

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ЭНДОКРИНОЛОГИИ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ПОВАЛЯЕВА Александра Александровна

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

3.1.19 – ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук Е.А. Пигарова

МОСКВА

2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Роль витамина D в организме и определение его дефицита	9
1.2 Нормальный метаболизм витамина D	17
1.3 Витамин D и акромегалия	28
1.4 Витамин D и гиперкортицизм.....	31
1.5 Заключение по обзору литературы	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	35
2.1 Дизайн исследования.....	35
2.2 Условия проведения	36
2.3 Критерии соответствия	37
2.4 Клиническое обследование	38
2.5 Методика забора биологического материала и проведения фармакологических проб	39
2.6 Лабораторные методы исследования	41
2.7 Инструментальные исследования	45
2.8 Статистический анализ.....	45
Этическая экспертиза.....	45
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	47
3.1 Характеристика метаболизма витамина D среди здоровых добровольцев.....	47
3.1.1 Обсуждение полученных результатов	58
3.2 Исследование метаболизма витамина D при его дефиците среди здоровых добровольцев	60
3.2.1 Обсуждение полученных результатов	70
3.3 Оценка метаболизма витамина D у пациентов с акромегалией.....	72
3.3.1 Обсуждение полученных результатов	85
3.4 Оценка метаболизма витамина D у пациентов с БИК	88

3.4.1 Обсуждение полученных результатов	98
Ограничения исследования	102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	103
ВЫВОДЫ	105
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	107
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	108
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	110

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы 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 [17, 39, 59]. 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 [189]. 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 [99].

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 [35]. 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 [224]. 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 [151, 152]. 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.

Степень разработанности темы исследования

Работы, посвященные клинической значимости исследования метаболитов витамина D, носят единичный характер, в Российской Федерации такие работы не проводились. Большинство работ по изучению метаболизма витамина D в условиях избытка гормона роста и кортизола имело экспериментальный характер, что не позволяет транслировать данные исследований на клиническую практику; клинические же работы характеризовались очень скромными выборками и одномоментным наблюдением. Проспективное изучение метаболизма витамина D у пациентов с акромегалией и эндогенным гиперкортицизмом на фоне терапии препаратами витамина D не проводилось. В целом, данная тема представляется достаточно слабо разработанной даже в мировом масштабе.

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 в РФ определена точка подавления избыточной секреции ПТГ для метаболитов витамина D, определенных методом ВЭЖХ-МС/МС.
- Впервые в РФ 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. Основным объемом работы по сбору клинико-анамнестических данных, подготовке базы пациентов, статистической обработке данных и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций и докладов по теме работы выполнены лично автором.

Основные 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.

Степень достоверности и апробация полученных 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; тезисы, опубликованные за рубежом – 7; тезисы, опубликованные в сборниках российских конференций – 1.

Объем и структура 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Роль витамина D в организме и определение его дефицита

К основным эффектам витамина D, связанным с предупреждением развития вторичного гиперпаратиреоза, в первую очередь относится регуляция всасывания кальция в кишечнике. При достаточном или низком содержании кальция в рационе питания его всасывание в кишечнике происходит в основном трансцеллюлярным путем; витамин D при этом активирует синтез в кишечном эпителии TRPV6 — кальциевого канала, обеспечивающего транспорт кальция в энтероциты через апикальную мембрану [88, 228], кальбиндина- D_{9K} — белка, являющегося цитоплазматическим буфером кальция [75, 227] и PMCA1b — кальциевой АТФазы базолатеральной плазматической мембраны, осуществляющей выведение кальция из энтероцита против градиента концентрации с затратой энергии [55]. В условиях высокого поступления кальция с пищей имеет место парацеллюлярный транспорт, который, в отличие от трансцеллюлярного пути, является ненасыщаемым. Перенос кальция при этом происходит через плотные контакты, и предполагается, что в этом процессе участвуют белки клаудины. Вероятно, витамин D участвует и в регуляции парацеллюлярного транспорта, поскольку повышает экспрессию клаудинов 2 и 12, а также снижает экспрессию белка клеточной адгезии кадгерина-17 [95, 134].

Кроме того, витамин D оказывает прямое действие на околощитовидные железы, которое заключается в снижении синтеза ПТГ и повышении экспрессии кальций-чувствительных рецепторов, что, в свою очередь, способствует снижению пролиферации клеток желез [157].

В костной ткани витамин D осуществляет комплексную регуляцию гомеостаза. Во-первых, витамин D является регулятором транскрипции важнейших белков матрикса костной ткани: так, например, он подавляет синтез коллагена I типа и увеличивает синтез остеокальцина. Активация рецепторов витамина D (VDR) остеоцитов приводит также к повышению продукции фактора роста фибробластов 23 (FGF-23), вследствие чего замыкается круг обратной связи, а именно, снижается продукция активной формы витамина D, а также повышается

экскреция фосфора в почках, что предотвращает повышение уровня фосфора в крови, наблюдаемое в условиях повышенной резорбции кости [141]. Наконец, при активации VDR остеогенных клеток осуществляется аутокринная и паракринная регуляция метаболизма кости, однако эти эффекты не вполне изучены и, по всей видимости, зависят от баланса кальция и стадии дифференцировки остеогенных клеток. В условиях достаточного поступления кальция роль эффектов витамина D в остеогенных клетках недостаточно ясна. Действие витамина D на незрелые остеобласты приводит к повышению продукции ими лиганда рецептора-активатора ядерного фактора каппа-B (RANKL) — фактора дифференцировки остеокластов, результатом чего является повышение резорбции кости [243]. Однако, в зрелых остеобластах при активации VDR снижается экспрессия RANKL и повышается экспрессия ингибитора остеокластов остеопротегерина, что приводит к снижению резорбции кости [29]. При недостатке кальция сигнальный путь активной формы витамина D способствует решению приоритетной задачи — поддержанию нормального уровня кальция сыворотки крови за счет повышения резорбции кости, о чем свидетельствует высокое значение отношения RANKL/остеопротегерин, а также посредством снижения минерализации кости вследствие повышения уровней ингибиторов минерализации остеопонтина и пирофосфата [138]. Таким образом, предполагается, что основное значение витамина D для костной ткани заключается в создании необходимого для нормальной минерализации кости микроокружения, преимущественно за счет поддержания оптимальных концентраций кальция и фосфора в крови.

При дефиците витамина D снижается эффективность абсорбции поступающих с пищей кальция и фосфора в кишечнике, что приводит к повышению уровня ПТГ крови. Вторичный гиперпаратиреоз поддерживает нормальную концентрацию кальция сыворотки крови за счет мобилизации кальция из костной ткани и повышенного выведения фосфора почками. ПТГ-опосредованное повышение активности остеокластов приводит к образованию локусов пониженной прочности кости и вызывает генерализованное снижение минеральной плотности кости (МПК), а в дальнейшем — остеопению и остеопороз.

Вызванное вторичным гиперпаратиреозом повышение фосфатурии приводит к низконормальному или сниженному уровню фосфора сыворотки крови. В результате нарушается кальций-фосфорное произведение сыворотки крови, что вызывает дефекты минерализации скелета. У детей в костной ткани содержится небольшое количество минерального вещества, и результатом таких нарушений становится комплекс деформаций скелета, классически известный как рахит [113]. Тяжелый дефицит витамина D, связанный с низким синтезом эндогенного витамина D вследствие недостаточного времени пребывания на солнце и низким поступлением витамина D с пищей, на протяжении ряда столетий являлся причиной алиментарного рахита во многих западных странах, а также являлся эндемичным у темнокожих детей в Северной Америке и у некоторых детей из богатых индийских семей [171].

У взрослых закрыты эпифизарные пластинки роста и в костной ткани имеется достаточно минерального вещества для предотвращения скелетных деформаций, однако развивающийся при этом дефект минерализации, известный как остеомалация, часто остается недиагностированным; при этом наблюдается снижение МПК, а также может наблюдаться ассоциация с изолированными или генерализованными костными и мышечными болями [12, 13, 114, 148].

Основным маркером обеспеченности организма витамином D повсеместно принят общий 25-гидроксивитамин D (25(OH)D), определяемый как сумма 25-гидроксивитамина D₃ (25(OH)D₃) и 25-гидроксивитамина D₂ (25(OH)D₂). Ключевым аргументом в пользу использования данного параметра является его длительный период полувыведения [99]. При этом, определение дефицита витамина D является предметом длительных споров экспертов международных профессиональных сообществ, что отражено в Таблице 1.

Таблица 1. Классификация дефицита, недостаточности и оптимальных уровней 25-гидроксивитамина D (25(OH)D) по мнению различных международных профессиональных организаций.

Наименование профессиональной организации	Дефицит витамина D, нг/мл	Недостаточное содержание витамина D, нг/мл	Достаточное содержание витамина D, нг/мл	Источник
РАЭ, 2016 г.	<20	≥ 20 и <30	≥ 30	[13]
Institute of Medicine, 2011 г.	<12	12-20	20-30	[117]
Endocrine Society, 2011 г. + ОАЭ и страны Персидского залива, 2018 г.	≤ 20	21-29	30-100	[107, 114]
IOF-ESCEO, 2013 г.	<10	<20	20-30 (в некоторых случаях ≥ 30)	[187]
National Osteoporosis Society, 2014 г.	<12	12-20	>20	[26]
SBEM, 2014 г.	<20	20-30	>30	[147]
Spanish Society of Endocrinology, 2017 г.	≤ 20	21-29	30-50	[230]
Polish Society of Pediatric endocrinology and Diabetes, 2018 г.	≤ 20	>20 и ≤ 30	>30	[190]
Osteoporosis Canada, 2010 г.	<10	10-30	≥ 30	[106]
AME и итальянское подразделение AACE, 2018 г.	<20	≥ 20 и <30 (в некоторых случаях)	≥ 20 (в некоторых случаях >30)	[61]

Примечания: РАЭ – Российская ассоциация эндокринологов; ОАЭ – Объединенные Арабские Эмираты; IOF – International Osteoporosis Foundation; ESCEO – European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases; SBEM – Бразильское общество эндокринологии и метаболизма (порт. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia); AME – Ассоциация врачей-эндокринологов Италии (итал. Associazione Medici Endocrinologi); AACE – American Association of Clinical Endocrinology.

