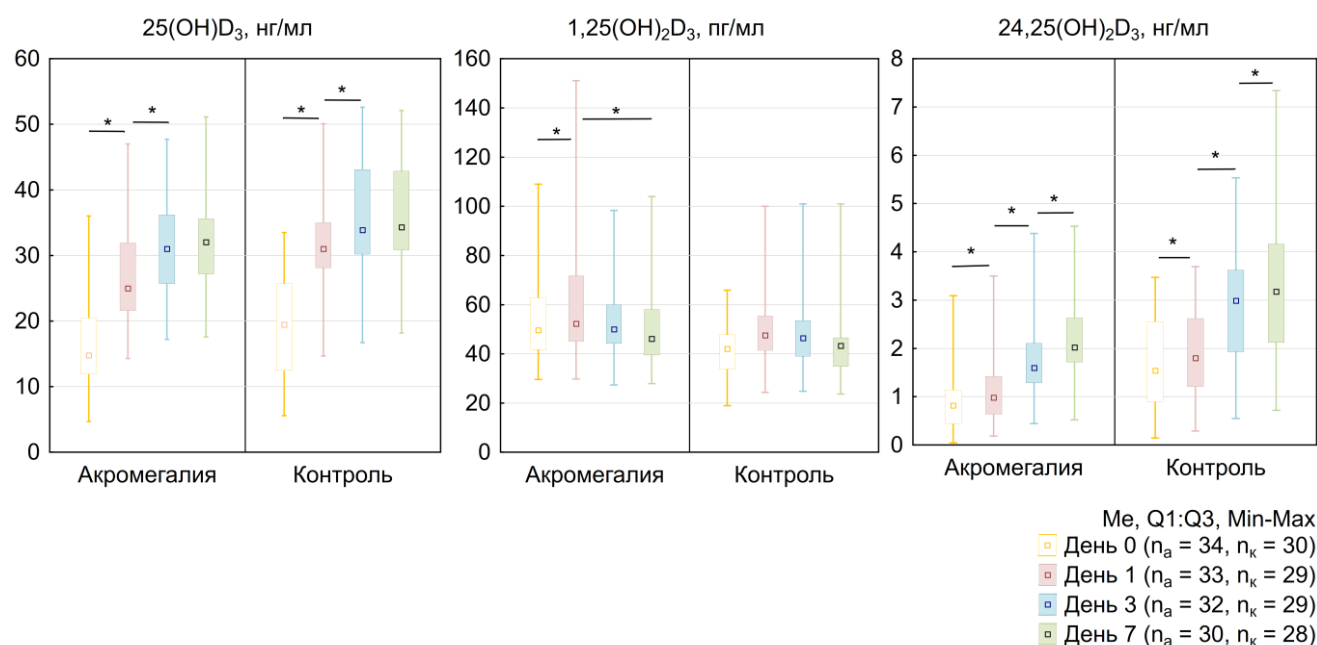


Рисунок 9. Динамика уровней $25(\text{OH})\text{D}_3$, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в группе акромегалии и контрольной группе. n_a – количество обследованных лиц с акромегалией; n_k – количество обследованных лиц контрольной группы; * – значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

Прирост $25(\text{OH})\text{D}_3$ ($\Delta 25(\text{OH})\text{D}_3$) к 7 дню после приема колекальциферола был в целом сопоставимым между группами (15,1 [12,0; 19,5] против 16,6 [13,1; 19,8] нг/мл, $p = 0,492$). ИМТ статистически значимо коррелировал с $\Delta 25(\text{OH})\text{D}_3$ только в контрольной группе ($r = -0,47$, $p = 0,011$), тогда как у пациентов с акромегалией такой ассоциации не было выявлено ($r = 0,12$, $p = 0,529$), однако, мы наблюдали обратную корреляцию $\Delta 25(\text{OH})\text{D}_3$ с лабораторными показателями активности заболевания - как с уровнями ИФР-1 ($r = -0,44$, $p = 0,014$), так и с уровнями СТГ ($r = -0,56$, $p = 0,001$). У пациентов с ожирением и акромегалией

$\Delta 25(\text{OH})\text{D}_3$ был сопоставим с лицами из контрольной группы с ожирением ($n = 6$ против $n = 8$; 17,3 [14,5; 20,2] против 12,1 [10,0; 13,1] нг/мл, $p = 0,059$), в то время как среди пациентов без ожирения $\Delta 25(\text{OH})\text{D}_3$ был ниже у пациентов с акромегалией ($n = 24$ против $n = 20$; 15,0 [11,7; 19,2] против 18,3 [15,3; 21,4] нг/мл, $p = 0,034$).

Уровни DBP у пациентов с акромегалией в целом увеличились после приема колекальциферола ($p_{0-3} < 0,001$), в отличие от контрольной группы (+89 [+33; +143] против +9 [-64; +30] мг/л, $p < 0,001$) и были выше чем в контрольной группе начиная с 3-го дня наблюдения (322 [247; 355] против 236 [204; 274] мг/л, $p < 0,001$ на 3-й день; 319 [272; 363] против 245 [220; 277] мг/л, $p < 0,001$ на 7-й день) (рис. 10).

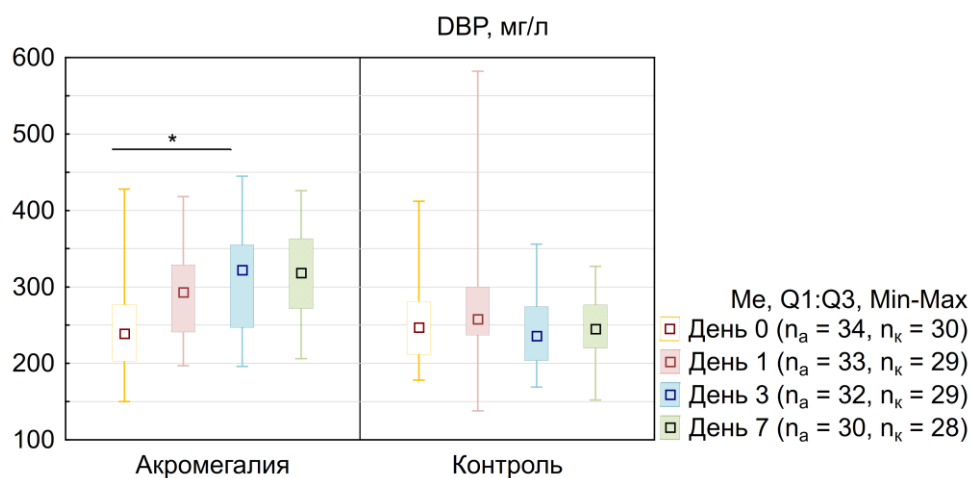


Рисунок 10. Изменение концентрации витамин D-связывающего белка (DBP) в группе акромегалии и контрольной группе. n_a – количество обследованных лиц с акромегалией; n_k – количество обследованных лиц контрольной группы; * - значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

Оценка метаболизма витамина D у пациентов с БИК

В анализ вошли 30 пациентов с БИК и 30 пациентов из группы контроля, сопоставимых по возрасту, полу и ИМТ (табл. 7).

Таблица 7. Общая характеристика пациентов с БИК и группы контроля на исходном визите.

Параметр	БИК ($n=30$)	Контрольная группа ($n=30$)	P
Возраст, лет	39,1 [31,2; 48,2]	33,4 [26,5; 42,5]	0,123
Пол, ж(%):м(%)	26(87%):4(13%)	19(63%):11(37%)	0,072
ИМТ, кг/м ²	30,9 [27,1; 31,6]	27,2 [25,4; 30,4]	0,070
Общий 25(OH)D, нг/мл	13,1 [9,6; 17,9]	21,7 [14,4; 28,0]	0,002

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3], качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. БИК – болезнь Иценко-Кушинга; ИМТ – индекс массы тела.

У пациентов с БИК выявлен ряд отклонений в биохимических параметрах при исходном лабораторном обследовании, в частности, более низкие уровни креатинина (67,6 [62,4; 70,1] против 70,3 [67,4; 78,0] мкмоль/л, $p = 0,025$) и альбумина (44 [42; 46] против 46 [44; 47] г/л, $p = 0,002$) сыворотки, в то время как концентрации магния были выше, чем в контрольной группе (0,87 [0,81; 0,92] против 0,82 [0,76; 0,85] ммоль/л, $p = 0,006$). В группе БИК также наблюдалось более высокое фосфор-креатининовое соотношение в моче (2,6 [2,0; 3,1] против 1,8 [1,4; 2,7] ммоль/ммоль, $p = 0,019$).