С целью идентификации нижней границы достаточных сывороточных уровней витамина D предложен ряд маркеров, включающих подавление избыточной секреции ПТГ, эффективность абсорбции кальция в кишечнике, состояние МПК, риск переломов. Остановимся немного подробнее на основных маркерах и исследованиях, повлиявших на текущие клинические рекомендации. Классической работой по этой теме является исследование Charu и соавт., выполненное на французской популяции [63]. В данной когорте уровень ПТГ в сыворотке оставался стабильным на уровне 36 пг/мл при значениях 25(ОН)D выше 31 нг/мл (78 нмоль/л) и повышался, когда сывороточная концентрация 25(ОН)D была ниже этого значения. Что касается эффективности кишечной абсорбции кальция, двумя независимыми группами получены данные в пользу ее максимальной эффективности при уровнях витамина D выше 30 нг/мл [30, 109], хотя еще одно исследование продемонстрировало достаточную абсорбцию кальция в кишечнике при концентрациях 25(ОН)D крови в диапазоне 12-20 нг/мл у большинства людей [117]. В работе Priemel и соавт. при уровнях 25(ОН)D выше 30 нг/мл не регистрировались патологические дефекты минерализации костной ткани по данным костных биопсий, тогда как среди практически здоровых лиц с уровнями в диапазоне 20-30 нг/мл у 21% наблюдалось увеличение содержания неминерализованного остеоида [180]. В 2011 г. Sai и соавт. было проанализировано около 70 работ, посвященных изучению взаимосвязи уровня ПТГ и 25(ОН)D [191]. В целом, в большинстве работ наблюдалось подавление циркулирующих уровней ПТГ с повышением концентрации 25(ОН)D в сыворотке, однако, среди работ не было согласованности в отношении необходимого для этого порогового уровня 25(ОН)D — он варьировал от 10 до 50 нг/мл. В собственной работе, как и в некоторых из проанализированных, авторам не удалось выявить пороговое значение 25(ОН)D, необходимое для подавления секреции ПТГ. Исследователи также оценили взаимосвязь абсорбции кальция в кишечнике с сывороточными концентрациями 25(ОН)D и активной формы витамина D (1,25-дигидроксивитамина D, 1,25(ОН)₂D): значимая положительная корреляция наблюдалась только для активной формы, но не для 25(ОН)D. Очевидно более

клинически значимым маркером является риск падений и переломов. Мета-анализы обсервационных исследований указывают на повышение риска падений и частоты переломов у пожилых лиц при концентрации 25(OH)D в сыворотке ниже 20 нг/мл [44, 45, 47]. В крупном рандомизированном клиническом исследовании (РКИ), проведенном в Великобритании, при повышении уровня 25(OH)D в крови от 21 до 29 нг/мл наблюдалось суммарное снижение риска основных остеопоротических переломов на 33% [222]. По данным мета-анализов Bischoff-Ferrari и соавт., терапия препаратами витамина D не приводит к снижению частоты переломов в диапазоне сывороточных значений 25(OH)D ниже 30 нг/мл, а для некоторых видов переломов — ниже 40 нг/мл [41, 42]. Уровни 25(OH)D ниже 12 нг/мл (30 нмоль/л) признаются очевидно недостаточными для всех возрастов в связи со значимым повышением риска рахита и остеомалации [99].

Неоптимальный «статус» витамина D, вне зависимости от критериев его диагностики, имеет широкое распространение во всем мире и затрагивает большую часть общей популяции. Выделены группы риска дефицита витамина D, которые представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Группы лиц с высоким риском дефицита витамина D, которым показан биохимический скрининг [13, 114].

Заболевания костей	Рахит Остеомалация Остеопороз
Заболевания околощитовидных желез	Гиперпаратиреоз
Пожилые лица (>60 лет)	Падение в анамнезе Низкоэнергетический перелом в анамнезе
Ожирение	ИМТ 30 кг/м ² и более
Беременные и кормящие женщины	Имеющие факторы риска или не желающие принимать профилактически препараты витамина D

Темный оттенок кожи	Африканское, азиатское или латиноамериканское происхождение
Хроническая болезнь почек	СКФ <60 мл/мин
Печеночная недостаточность	Стадии II-IV
Синдром мальабсорбции	Воспалительные заболевания кишечника (болезнь Крона, язвенный колит) Целиакия Муковисцидоз Пациенты после бариатрических операций Радиационный энтерит
Гранулематозные заболевания	Саркоидоз Туберкулез Гистоплазмоз Бериллиоз Кокцидиомикоз
Лимфопролиферативные заболевания	Лимфомы
Прием лекарственных препаратов	Глюкокортикоиды Антиретровирусные препараты Противогрибковые препараты Противоэпилептические препараты Холестирамин Орлистат

Примечания: ИМТ – индекс массы тела; СКФ – скорость клубочковой фильтрации.

Эксперты в области изучения витамина D сходятся во мнении, что обобщенный анализ проведенных эпидемиологических исследований затруднен в силу многообразия методов, доступных для оценки концентрации витамина D, а также недостаточного внедрения стандартизированных измерений концентрации 25(OH)D. Существующие методики измерения 25(OH)D основаны либо на иммуноанализе (радиоиммуноанализ, иммуноферментный анализ (ИФА),

хемилюминесцентный иммуноанализ, электрохемилюминесцентный иммуноанализ), либо на использовании хроматографии (масс-спектрометрия с жидкостной хроматографией). Характерными особенностями иммуноаналитических методов является отсутствие возможности разделения $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $25(\text{OH})\text{D}_2$, различная аффинность к этим метаболитам (в частности, более низкая аффинность к $25(\text{OH})\text{D}_2$), а также перекрестная реактивность с другими метаболитами (особенно 24,25-дигидроксивитамином D) и влияние концентрации транспортного белка на результат измерения. В свою очередь, хроматографические методы позволяют отдельно оценить концентрацию $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $25(\text{OH})\text{D}_2$, однако не всегда обладают способностью отделить такой метаболит витамина D, как 3- ϵ - $25(\text{OH})\text{D}$ [199].

Переоценка данных эпидемиологических исследований с применением протоколов Vitamin D Standardization Program (VDSP) может значимо повлиять на результаты: в частности, так произошло с исследованием NHANES III (1988–1994), включившим более 18000 жителей Северной Америки — доли лиц с уровнями $25(\text{OH})\text{D}$ ниже 12, 20 и 30 нг/мл увеличились с 4%, 22% и 55% до 6%, 31% и 71% соответственно [39]. При применении протоколов VDSP к данным 14 популяционных европейских исследований и совместном анализе с 4 ранее стандартизованными исследованиями среди более 55 тысяч обследованных лиц различного возраста уровни $25(\text{OH})\text{D}$ ниже 12 нг/мл выявлены у 13% лиц, а уровни ниже 20 нг/мл — у 40% лиц [59].

Результаты проведенных в Российской Федерации исследований в целом соответствуют мировым данным: уровни $25(\text{OH})\text{D}$ менее 30 нг/мл регистрируются у 70-95% обследуемых взрослых [1, 3, 6–8, 10, 11, 15, 19], при этом лишь в некоторых исследованиях выявлены сезонные различия в доле лиц с неоптимальным содержанием витамина D в организме [10, 11, 19]. В 2020 г. было проведено первое многоцентровое регистровое исследование по изучению частоты дефицита и недостаточности витамина D в Российской Федерации у взрослых, охватившее большую часть территории страны. Согласно его результатам, уровни $25(\text{OH})\text{D}$ ниже 20 нг/мл отмечены у 56% обследованных в весенний период (март-

май) и у 26% в осенний период (октябрь-ноябрь), а уровни ниже 30 нг/мл — у 84% и 62% соответственно [14, 17, 18].

1.2 Нормальный метаболизм витамина D

Витамин D₃, или колекальциферол, образуется в коже из 7-дегидрохолестерола в два этапа. На первом этапе под действием ультрафиолетового (УФ) излучения (280-320 нм) образуется пре-витамин D₃, который затем изомеризуется в D₃ в результате термочувствительного, но некаталитического процесса. Лишь небольшая часть циркулирующего в кровотоке витамина D₃ поступает с пищей, тогда как структурно и функционально родственный ему витамин D₂, или эргокальциферол (рис. 1) поступает только с продуктами питания растительного происхождения, поскольку образуется под действием УФ-излучения на стерол, являющийся компонентом клеточной мембраны грибов (эргостерол) и не может быть синтезирован в организме человека [35]. Обе эти формы (витамин D₃ и D₂) совместно обозначаются как витамин D.

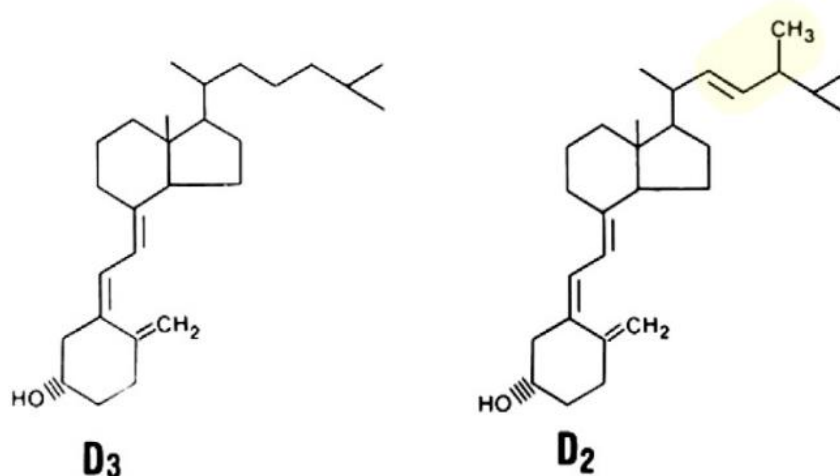


Рисунок 1. Структурные различия витамина D₃ (колекальциферола) и D₂ (эргокальциферола) (адаптировано из [35])

Витамин D₃ является прогормоном, и для обретения биологической активности ему требуется пройти два последовательных этапа гидроксилирования ферментами семейства цитохрома P450 (CYP).