Исходные уровни 25(ОН)D₃ оказались равными в группах (17,9 [13,0; 24,5] против 19,5 [12,5; 25,7] нг/мл, $p = 0,432$). Исходные сывороточные концентрации активного метаболита витамина D - 1,25(ОН)₂D₃ - также были сопоставимы между группами (41 [35; 50] против 42 [34; 48] пг/мл, $p = 0,994$), тогда как уровни 3-epi-25(ОН)D₃ и 24,25(ОН)₂D₃ были ниже у пациентов с БИК (0,8 [0,6; 1,1] против 1,4 [0,9; 1,7] нг/мл, $p = 0,002$ и 1,0 [0,5; 1,4] против 1,5 [0,9; 2,6] нг/мл, $p = 0,004$ соответственно). Результаты дальнейшего расчета соотношений 25(ОН)D₃/24,25(ОН)₂D₃ и 25(ОН)D₃/1,25(ОН)₂D₃ соответствовали наблюдаемым различиям в уровнях метаболитов: соотношения 25(ОН)D₃/24,25(ОН)₂D₃ были выше в группе БИК (19,5 [15,3; 26,8] против 12,7 [9,9; 17,0], $p < 0,001$), указывая на более низкую активность 24-гидроксилазы, а соотношения 25(ОН)D₃/1,25(ОН)₂D₃ не различались между группами (425 [373; 555] против 501 [356; 641], $p = 0,665$).

Уровни свободного 25(ОН)D были ниже у пациентов с БИК (4,9 [4,0; 6,1] против 6,4 [4,1; 7,7] пг/мл, $p = 0,027$), а уровни DBP не различались между группами (270 [227; 298] против 247 [212; 281] мг/л, $p = 0,155$). Хотя расчетный свободный 25(ОН)D продемонстрировал тесную положительную корреляцию с измеренным в обеих группах ($r = 0,63$, $p < 0,001$ в группе исследования, $r = 0,87$, $p < 0,001$ в контрольной группе), связь, по-видимому, была слабее в группе исследования. В контрольной группе уровни DBP коррелировали как с измеренными, так и с рассчитанными уровнями свободного 25(ОН)D ($r = -0,48$, $p = 0,007$ и $r = -0,69$, $p < 0,001$ соответственно), тогда как у пациентов с БИК ассоциация наблюдалась только для расчетного свободного 25(ОН)D и не было выявлено связи с измеренными уровнями свободного 25(ОН)D ($r = -0,50$, $p = 0,005$ и $r = 0,04$, $p = 0,814$ соответственно).

У пациентов с БИК наблюдалась корреляция с маркером активности основного заболевания (свободным кортизолом в суточной моче) для уровня сывороточного альбумина ($r = -0,37$, $p = 0,047$) и кальций-креатининового соотношения в моче ($r = 0,51$, $p = 0,004$) среди оцениваемых биохимических параметров, а среди оцениваемых параметров метаболизма витамина D – только с соотношением 25(ОН)D₃/24,25(ОН)₂D₃ ($r = 0,36$, $p = 0,049$).

Прирост $25(\text{OH})\text{D}_3$ ($\Delta 25(\text{OH})\text{D}_3$) к 7-му дню после приема колекальциферола был сопоставимым в группах (18,5 [15,9; 22,5] нг/мл в группе БИК по сравнению с 16,6 [13,1; 19,8] нг/мл в контрольной группе, $p = 0,142$). При наличии ожирения $\Delta 25(\text{OH})\text{D}_3$ был больше у пациентов с БИК, чем в контрольной группе ($n = 17$ против $n = 8$; 18,3 [14,2; 23,0] против 12,1 [10,0; 13,1] нг/мл, $p = 0,009$), в то время как среди исследуемых лиц без ожирения различий не наблюдалось ($n = 13$ против $n = 20$; 19,6 [16,0; 21,5] против 18,3 [15,3; 21,4] нг/мл, $p = 0,676$). ИМТ имел статистически значимую корреляцию с $\Delta 25(\text{OH})\text{D}_3$ только в контрольной группе ($r = -0,47$, $p = 0,011$), тогда как у пациентов с БИК такой ассоциации не было ($r = -0,06$, $p = 0,737$).

Среди оцениваемых параметров метаболизма витамина D более высокое соотношение $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в группе исследования было единственным различием между группами, которое оставалось значимым на протяжении всего периода наблюдения ($p < 0,001$; $p = 0,001$; $p = 0,025$ на 1-й, 3-й и 7-й дни соответственно) (рис. 11).