Первое гидроксилирование происходит в положении C25, в результате чего образуется 25-гидроксивитамин D₃ (25(OH)D₃). Основным ферментом, осуществляющим 25-гидроксилирование, по-видимому, является CYP2R1, открытый Russell и его коллегами [64, 65], поскольку инактивирующие мутации в *CYP2R1* имеют клинические проявления в виде рахита, ассоциированного с дефицитом витамина D в результате нарушения его 25-гидроксилирования и классифицированные в настоящее время как отдельная, очень редкая форма рахита — витамин D-зависимый рахит типа 1B [21, 64, 220]. Тем не менее, мыши, нокаутированные по гену *CYP2R1*, сохраняют способность к значимой продукции 25(OH)D₃, что предполагает участие в этом процессе других гидроксилаз, в частности, митохондриальной CYP27A1, а также микросомальных CYP2D11, CYP2D25, CYP2J2/3 и CYP3A4 [246].

В результате второго гидроксилирования в положении C1 α , осуществляемого CYP27B1, образуется активная форма витамина D, способная связываться с VDR и осуществлять биологические функции витамина D — 1,25-дигидроксивитамин D₃ (1,25(OH)₂D₃), или кальцитриол. Эксклюзивность этого фермента в отношении образования 1,25(OH)₂D₃ подтверждает идентификация мутаций в гене *CYP27B1*, которые приводят к витамин-D-зависимому рахиту типа 1A, сопровождающемуся очень низкими уровнями 1,25(OH)₂D₃ [91, 94]. Активность CYP27B1 в почках имеет решающее значение для продукции и поддержания физиологических уровней циркулирующего 1,25(OH)₂D₃ [77]. Как следствие, синтез и активность CYP27B1 жестко регулируются эндокринными факторами, которые вырабатываются в ответ на изменения концентрации кальция и/или фосфора в плазме крови. В частности, почечная 1 α -гидроксилаза, в отличие от 25-гидроксилаз печени, жестко регулируется тремя гормонами: ПТГ стимулирует ее, тогда как FGF-23 и сам 1,25(OH)₂D₃ подавляют [96, 181, 204]. Исследования последних лет продемонстрировали, что CYP27B1 имеется не только в почках, но и во многих тканях организма, опосредуя локальный синтез активного метаболита витамина D [111]. В этой связи инициировано активное изучение потенциальных

«неклассических эффектов» витамина D, обусловленных его паракринным действием [189].

Деградация $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ осуществляется микросомальным ферментом CYP24A1, который экспрессируется базально в почках. Его экспрессия индуцируется также $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, в том числе практически во всех тканях-мишенях витамина D [172]. Данный путь инактивации заключается в третьем гидроксировании $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в положении C24 с образованием $1,24,25$ -тригидроксивитамина D_3 ($1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$) либо в положении C23 с образованием $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -26,23-лактона; оба подвергаются дальнейшему окислению до кальцитроевой кислоты и углекислого газа (CO_2) [122]. $25(\text{OH})\text{D}_3$ также гидроксимируется CYP24A1 в почках, что приводит к образованию $24,25$ -дигидроксивитамина D_3 ($24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) и $25(\text{OH})\text{D}_3$ -26,23-лактона. По сравнению с регуляцией CYP27B1, CYP24A1 регулируется реципрокно, а именно, стимулируется $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и FGF-23, тогда как подавление осуществляет ПТГ [66, 232]. Гипотеза в отношении биологической роли основного циркулирующего 24-гидроксированного метаболита ($24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) формулировалась на протяжении нескольких десятилетий. Относительно недавно были идентифицированы инактивирующие мутации в гене *CYP24A1*, ассоциированные с идиопатической детской гиперкальциемией и с гиперкальциемией, гиперкальциурией и рецидивирующим нефролитиазом у взрослых [80, 194, 219]. Таким образом, основное биологическое значение 24-гидроксирования, по-видимому, заключается в предотвращении токсического действия витамина D.

К настоящему времени убедительно продемонстрирована клиническая польза измерения $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ при дифференциальной диагностике синдрома гиперкальциемии, а именно, в качестве скринингового метода выявления инактивирующей мутации в гене *CYP24A1*, которая приводит к дефекту соответствующего фермента и снижению продукции 24-гидроксированных метаболитов. $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ имеет наибольшую сывороточную концентрацию среди 24-гидроксированных форм витамина D, в связи с чем именно его измерение предложено рассматривать в качестве диагностического метода. Кроме

того, поскольку $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в сыворотке изменяется пропорционально $25(\text{OH})\text{D}_3$, его концентрация может быть нормализована по отношению к предшественнику путем расчета соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (vitamin D metabolite ratio; VMR). В качестве порогового значения VMR при скрининге дефицита CYP24A1 рассматривается уровень, равный 80 и выше, однако, данный диагностический критерий требует уточнения в более крупных исследованиях [27, 126–128, 194]. При гипервитаминозе витамина D, напротив, даже при очень высоких концентрациях $25(\text{OH})\text{D}_3$ соотношение $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ остается нормальным в силу пропорционального повышения продукции неактивного метаболита [128].

Менее очевидной является ценность определения $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ при оценке достаточности витамина D в организме. При дефиците витамина D наблюдается физиологическая инактивация катаболического пути витамина D; так, Tanaka и DeLuca были первыми, кто указал на взаимную зависимость активности 1α -гидроксилазы (CYP27B1) и 24-гидроксилазы (CYP24A1), наблюдаемую у младенцев с низким содержанием витамина D в пище и снижением $25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 12 нг/мл [216]. Kaufmann и соавт. показали, что концентрация $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ становится неопределяемой при выраженном дефиците витамина D ($25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 10 нг/мл) [126], а значимое уменьшение процента лиц с неопределяемыми значениями $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, по данным Cavalier и соавт., наблюдается при значениях $25(\text{OH})\text{D}_3$ выше 20 нг/мл [60]. У пациентов со снижением функции почек $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ имел значимо более сильную корреляцию с уровнем ПТГ в сравнении с $25(\text{OH})\text{D}_3$ [43], однако в корейской выборке из общей популяции не наблюдалось значимой ассоциации $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, VMR и биодоступного $25(\text{OH})\text{D}$ с уровнем ПТГ и МПК [130]. Как $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, так и VMR продемонстрировали предсказательную способность в отношении ответа на терапию колекальциферолом [40, 233], однако, VMR, по-видимому, всё же не эквивалентен уровням $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ сыворотки в вопросах оценки прироста витамина D в ответ на терапию колекальциферолом или взаимосвязи с концентрацией ПТГ [23]. В небольшом пилотном клиническом исследовании

уровни $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, но не VMR, сопоставимо предсказывали изменение $25(\text{OH})\text{D}_3$ на фоне терапии колекальциферолом (2800 МЕ в сутки в течение 8 недель) [90]; в данном исследовании также было показано увеличение активности 24-гидроксилазы после приема витамина D. При приеме болюсной дозы колекальциферола (100 000 МЕ однократно) индукция катаболического пути также преобладала над образованием $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [192]. Важно отметить, что в пилотных исследованиях также продемонстрирована ассоциация VMR с клиническими важными исходами (в частности, с МПК и риском переломов) [97, 98], в связи с чем данный параметр является многообещающим дополнительным диагностическим инструментом при оценке «статуса» витамина D.

3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ и 3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_2$ имеют 3α -гидроксильную группу, а не 3β -гидроксильную группу, и продуцируются ферментом 3-эпимеразой из $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $25(\text{OH})\text{D}_2$ соответственно. Данные метаболиты были впервые обнаружены в образцах сыворотки с помощью хроматографических методов. Концентрация 3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сыворотке варьирует от менее 1% до 25% уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$, (в среднем 4,75%) у взрослых [28, 67, 136]; у детей процент содержания данного метаболита выше и составляет от 8,7 до 61,1% концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ [206]. 3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ обычно считается «менее активным предшественником» активного метаболита витамина D, чем $25(\text{OH})\text{D}_3$, поскольку 3-epi- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ обладает в 35–120 раз меньшей аффинностью к VDR, чем $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, имеет заметно сниженную способность стимулировать абсорбцию кальция в кишечнике и экспрессию гена *CYP24A1* в эксперименте у крыс [123, 150, 163, 170]. Однако, в некоторых случаях 3-epi- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ проявляет равную или даже более высокую биологическую активность по сравнению с $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, например, в отношении подавления секреции ПТГ культивируемыми клетками околощитовидной железы [51] и стимуляции синтеза сурфактанта во время перинатального созревания легких [185].

Вышеизложенные основные этапы метаболизма витамина D, суммированные на рисунке 2, далеко не исчерпывают многообразие биологических трансформаций витамина D. Достижения в развитии методов на основе жидкостной хроматографии

с тандемной масс-спектрометрией за последние годы привели к открытию множества новых форм витамина D в сыворотке крови человека. Всего к настоящему времени известно более 50 метаболитов витамина D [4, 224], при этом лишь ряд из них к настоящему времени вызвал активный интерес исследователей.