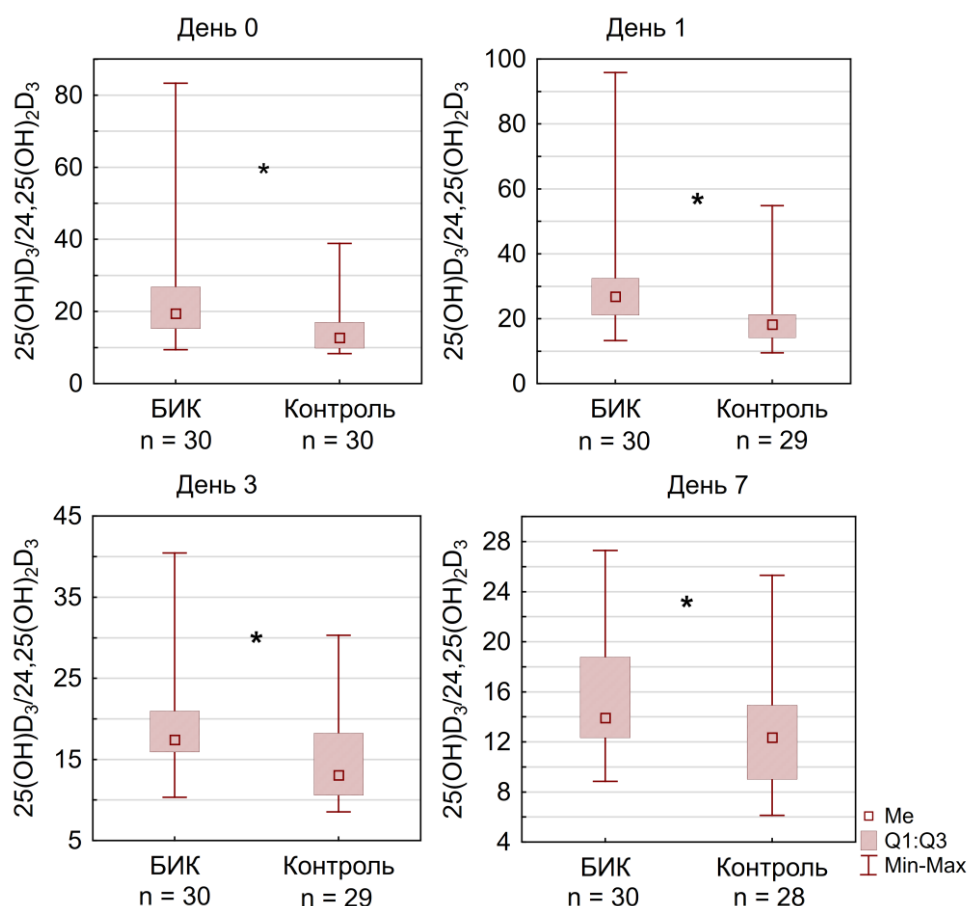


Рисунок 11. Динамика соотношений $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в группе БИК и контрольной группе. БИК – болезнь Иценко-Кушинга. * – значимые различия при сравнении между группами (критерий Mann-Whitney)

Уровни $25(\text{OH})\text{D}_2$ не превышали 0,5 нг/мл у всех исследуемых лиц на протяжении всего периода наблюдения.

ВЫВОДЫ

1. Концентрация $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ обладает сопоставимой с $25(\text{OH})\text{D}_3$ способностью предсказывать уровни ПТГ у здоровых лиц, при этом адекватное подавление избыточной секреции ПТГ наблюдается при значениях более 20,5 нг/мл для $25(\text{OH})\text{D}_3$ и более 1,6 нг/мл для $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

2. При приеме болюсной дозы колекальциферола у здоровых лиц продукция неактивного метаболита ($24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) преобладает над продукцией активного метаболита ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), что может являться механизмом предотвращения токсического действия витамина D при его быстром восполнении.

3. Исходная концентрация $25(\text{OH})\text{D}_3$ сыворотки крови является основным предиктором изменения уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$ при приеме болюсной дозы колекальциферола у здоровых лиц. Среди оцениваемых параметров метаболизма витамина D не обнаружено более выраженной взаимосвязи с изменением $25(\text{OH})\text{D}_3$ в ответ на болюсную дозу колекальциферола в данной категории лиц.

4. В условиях выраженного дефицита витамина D продукция основного активного метаболита ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) преобладает над образованием $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ и основного неактивного метаболита ($24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), а прирост $25(\text{OH})\text{D}_3$ в ответ на болюсную дозу колекальциферола больше, чем при нормальных исходных значениях витамина D.