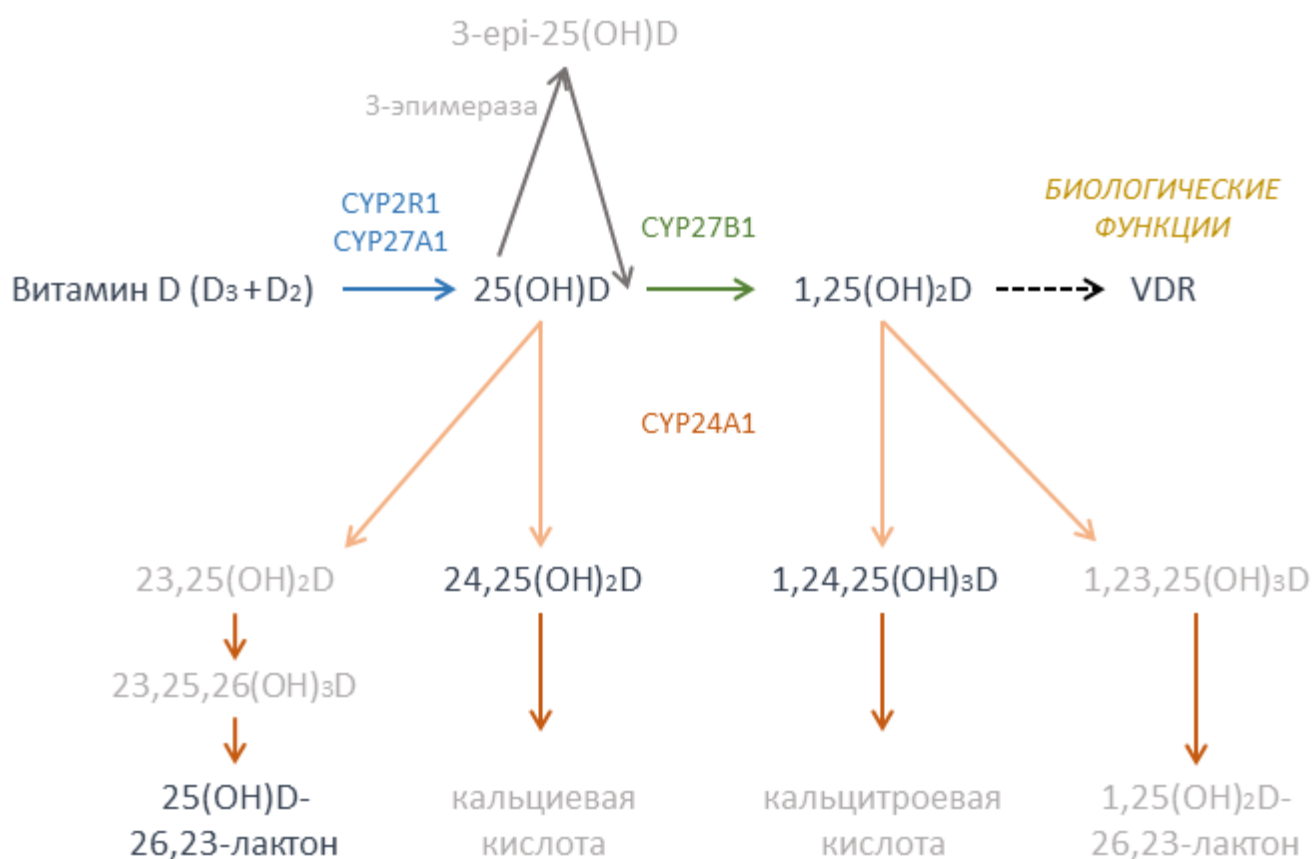


Рисунок 2. Схема основных этапов метаболизма витамина D (адаптировано из [4, 35, 121]). VDR – рецептор витамина D

VDR является членом семейства ядерных рецепторов и обеспечивает влияние витамина D на транскрипцию генов, промотеры которых имеют специфические ДНК-последовательности (витамин D-чувствительные элементы). При связывании 6-*s*-транс изомера 1,25(OH) $_2$ D $_3$ с VDR происходят изменения конформации последнего, способствующие его гетеродимеризации с X-ретиноидным рецептором и последующему связыванию с витамин-D чувствительным элементом ДНК и коактиваторами. Приведенный геномный механизм осуществляет регуляцию по меньшей мере 11 генов, кодирующих

факторы регуляции гомеостаза минерального обмена и костной ткани (кальциевый канал TRPV6, участвующий во всасывании кальция в кишечнике; остеоопонтин, остеокальцин, RANKL и другие), а также не менее 300 генов, влияющих на клеточный цикл, иммунитет и метаболизм. С другой стороны, ряд эффектов витамина D наступает слишком рано для того, чтобы их можно было связать с изменением транскрипции; кроме того, антагонисты лиганда геномного ответа (6-*s*-транс изомера) не оказывают противодействие данным эффектам. Примерами таких быстрых эффектов являются процесс транскальтахии (быстрая стимуляция кишечной абсорбции кальция), открытие потенциал-зависимых каналов хлора и экзоцитоз в культуре мышинных остеобластов, открытие быстрых каналов кальция и хлора в культуре мышинных клеток Сертоли, а также описанные в экспериментах секреция инсулина панкреатическими β -клетками крыс и влияние на скорость миграции человеческих эндотелиальных клеток [108]. Предполагаемый мембранный рецептор для $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ мембран-ассоциированный стероид-связывающий белок быстрого ответа, $1,25\text{D-MARRSBP}$, также известный как ERp57) был впоследствии выделен из кишечника, клонирован и секвенирован [164]. Нужно отметить, что некоторые из вышеописанных быстрых эффектов активной формы витамина D не были продемонстрированы в клетках мышей, нокаутированных по гену *VDR*, что позволяет предположить, что *VDR* может быть необходим для экспрессии и/или осуществления функции мембранного рецептора либо сам по себе являться мембранным рецептором. В других клетках для реализации этих быстрых эффектов витамина D необходимы как $1,25\text{D-MARRSBP}$, так и *VDR* [159, 200]. Наконец, предполагается, что *VDR* способен взаимодействовать с белками цитоплазмы, будучи несвязанным с активной формой витамина D. В частности, таким образом происходит влияние на сигнальный путь Wnt/ β -катенина. Показано, что *VDR*, выступая в качестве лиганда для β -катенина, снижает активность последнего как транскрипционного фактора [173].

В отсутствие приема соответствующих добавок, сывороточные концентрации витамина D_2 и его метаболитов как правило очень низкие в сравнении с витамином D_3 . Витамин D_2 проходит идентичные этапы активации с

образованием $1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ [122, 196]. В силу отличий в строении боковой цепи витамин D_2 обладает меньшим сродством к витамин D-связывающему белку (DBP), быстрее выводится из кровотока, ограничен в конверсии в 25-гидроксивитамин D (по крайней мере некоторыми из 25-гидроксилаз) и иначе катаболизируется; однако, аффинность $1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ к VDR сравнима с аффинностью $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [35].

Основным транспортным белком для всех метаболитов витамина D является DBP: в норме около 85% циркулирующих в кровотоке метаболитов связаны с DBP, тогда как альбумин связывает практически 15% оставшихся метаболитов, и менее 1% метаболитов находится в кровотоке в несвязанном виде [211]. В отличие от альбумина, который имеет несколько низкоаффинных сайтов связывания, DBP имеет только один сайт связывания для всех метаболитов, расположенный в домене А. DBP является слабogliкозилированным (0,5–1%) $\alpha 2$ -глобулином с молекулярной массой 52–59 кДа. Ген, кодирующий DBP, относится к мультигенному кластеру, который также включает гены, кодирующие альбумин, α -фетопроtein и α -альбумин/афамин, и расположен на длинном плече хромосомы 4 в локусе 4q11-q13; все 4 гена экспрессируются преимущественно в печени и имеют гомологичную трехдоменную структуру, предположительно возникшую в результате триплекции 192-аминокислотной последовательности в генопредшественнике [49, 184, 209]. Для DBP характерно большое количество полиморфизмов. Три самых распространенных аллеля DBP (DBP1F, DBP1S, DBP2) определяются полиморфизмами rs7041 и rs4588; помимо этого, описано более 120 вариантов DBP [68, 160]. DBP является острофазным белком сыворотки крови и повышается при инфекционных процессах или небольших травмах [73, 74]. При значительной травме (например, перелом бедра) или тяжелом состоянии (например, у реанимационных пациентов) может наблюдаться снижение DBP более чем на 10%; точный патогенез этого явления не вполне ясен [48]. Небольшое влияние на концентрацию DBP в сыворотке крови оказывает генотип DBP: у гомозигот с генотипом DBP2 уровни DBP ниже примерно на 10% по сравнению с носителями DBP1 [46].

Большинство исследований, посвященных изучению аффинности различных метаболитов витамина D к DBP, указывают на то, что для 25(OH)D-лактонов характерна самая высокая аффинность, также достаточно высокая — для 25(OH)D ($\sim 1,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ при температуре 37°C), 24R,25(OH)₂D и 25S,26(OH)₂D; аффинность DBP к 1,25(OH)₂D примерно в 10–100 раз меньше, чем к 25(OH)D, и, наконец, минимальная аффинность наблюдается к нативному витамину D. Между метаболитами D₃ и D₂ отмечены небольшие различия в аффинности — до 20% различий между 25(OH)D₃ и 25(OH)D₂. Имеющиеся на настоящий момент данные позволяют предположить, что генотип DBP не оказывает значимого влияния на аффинность к 25(OH)D [48].

Концентрация DBP в кровотоке в разы больше, чем сумма всех метаболитов витамина D: референсный диапазон DBP лежит в микромолярном интервале, тогда как концентрация основного метаболита витамина D (25(OH)D) в сыворотке крови, как правило, ниже 100 нмоль/л. В связи с этим, лишь небольшая фракция DBP (менее 5%) представлена комплексом DBP и метаболита витамина D, и практически весь DBP циркулирует как апопротеин; эта ситуация отлична от большинства остальных транспортных белков лигандов ядерных рецепторов. Такой значительный молярный избыток DBP может обеспечивать защиту от токсичности витамина D, позволяя DBP выполнять роль буфера для 25(OH)D, а также может быть связан с дополнительными функциями и физиологическими задачами DBP.

Так, было показано, что DBP является основным компонентом системы, утилизирующей актин — белок цитоскелета и сократительного аппарата мышечных волокон, в большом количестве поступающий в кровеносную систему при массивных повреждениях ткани и клеточной гибели. Полимеризованная форма актина (F-актин) в ассоциации с фактором коагуляции Va участвует в запуске синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), приводящего к полиорганной недостаточности [156]. Система утилизации внутриклеточного актина, состоящая из гельзолина и DBP, противостоит указанным процессам коагуляции: гельзолин разрезает и деполимеризует

филаменты актина, а DBP, обладая высокой аффинностью к глобулярному актину (G-актин), предотвращает его реполимеризацию [154, 231]. Комплексы G-актина и DBP быстро захватываются и утилизируются клетками печени, легких и селезенки [82]: период полувыведения связанного с актином DBP составляет около 30 минут, тогда как свободного DBP — 12–24 часа [73]. При острых состояниях отмечается падение концентрации DBP в сыворотке крови [146, 234] с повышением концентрации комплексов актина и DBP [74, 139, 193, 235]. Способность к повышению уровня DBP в ответ на травму коррелирует с выживанием [74, 135].

DBP способен связывать жирные кислоты, но поскольку, в отличие от альбумина, имеет единственный сайт связывания и более низкую аффинность, его роль в транспорте жирных кислот представляется ограниченной [56, 212].

DBP содержит 474 аминокислоты, из которых 16 N-концевых аминокислот функционируют как сигнальный пептид. DBP может быть гликозилирован в разной степени в зависимости от генотипа [186]. Было высказано предположение, что паттерн гликозилирования является структурной основой для реализации DBP способности к активации макрофагов [162, 183]. Кроме того, DBP играет важную роль в работе иммунной системы, участвуя в комплемент-опосредованном привлечении нейтрофилов при воспалении. Комплекс, состоящий из DBP, CD44 (гликопротеин, расположенный на клеточной мембране нейтрофилов и обладающий функцией мембранного рецептора) и аннексина A2, способен усиливать эффекты компонентов комплемента — хемоаттрактантов: C5a и его стабильной формы, не имеющей C-концевого аргинина (C5a дез-Арг) [79, 155]. C5a дез-Арг в 100 раз менее активный хемоаттрактант, чем C5a, однако в присутствии DBP приобретает сопоставимую активность [129, 175].

Значения свободных 25(OH)D и 1,25(OH)₂D могут быть рассчитаны на основании концентрации транспортных белков (DBP и альбумина) и аффинности метаболитов к ним [37]; концентрация свободного 25(OH)D может также быть измерена напрямую, для чего первоначально использовался метод ультрафильтрации [36], однако в последующем на смену ему пришел ИФА [110]. Данный метод, как и в случае с общим 25(OH)D, не позволяет достоверно

разделить $25(\text{OH})\text{D}_2$ и $25(\text{OH})\text{D}_3$, что, в свою очередь, чаще всего не представляет серьезной проблемы, поскольку в большинстве случаев преобладающим метаболитом является $25(\text{OH})\text{D}_3$.

В норме отмечена сильная положительная корреляция между измеренным напрямую и расчетным свободным $25(\text{OH})\text{D}$, а также обеих величин с общим $25(\text{OH})\text{D}$ [166, 167]. Что касается взаимосвязи с состоянием костного и минерального обмена, в работе 2011 г. было впервые продемонстрировано, что свободный $25(\text{OH})\text{D}$ и родственный ему по концепции биодоступный $25(\text{OH})\text{D}$, представляющий собой сумму свободного и связанного с альбумином $25(\text{OH})\text{D}$, имели лучшую ассоциацию с МПК у человека, чем общий уровень $25(\text{OH})\text{D}$ в сыворотке [179]. Позже эта группа авторов представила еще одну работу, в которой биодоступный $25(\text{OH})\text{D}$ имел более выраженную прямую связь с уровнем альбумин-скорректированного кальция сыворотки крови и обратную связь с ПТГ по сравнению с показателями общего $25(\text{OH})\text{D}$ [32]. Результаты последующих работ продемонстрировали противоречащие результаты в отношении взаимосвязи свободного $25(\text{OH})\text{D}$ с уровнями ПТГ в сыворотке и МПК. Например, Jemielita и соавт. сообщили, что у 304 взрослых ни общий, ни свободный $25(\text{OH})\text{D}$ в сыворотке крови не были ассоциированы с МПК, оцененной с помощью рентгенденситометрии или количественной компьютерной томографии (КТ) [119]. Напротив, в работе Alvan сравнивались корреляции между свободным и общим $25(\text{OH})\text{D}$ в сыворотке с МПК и составными показателями силы шейки бедра, при этом более высокие уровни свободного $25(\text{OH})\text{D}$ имели умеренную положительную корреляцию с показателями МПК в трех отделах (поясничный отдел позвоночника, шейка бедра, проксимальный отдел бедренной кости в целом) и прочностью шейки бедра, но общий $25(\text{OH})\text{D}$ не продемонстрировал такой корреляции [25]. С другой стороны, Michaelsson и соавт. сообщили, что у женщин из Швеции (средний возраст 68 лет) более высокий уровень общего, но не свободного $25(\text{OH})\text{D}$ в сыворотке был ассоциирован с большей МПК [158]. При анализе 155 пациентов, в том числе 24 больных циррозом печени и 20 беременных женщин, Schwartz и соавт. сообщили, что как свободный, так и общий уровень

25(OH)D в сыворотке сходным образом обратно коррелировали с содержанием ПТГ в сыворотке [197]. В двух небольших интервенционных исследованиях (в одном 38 участников получали 500 000 МЕ витамина D₂ или D₃ в течение 10 недель [202], а в другом 35 участников получали ежедневно 2400 МЕ витамина D₃ или 20 мкг 25-гидроксивитамина D₃ [203]) Shieh и соавт. сообщили, что прирост свободного 25(OH)D был значимо ассоциирован со снижением уровня ПТГ в сыворотке в течение первых 8-10 недель приема препаратов (что соответствует периоду наиболее быстрого изменения уровней 25(OH)D в сыворотке крови), тогда как увеличение общего 25(OH)D не имело такой ассоциации. В когорте взрослых жителей Венгрии, обследованных в конце зимы, общий, но не свободный 25(OH)D обратно коррелировал с ПТГ [213]. При исследовании белых британцев и выходцев из Южной Азии также лишь общий, но не свободный 25(OH)D обратно коррелировал с ПТГ [100]. Суммируя вышесказанное, в настоящее время ведутся споры о том, является ли концентрация свободного 25(OH)D лучшим показателем «статуса» витамина D, чем общий 25(OH)D, учитывая, что на уровни DBP и, следовательно, на уровни общего 25(OH)D могут влиять заболевания печени, нефротический синдром, беременность и воспалительные состояния [38]. Вероятно, особое значение определение свободных метаболитов приобретает при состояниях, связанных с отклонениями от нормы концентрации DBP или его аффинности к лигандам.

1.3 Витамин D и акромегалия

Акромегалия — хроническое, прогрессирующее и потенциально летальное заболевание, основой патогенеза которого является наличие секретирующей соматотропный гормон (СТГ) аденомы гипофиза и, как следствие, повышение концентраций СТГ и инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) в кровотоке [5]. Акромегалическая остеопатия является одним из самых тяжелых осложнений акромегалии и характеризуется повышением костного обмена, нарушением костной микроархитектоники и высоким риском переломов позвонков. Переломы позвонков, диагностированные рентгенологически и морфометрически,

встречаются примерно у 1/3 пациентов с акромегалией и имеют тесную зависимость от продолжительности активного заболевания. Однако, прогнозирование переломов позвонков у пациентов с акромегалией все еще остается сложным вопросом, поскольку переломы могут возникать даже при нормальной МПК в силу многофакторности патогенеза акромегалической остеопатии [152].

Первые литературные данные, посвященные описанию характерных для пациентов с акромегалией особенностей метаболизма, датировались началом XX века и высказывали предположение о наличии задержки кальция и фосфора в организме [31]. Позже было продемонстрировано, что при активной акромегалии наблюдается повышенная реабсорбция фосфора в канальцах нефронов [57], а также показан стимулирующий эффект ИФР-1 в отношении натрий-фосфатного котранспорта на апикальной мембране в культуре клеток почек млекопитающих [118]. В последние годы рядом исследовательских коллективов было продемонстрировано повышение сывороточной концентрации фосфора при акромегалии, более того, уровень фосфора в сыворотке предлагается для рассмотрения в качестве маркера активности заболевания [241, 242].

Для объяснения гиперкальциемии, наблюдаемой у пациентов с акромегалией, предполагались различные версии: в некоторых исследованиях она сопровождалась увеличением абсорбции кальция в кишечнике [205], тогда как в работах других коллективов эта гипотеза не получила подтверждения [104, 161]. Некоторые исследователи рассматривают сопутствующую повышенную продукцию ПТГ в качестве основной причины гиперкальциемии [53]. Симптоматическая гиперкальциурия — еще одна состояние, часто ассоциированное с акромегалией [124, 137, 176, 229].

Уровни циркулирующей растворимой формы Klotho значимо повышены при акромегалии и возвращаются к норме вместе с уровнями СТГ и ИФР-1 после хирургического лечения [195, 214]. Белок Klotho действует как корецептор для FGF-23, тем самым опосредуя его почечные эффекты в отношении реабсорбции фосфатов и синтеза кальцитриола. FGF-23 противодействует СТГ, увеличивая

фосфатурию через подавление экспрессии натрий-фосфатного котранспортера 2а и 2с в проксимальных канальцах и уменьшая синтез кальцитриола в почках, но в то же время разделяет кальций-сохраняющие эффекты, увеличивая реабсорбцию кальция в дистальных почечных канальцах [165]. Активная акромегалия также ассоциирована с увеличением уровней биохимических маркеров костного обмена, которые снижаются при лечении заболевания [71, 174].