5. При активной акромегалии наблюдается тенденция к более низким уровням $25(\text{OH})\text{D}_3$, повышенная продукция $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и сниженная продукция $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, подавление секреции ПТГ с меньшей частотой вторичного гиперпаратиреоза в сравнении со здоровыми лицами, а также увеличение концентрации DBP на фоне приема болюсной дозы колекальциферола. Прирост $25(\text{OH})\text{D}_3$ в ответ на болюсную дозу колекальциферола у пациентов с акромегалией имеет отрицательную ассоциацию с маркерами активности заболевания и в отсутствие ожирения меньше, чем у здоровых лиц.

6. Пациенты с гиперкортицизмом вследствие БИК характеризуются сопоставимыми со здоровыми лицами уровнями $25(\text{OH})\text{D}_3$, сниженной продукцией $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, связанной с маркером активности заболевания кортизолом, а также более низкими уровнями свободного $25(\text{OH})\text{D}$, несмотря на сопоставимые уровни DBP и более низкие концентрации альбумина. При наличии ожирения прирост $25(\text{OH})\text{D}_3$ в ответ на болюсную дозу колекальциферола у пациентов с БИК больше, чем у здоровых лиц.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Концентрация $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в сыворотке крови может использоваться в качестве дополнительного маркера достаточности витамина D, при этом значения менее 1,6 нг/мл соответствуют дефициту витамина D, сопровождающемуся повышением уровня ПТГ, а значения менее нижней границы референсного интервала – выраженному дефициту витамина D.
2. Исходная концентрация $25(\text{OH})\text{D}_3$ может использоваться для расчета прироста концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ к 7 дню после приема 150 000 МЕ колекальциферола у здоровых лиц. Для этих целей малоинформативно исследование других параметров метаболизма витамина D.
3. У пациентов с акромегалией не рекомендуется назначение активных метаболитов витамина D в отсутствие абсолютных показаний ввиду повышенной эндогенной продукции активного метаболита витамина D.
4. У пациентов с БИК не рекомендуется использование превышающих стандартные для общей популяции доз колекальциферола ввиду сниженной инактивации витамина D.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Мокрышева Н.Г., Пигарова Е.А., **Поваляева А.А.**, Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е., Дзеранова Л.К., Каронова Т.Л., Суплотова Л.А., Трошина Е.А. Проект федеральных клинических рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D // Остеопороз и остеопатии. – 2021. – Т. 24. – № 4. – С. 4-26. doi: 10.14341/osteo12937
2. Пигарова Е.А., **Петрушкина А.А.** Неклассические эффекты витамина D // Остеопороз и остеопатии. – 2017. – Т. 20. – № 3. – С. 90-101. doi: 10.14341/osteo2017390-101
3. Пигарова Е.А., **Поваляева А.А.**, Дзеранова Л.К., Рожинская Л.Я. Роль витамина D при эндокринных заболеваниях // Лабораторная служба. – 2021. – Т. 10. – № 2. – С. 34-46. doi: 10.17116/labs20211002134
4. **Поваляева А.А.**, Пигарова Е.А., Дзеранова Л.К., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А. Особенности метаболизма витамина D при гиперкортицизме и акромегалии // Проблемы Эндокринологии. – 2019. – Т. 65. – № 6. – С. 444-450. doi: 10.14341/probl12099
5. **Поваляева А.А.**, Пигарова Е.А., Жуков А.Ю., Богданов В.П., Иоутси В.А., Дзеранова Л.К., Малышева Н.М., Рожинская Л.Я. Метаболизм витамина D в условиях нагрузки болюсной дозой колекальциферола у лиц с различными уровнями $25(\text{OH})\text{D}$ // Остеопороз и остеопатии. – 2020. – Т. 23. – № 2. – С. 129. doi: 10.14341/osteo20202

6. **Повалыева А.А.**, Пигарова Е.А., Романова А.А., Дзеранова Л.К., Жуков А.Ю., Рожинская Л.Я. Витамин D-связывающий белок как многофункциональный компонент сыворотки крови // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2021. – Т. 76. – № 1. – С. 103-110. doi: 10.15690/vramn1396
7. Zhukov A., **Povaliaeva A.**, Bogdanov V., Pigarova E., Dzeranova L., Rozhinskaya L. Functional Changes in 24-hydroxylase and 1 α -hydroxylase Activities in the State of Profound Vitamin D Deficiency // The Journal of Bone and Mineral Research. – 2022. – Vol. 37. – № Suppl. 1. doi: 10.1002/jbmr.4515
8. Zhukov A., **Povaliaeva A.**, Pigarova E., Dzeranova L., Bogdanov V., Ioutsi V., Rozhinskaya L. Comparison of Vitamin D Metabolism in Deficient and Sufficient States // Journal of the Endocrine Society. – 2020. – Vol. 4. – № Suppl. 1. – P. A942. doi: 10.1210/jendso/bvaa046.1869
9. Pigarova E., **Povaliaeva A.**, Zhukov A., Bogdanov V., Ioutsi V., Dzeranova L., Korolenko A., Malysheva N., Rozhinskaya L. Vitamin D metabolism response to the bolus dose of cholecalciferol in the setting of low and high 25(OH)D levels // Osteoporosis International. – 2020. – Vol. 31. – № Suppl. 1. – P. S438. doi: 10.1007/s00198-020-05696-3
10. **Povaliaeva A.**, Bogdanov V., Pigarova E., Zhukov A., Dzeranova L., Belaya Z., Rozhinskaya L., Mel'nicenko G., Mokrysheva N. Assessment of Vitamin D Metabolism in Patients with Cushing's Disease in Response to 150,000 IU Cholecalciferol Treatment // Nutrients. – 2021. – Vol. 13. – № 12. – P. 4329. doi: 10.3390/nu13124329
11. **Povaliaeva A.**, Bogdanov V., Zhukov A., Pigarova E., Dzeranova L., Rozhinskaya L., Mel'nicenko G., Mokrysheva N. Characterization of vitamin D metabolism in active acromegaly in the setting of bolus (150 000 IU) cholecalciferol treatment // Endocrine. – 2022. – Vol. 76. – № 2. – P. 407-418. doi: 10.1007/s12020-022-02994-0
12. **Povaliaeva A.**, Zhukov A., Bogdanov V., Pigarova E., Dzeranova L., Rozhinskaya L. 24-hydroxylase Is Downregulated in Patients with Cushing's Disease // The Journal of Bone and Mineral Research. – 2022. – Vol. 37. – № Suppl. 1. doi: 10.1002/jbmr.4515
13. **Povaliaeva A.**, Pigarova E., Zhukov A., Dzeranova L., Bogdanov V., Ioutsi V., Rozhinskaya L. Vitamin D Metabolism in Patients with Acromegaly: A Case-Control Pilot Study // Journal of the Endocrine Society. – 2020. – Vol. 4. – № Suppl. 1. – P. A920. doi: 10.1210/jendso/bvaa046.1824
14. **Povaliaeva A.**, Pigarova E., Zhukov A., Dzeranova L., Nikankina L., Rozhinskaya L. Calcium-phosphorus metabolism in patients with Cushing's disease // Journal of

- Bone and Mineral Research. – 2020. – Vol. 35. – № Suppl. 1. – P. 56-57. doi: 10.1002/jbmr.4206
15. **Povaliaeva A.**, Rozhinskaya L., Zhukov A., Pigarova E., Dzeranova L., Nikankina L., Malysheva N., Bogdanov V., Ioutsi V. Vitamin D Metabolism Alteration In Acromegaly And Its Impact On Calcium-phosphorus Metabolism // Journal of the Endocrine Society. – 2021. – Vol. 5. – № Suppl. 1. – P. A651-A652. doi: 10.1210/jendso/bvab048.1329

Список основных сокращений

1,25(OH)₂D – 1,25-дигидроксивитамин D
 24,25(OH)₂D – 24,25-дигидроксивитамин D
 25(OH)D – 25-гидроксивитамин D
 3-epi-25(OH)D – 3-эпи-25-гидроксивитамин D
 БИК – болезнь Иценко-Кушинга
 ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с тандемным масс-спектрометрическим детектированием
 ИМТ – индекс массы тела
 ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1
 МЕ – международных единиц
 ПТГ – паратиреоидный гормон
 РИ – референсный интервал
 СКФ – скорость клубочковой фильтрации
 СТГ – соматотропный гормон
 D₂ – эргокальциферол (витамин D₂)
 D₃ – колекальциферол (витамин D₃)
 DBP – vitamin D-binding protein, витамин D-связывающий белок
 Max – максимальное значение
 Me – медиана
 Min – минимальное значение
 Q1 – первый квартиль
 Q3 – третий квартиль