С 1980-х годов, с открытием метаболизма витамина D, были предприняты первые попытки связать известные при акромегалии отклонения в кальций-фосфорном обмене с нарушением синтеза и функции витамина D. В первых же работах, выполненных на скромных по объему выборках (15 и 14 пациентов соответственно), было продемонстрировано повышение циркулирующей концентрации активного метаболита витамина D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) при активной акромегалии [52, 83].

Было предположено, что данное повышение $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ может быть прямым эффектом избыточной продукции СТГ, что в последующем получило подтверждение в ряде экспериментальных работ, выполненных на животных моделях [89, 239], а также у здоровых добровольцев, получивших лечение препаратами СТГ [33, 50] и в клеточных культурах млекопитающих, подвергнутых воздействию СТГ либо ИФР-1 [70, 237]. Ассоциация повышенной продукции активного метаболита витамина D с гиперкальциемией и гиперкальциурией при акромегалии также описана в клинических случаях [149, 201, 223, 225].

В целом, данные относительно сывороточных уровней метаболитов витамина D при акромегалии довольно противоречивы. В нескольких исследованиях показана более низкая концентрация $25(\text{OH})\text{D}_3$ при активной акромегалии, чем в контрольной группе здоровых лиц [105, 116, 142], при этом также имеются данные об отсутствии различий или противоположных результатах по сравнению со здоровым контролем [24, 226], контрольной группой с неактивной аденомой гипофиза [71] и леченной акромегалией [34, 58, 71, 83, 105, 124, 142, 215]. Что касается других метаболитов витамина D, большинство исследований показывают более высокую концентрацию $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у пациентов с

акромегалией по сравнению со здоровыми людьми [52, 83, 142, 238], хотя отсутствие повышения $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ также было описано [71, 112]. Данные об изменении концентрации $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в ответ на лечение основного заболевания также противоречивы [34, 58, 71, 83, 92, 124, 142, 215, 238], однако большинство исследований продемонстрировало снижение $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у получивших лечение пациентов с акромегалией [34, 83, 124, 142, 215, 238]. Отдельные сообщения указывают на более высокую концентрацию основного неактивного метаболита ($24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) при акромегалии [142] и ее снижение во время лечения акромегалии [83, 142], в то время как некоторые исследования показали противоположные результаты [34, 226].

В двух исследованиях оценивались уровни DBP или свободного $25(\text{OH})\text{D}$ при акромегалии, при этом сообщалось о более высоком уровне DBP и более низком уровне свободного $25(\text{OH})\text{D}$ по сравнению с контрольной группой [24], а также об отсутствии снижения концентрации DBP при лечении акромегалии [92].

1.4 Витамин D и гиперкортицизм

В структуре этиологии эндогенного гиперкортицизма до 80% занимает БИК, которая развивается вследствие повышенной продукции адренокортикотропного гормона (АКТГ), происходящей из аденомы гипофиза. Низкоэнергетические переломы являются частым осложнением эндогенного гиперкортицизма и в том числе могут являться манифестирующим симптомом заболевания. Распространенность остеопороза при эндогенном гиперкортицизме, выявляемого по данным двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии или при развитии низкоэнергетического перелома, достигает 50% [169]. Экзогенные глюкокортикоиды используются для лечения широкого круга заболеваний, и, по оценкам, до 1-2% населения получают длительную терапию глюкокортикоидами. Как следствие, глюкокортикоидный остеопороз является наиболее частой вторичной причиной остеопороза [69]. Остеопороз у пациентов с гиперкортицизмом имеет сложный многофакторный патогенез,

характеризующийся низким метаболизмом костной ткани за счет преимущественного подавления костеобразования [151].

Препараты нативного витамина D и его активные метаболиты (такие как альфакальцидол) повсеместно рассматриваются в качестве базовых компонентов лечения остеопороза [2, 54]. Поиски оптимального лечения костных осложнений при хроническом избытке глюкокортикоидов спровоцировали изучение метаболизма витамина D при этом состоянии. Ранние исследования по этой теме были сосредоточены преимущественно на общем «статусе» витамина D (оцениваемом как концентрация 25(OH)D) и на сывороточном уровне активного метаболита витамина D (1,25(OH)₂D). Эти исследования показали противоречивые результаты, сообщая, что хронический избыток глюкокортикоидов снижает [62, 131, 140, 198], повышает [86, 103, 132] или не влияет [22, 72, 207] на уровни 25(OH)D или 1,25(OH)₂D. Вероятной причиной такого несоответствия могла быть высокая неоднородность исследуемых групп. Некоторые из этих исследований были выполнены на людях [22, 62, 86, 103, 131, 132, 198, 207], тогда как другие — на животных моделях [72, 140], и только в некоторых работах изучались объекты именно с эндогенным гиперкортицизмом [22, 72, 86, 132]. Только в двух исследованиях оценивались уровни как активного (1,25(OH)₂D), так и неактивного (24,25(OH)₂D) метаболитов витамина D при эндогенном гиперкортицизме. В одном из них не было контрольной группы, и результаты сообщали о низко-нормальном уровне 24,25(OH)₂D у пациентов с синдромом Кушинга [132]. Во втором исследовании, выполненном Corbee и соавт., в исследуемых группах собак независимо от наличия БИК или статуса гипофизэктомии были отмечены аналогичные циркулирующие концентрации 25(OH)D, 1,25(OH)₂D и 24,25(OH)₂D [72].

Было проведено несколько экспериментальных исследований для оценки влияния избытка глюкокортикоидов на активность ферментов, участвующих в метаболизме витамина D. В мышинных почках при лечении глюкокортикоидами увеличивалась экспрессия гена 24-гидроксилазы [227] и ее активность [20].

Повышенная экспрессия 24-гидроксилазы при воздействии дексаметазона была продемонстрирована в культурах остеобластов крыс и почечных клеток свиней, обработанных $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ [133]. Dhawan и Christakos показали, что $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -индуцированная транскрипция 24-гидроксилазы зависит от рецептора глюкокортикоидов [78]. Однако, в некоторых работах получены противоречащие данные. В частности, рецептор стероидов и ксенобиотиков (SXR), который активируется глюкокортикоидами [143], подавлял экспрессию 24-гидроксилазы в печени и кишечнике человека в работе Zhou и соавт. [245]. Подавление экспрессии 24-гидроксилазы глюкокортикоидами отмечено также в мозге и миокарде крыс, получавших глюкокортикоиды [120], а также в клетках остеосаркомы человека и в культуре остеобластов человека [244].

Принимая во внимание вышесказанное, на основании экспериментальных данных было высказано предположение, что ускорение катаболизма $25(\text{OH})\text{D}$ в присутствии избытка глюкокортикоидов может predispose к дефициту витамина D. Однако, сравнительно недавний мета-анализ исследований, оценивающих уровни $25(\text{OH})\text{D}$ у лиц, получающих длительную терапию глюкокортикоидами, показал, что концентрации $25(\text{OH})\text{D}$ в сыворотке у этих пациентов были субоптимальными и ниже, чем в контрольной группе здоровых людей, но сопоставимы с уровнями $25(\text{OH})\text{D}$ у лиц, имеющих аналогичные заболевания, но не принимавшими стероиды [76].

Для глюкокортикоидов также известно влияние на гомеостаз кальция и фосфора. В частности, было показано, что они снижают всасывание в желудочно-кишечном тракте за счет антагонистического эффекта в отношении витамина D, заключающегося в снижении экспрессии генов белков, участвующих в транспорте кальция (эпителиального кальциевого канала TRPV6 и кальций-связывающего белка кальбиндин- $\text{D}_{9\text{K}}$) [115]. Глюкокортикоиды также увеличивают фракционную экскрецию кальция из-за опосредованного минералокортикоидными рецепторами действия на эпителиальные натриевые каналы [85]. Гиперкальциурия широко распространена у лиц с БИК [84]. Эти эффекты могут потенциально привести к отрицательному балансу кальция, однако у людей и собак с гиперкортицизмом

отмечен сопоставимый ионизированный кальций в плазме по сравнению с контрольными субъектами [86, 182]. Под воздействием избытка глюкокортикоидов снижается реабсорбция фосфора в почечных канальцах за счет подавления канальцевой экспрессии натрий-фосфатного котранспортера, в результате чего увеличивается фосфатурия [93], что сопровождалось снижением сывороточного уровня фосфора у людей [86].

1.5 Заключение по обзору литературы

В целом, данные проведенных к настоящему времени исследований противоречивы в отношении клинической значимости определения спектра метаболитов витамина D, свободного 25(OH)D и DBP, в связи с чем нуждаются в уточнении. Данные предыдущих исследований не позволяют сделать однозначный вывод о характере нарушений метаболизма витамина D при акромегалии и их клинической значимости, а текущие сведения о состоянии метаболизма витамина D при избытке глюкокортикоидов весьма скудны. Ранее выполненные исследования были очень разнородными по дизайну, в некоторых отсутствовала контрольная группа, и абсолютное большинство исследований было выполнено до введения стандартизации измерения витамина D. Кроме того, к сегодняшнему дню не проводилось проспективных исследований, оценивающих негативное влияние нарушений метаболизма витамина D при акромегалии и гиперкортицизме на эффективность терапии витамином D. Тем не менее, определение оптимальной схемы лечения витамином D для этих пациентов весьма актуально ввиду тяжелых костных осложнений заболеваний и повышенного риска переломов, в связи с чем более углубленное изучение этапов и механизмов нарушения метаболизма витамина D может способствовать разработке специфических клинических рекомендаций.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

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 в соответствии с рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов [13]. 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.

В ходе проспективной части исследования все участники приняли однократно 150 000 МЕ колекальциферола перорально в форме водного раствора (Аквдетрим®, 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 (среди них 1 человек входил в группу исходного выраженного дефицита витамина D, 3 человека – в группу нормальных исходных значений витамина D, по 2 человека в группы сравнения для пациентов с акромегалией и БИК) и 4 пациента с акромегалией. На рисунке 3 схематично изображен дизайн работы.

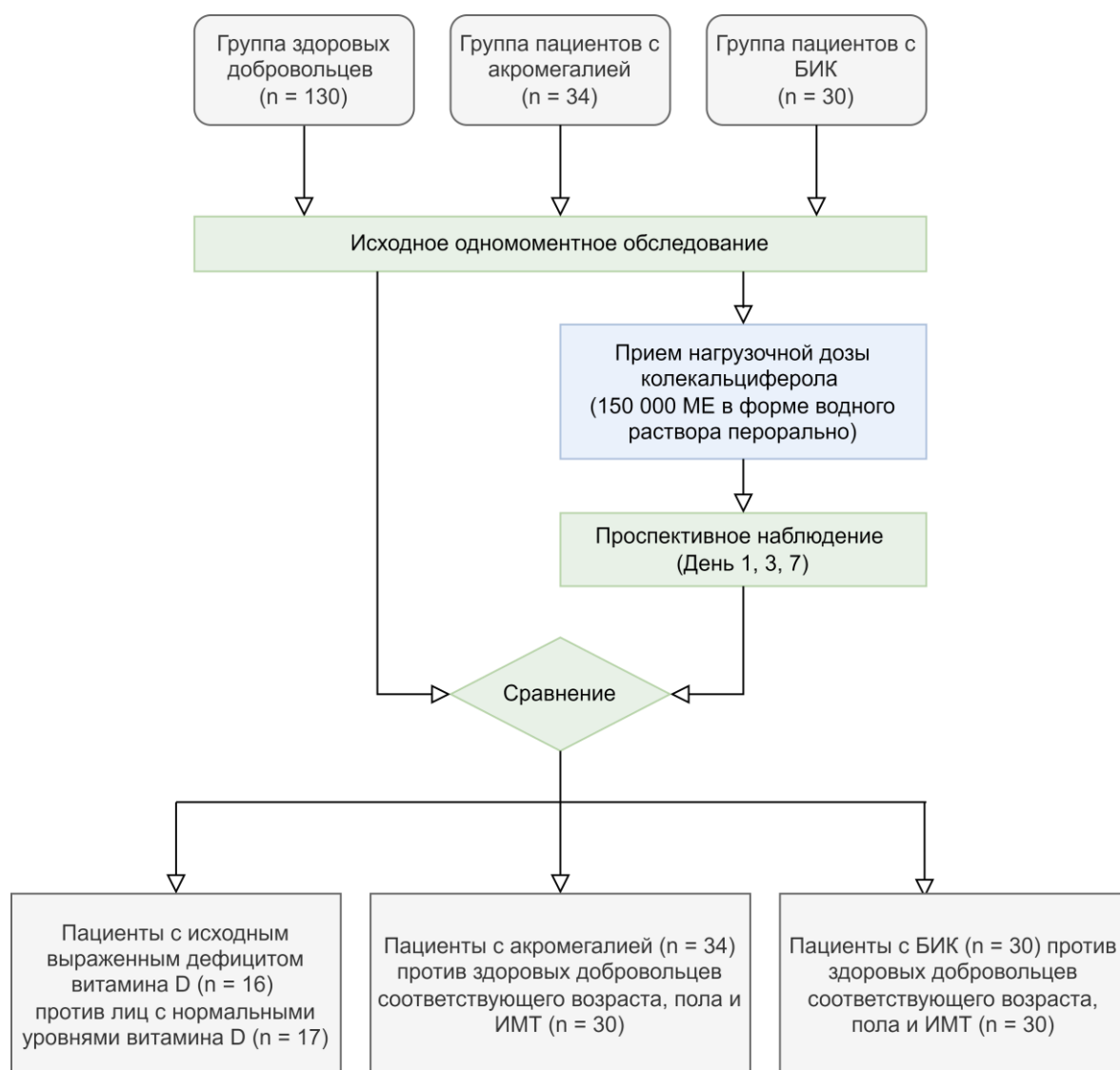


Рисунок 3. Дизайн исследования. БИК – болезнь Иценко-Кушинга, ИМТ – индекс массы тела

2.2 Условия проведения

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.

Исследование метаболитов витамина D выполнено в лаборатории метаболомных исследований ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.х.н. В.А. Иоутси).

ИФА, гормональные и биохимические исследования проводились в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.м.н. Л.В. Никанкина).

Магнитно-резонансная томография (МРТ) проводилась в отделении лучевой диагностики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (руководитель – д.м.н., проф. А.В. Воронцов).

Селективный забор крови из нижних каменистых синусов выполнялся на васкулярной рентгеновской системе визуализации для инвазивных и диагностических процедур AlluraXper FD20 (Philips Medical Systems Nederland B.V., Нидерланды) (сосудистый хирург – д.м.н. И.И. Ситкин).

2.3 Критерии соответствия

Критерии включения

Пациенты с акромегалией: возраст от 18 лет включительно до 60 лет; активная фаза акромегалии, подтвержденная в соответствии с федеральными клиническими рекомендациями [5]: характерные клинические проявления, повышение ИФР-1 (согласно возрастному референсному интервалу (РИ)) и отсутствие подавления секреции СТГ менее 1,0 нг/мл в ходе перорального глюкозотолератного теста (ПГТТ). 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 [9]. 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 (НПТ) с 1 мг дексаметазона. Диагноз БИК устанавливался на основании утреннего уровня АКТГ ≥ 10 пг/мл, а также визуализированной аденомы гипофиза размером ≥ 6 мм при МРТ 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/м²); беременность и период грудного вскармливания; наличие в анамнезе гранулематозного заболевания, хронической печеночной недостаточности, синдрома мальабсорции; снижение функции почек (рСКФ по EPI менее 60 мл/мин/1,73 м²); выраженная гиперкальциемия (концентрация общего кальция сыворотки крови более 3,0 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.

2.4 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 (приверженность курению, 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 УФ-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.

Масса тела измерялась в легкой комнатной одежде с помощью медицинских весов с точностью до 100 г, рост измерялся с помощью настенного стадиометра с точностью до сантиметра. ИМТ рассчитывался как отношение массы тела (кг) к возведенному в квадрат росту (м).

2.5 Методика забора биологического материала и проведения фармакологических проб

Забор крови из периферической вены выполнялся утром натощак в промежутки 8:00–10:00, за исключением определения уровня вечернего кортизола. Образцы подвергались центрифугированию (лабораторная центрифуга Eppendorf 5810R с комплектом роторов A-4-81, Ф-4-81-МТР/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 DBP, свободного 25(ОН)D и метаболитов витамина D (2 аликвоты).

Забор вечерних образцов венозной крови для определения кортизола проводился в 23:00 только у пациентов с БИК на стационарном лечении.

Для выполнения биохимических исследований мочи использовалась средняя порция первой утренней мочи.

Сбор суточной мочи для определения свободного кортизола проводился обследуемыми самостоятельно в единую емкость строго в течение 24 часов, начиная со 2-й порции с утра и заканчивая 1-й порцией на следующий день. После перемешивания и измерения общего объема мочи образец объемом 50-100 мл доставлялся в лабораторию. Обследуемым было рекомендовано соблюдать обычный питьевой режим, при этом исключались (по возможности) диуретики и другие препараты, способные повлиять на концентрацию кортизола в моче.

Сбор слюны осуществлялся обследуемыми самостоятельно с помощью специальной системы Salivette Sarstedt в вечернее время (23:00). Пациенту настоятельно рекомендовалось не принимать пищу, не курить, не чистить зубы и не употреблять напитков, за исключением простой воды, в течение не менее 30 минут (спиртные напитки – не менее суток) до сбора слюны. После сбора слюны пробирка помещалась в холодильник при температуре +2 – +8°C.

НПТ с 1 мг дексаметазона проводился стандартным способом: после приема пациентом 2 таблеток дексаметазона по 0,5 мг внутрь в 23:00 на следующее утро натощак (в 8:00-9:00) производился забор крови на кортизол. При уровне кортизола в сыворотке ≤ 50 нмоль/л тест считался положительным (эндогенный гиперкортицизм исключался), > 50 нмоль/л – отрицательным (нельзя исключить наличие эндогенного гиперкортицизма) [9, 168].

Селективный забор крови из нижних каменистых синусов на фоне стимуляции десмопрессином выполнялся в соответствии с общепринятым протоколом [87, 144].

Проба с подавлением СТГ на фоне ПГТТ также проводилась стандартно: у пациента натощак производился забор крови на СТГ, после чего он принимал внутрь 82,5 г раствора моногидрата глюкозы (эквивалентно 75 г чистой безводной глюкозы) в 200 мл воды. Затем повторялся забор крови для анализа на СТГ через

30, 60, 90 и 120 мин. Акромегалия исключалась при подавлении СТГ $<1,0$ нг/мл в любой из точек, кроме базальной, и подтверждалась при отсутствии подавления СТГ $<1,0$ нг/мл во всех точках [5, 125].

2.6 Лабораторные методы исследования

ИФР-1 (возраст-специфический РИ для мужчин 18–20 лет: 119–511 нг/мл; 21–24 лет: 105–364 нг/мл; 25–39 лет: 82–283 нг/мл; 40–54 лет: 62–230 нг/мл; старше 55 лет: 16–245 нг/мл; для женщин 18–20 лет: 109–479 нг/мл; 21–24 лет: 102–351 нг/мл; 25–39 лет: 78–311 нг/мл; 40–54 лет: 51–271 нг/мл; старше 55 лет: 17–238 нг/мл), СТГ (РИ для мужчин: 0,02–1,23 нг/мл; для женщин: 0,06–6,9 нг/мл) и общий 25(ОН)D (25(ОН)D₂ + 25(ОН)D₃; РИ 30–100 нг/мл) определялись иммунохемилюминесцентным методом (Liaison, DiaSorin, Италия).

ПТГ (РИ 15–65 пг/мл), утренний АКТГ (РИ 7–66 пг/мл), кортизол после НПТ с 1 мг дексаметазона (отрезная точка для подавления 50 нмоль/л [9, 168]), кортизол в слюне в 23:00 (РИ 0,5–9,4 нмоль/л), а также свободный кортизол в суточной моче с предварительной экстракцией хлористым метиленом (РИ 60–413 нмоль/24 часа) оценивались электрохемилюминесцентным методом на анализаторе Cobas 6000 Module e601 (Roche, Швейцария). Гликированный гемоглобин (HbA1c; РИ 4,0–6,0 %) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на автоматическом анализаторе D10 (BioRad Laboratories, США) с использованием наборов того же производителя по стандартной методике; метод сертифицирован NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program). Биохимические показатели оценены на аппарате ARCHITECT c8000 (Abbott, США) с использованием реактивов того же производителя согласно стандартной методике: сывороточные концентрации общего кальция (РИ 2,15–2,55 ммоль/л), фосфора (РИ 0,74–1,52 ммоль/л), креатинина (РИ 63–110 мкмоль/л для мужчин, 50–98 мкмоль/л для женщин), альбумина (РИ 35–50 г/л), магния (РИ 0,7–1,05 ммоль/л), а также концентрация в разовой порции мочи кальция (РИ 1,7–5,3 ммоль/л), фосфора (РИ 12,9–43,9 ммоль/л) и креатинина (РИ 2470–19200 мкмоль/л). Для нивелирования вариабельности концентрации разовой порции мочи дополнительно

рассчитывалось кальций–креатининовое соотношение (РИ 0,1–0,8 ммоль/ммоль) и фосфор–креатининовое соотношение (РИ 1,4–3,5 ммоль/ммоль). Поправка концентрации кальция в сыворотке на альбумин выполнялась по формуле: общий кальций сыворотки (ммоль/л) = измеренный общий кальций сыворотки (ммоль/л) + $0,02 \times (40 - \text{измеренный альбумин сыворотки (г/л)})$ [221].

Концентрации метаболитов витамина D₃ (25(OH)D₃, 3-epi-25(OH)D₃, 24,25(OH)₂D₃ и 1,25(OH)₂D₃), а также 25-гидроксивитамина D₂ (25(OH)D₂) в сыворотке крови были определены с помощью ВЭЖХ-МС/МС; отдельные РИ для 25(OH)D₃ и 25(OH)D₂ не разработаны, РИ для суммы показателей ≥ 30 нг/мл определен на основе клинических рекомендаций Российской ассоциации эндокринологов и Endocrine Society [13, 114]; 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 на основе более ранних публикаций других исследовательских групп [81, 218] 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 PTAD (4-фенил-1,2,4-триазалин-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. Мониторируемые реакции фрагментации указаны в Таблице 3.

Таблица 3. Основные мониторируемые реакции при анализе метаболитов витамина D.

Соединение	Q1, Да	Q3, Да	DP, В	CE, В	CXP, В
24,25(OH) ₂ D ₃	592,3	298,2	145	27	33
	592,3	161,2	145	54	16
24,25(OH) ₂ D ₃ -d ₆	598,5	298,2	155	27	31
1,25(OH) ₂ D ₃	592,3	314,2	130	26	36
	574,3	314,2	240	24	39
1,25(OH) ₂ D ₃ -d ₆	598,5	314,2	145	25	38
25(OH)D ₃	558,4	161,1	225	65	18
3-epi-25(OH)D ₃	558,4	298,3	225	40	36
25(OH)D ₃ -d ₆	564,4	298,2	230	30	34

3-epi-25(OH)D ₃ -d ₃	561,4	301,1	235	40	35
25(OH)D ₂	605,4	298,2	108	50	32
	605,4	161,1	108	42	19

Примечания: Q1 – quadrupole 1 mass; Q3 – quadrupole 3 mass; DP – declustering potential; CE – collision energy; CXP – collision energy exit potential.

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 ИФА с использованием коммерческих наборов в соответствии с рекомендациями производителей. Для набора, использованного при оценке уровня свободного 25(OH)D (DIAsource, ImmunoAssays S.A., Бельгия), производителем заявлена среднестатистическая погрешность метода $<6,2\%$ при концентрациях физиологического порядка (менее 18,4 пг/мл), предел холостой пробы, равный 1,5 пг/мл и предел обнаружения, равный 2,4 пг/мл. Для набора, использованного при оценке уровня DBP (Assaypro, США), производителем заявлена внутрилабораторная вариабельность, равная 6,2%, промежуточная вариабельность, равная 9,9%, и предел обнаружения, равный 0,06 мг/л.

Исходный уровень свободного 25(OH)D также оценен расчетным способом с использованием формулы, предложенной Bikle и соавт. [36, 37]. 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 $7 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$.

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

2.7 Инструментальные исследования

МРТ головного мозга проводилась на магнитно-резонансном томографе GE Optima MR450w 1,5T (США) с введением контрастных препаратов по показаниям.

2.8 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.

Этическая экспертиза

Локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу № 6 Заседания локального этического

комитета от 10.04.2019 г., постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Характеристика метаболизма витамина D среди здоровых добровольцев

Всего было обследовано 130 здоровых добровольцев, среди которых большую часть (75%) составили женщины молодого возраста без избыточной массы тела и значимой сопутствующей патологии, преимущественно без вредных привычек. У большинства участников отмечено низкое потребление молочных продуктов, а также недостаточная физическая активность в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [240]. Основные результаты клинического обследования данной группы представлены в Таблице 4.

Таблица 4. 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%)
Курильщики всего, n (%)	18 (14%)
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.

Результаты исходного биохимического обследования и определения уровней ПТГ представлены в Таблице 5.

Таблица 5. 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.

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

Распределение концентрации 25(OH)D₃ соответствовало закону нормального распределения при использовании критериев Shapiro-Wilk (p = 0,072) и Kolmogorov-Smirnov (p > 0,200) (рис. 4).

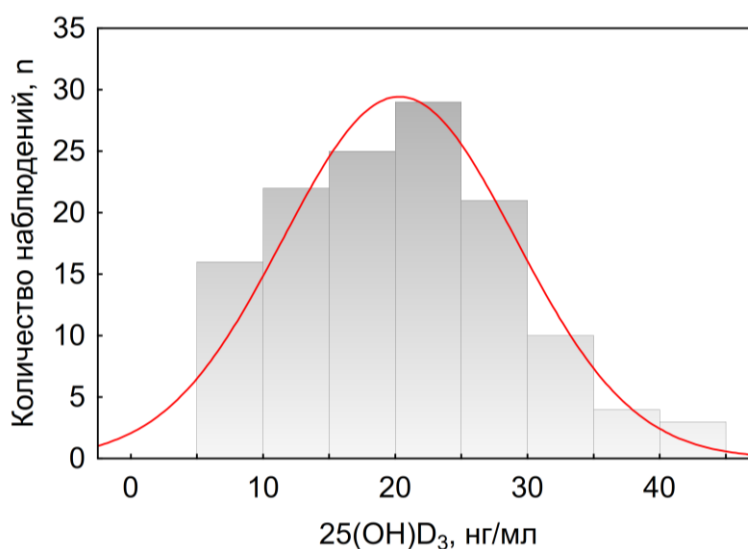


Рисунок 4. Распределение исходных значений 25(OH)D₃ среди здоровых добровольцев (n = 130)

Медиана 25(OH)D₃ составила 20,3 [12,5; 26,9] нг/мл, тогда как концентрации 25(OH)D₂ не превышали 0,5 нг/мл у всех исследуемых лиц. Результаты оценки взаимосвязи исходных значений 25(OH)D₃ у здоровых добровольцев с возрастом, полом и ИМТ, а также с другими оцениваемыми параметрами метаболизма витамина D представлены в Таблице 6.

Таблица 6. Взаимосвязь возраста, пола, ИМТ и оцениваемых параметров метаболизма витамина D с исходными значениями 25(OH)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(OH)D ₃ , нг/мл	1,2 [0,7; 1,7]	0,87	<0,001
1,25(OH) ₂ D ₃ , пг/мл	41 [36; 47]	0,16	0,066
24,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	1,6 [0,8; 2,4]	0,91	<0,001
25(OH)D ₃ /24,25(OH) ₂ D ₃	13,4 [10,9; 16,7]	-0,49	<0,001
25(OH)D ₃ /1,25(OH) ₂ D ₃	482 [312; 639]	0,75	<0,001
Свободный 25(OH)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.

При проведении простого регрессионного анализа не было выявлено зависимости исходного уровня 25(OH)D₃ от возраста, пола и ИМТ. Сильная линейная связь с 25(OH)D₃ обнаружена для 3-epi-25(OH)D₃ ($r^2 = 0,75$, $p < 0,001$), 24,25(OH)₂D₃ ($r^2 = 0,84$, $p < 0,001$) и свободного 25(OH)D ($r^2 = 0,72$, $p < 0,001$), а также, несколько менее сильная – для соотношения 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ ($r^2 = 0,56$, $p < 0,001$) (рис. 5). Для соотношения 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ наблюдалась слабая линейная взаимосвязь ($r^2 = 0,23$, $p < 0,001$), а для 1,25(OH)₂D₃ и DBP не было выявлено взаимосвязи. Расчетные уровни 24,25(OH)₂D₃ ниже РИ наблюдались при

значениях $25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 10,4 нг/мл, а расчетные уровни свободного $25(\text{OH})\text{D}$ ниже РИ – при значениях $25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 6,2 нг/мл.

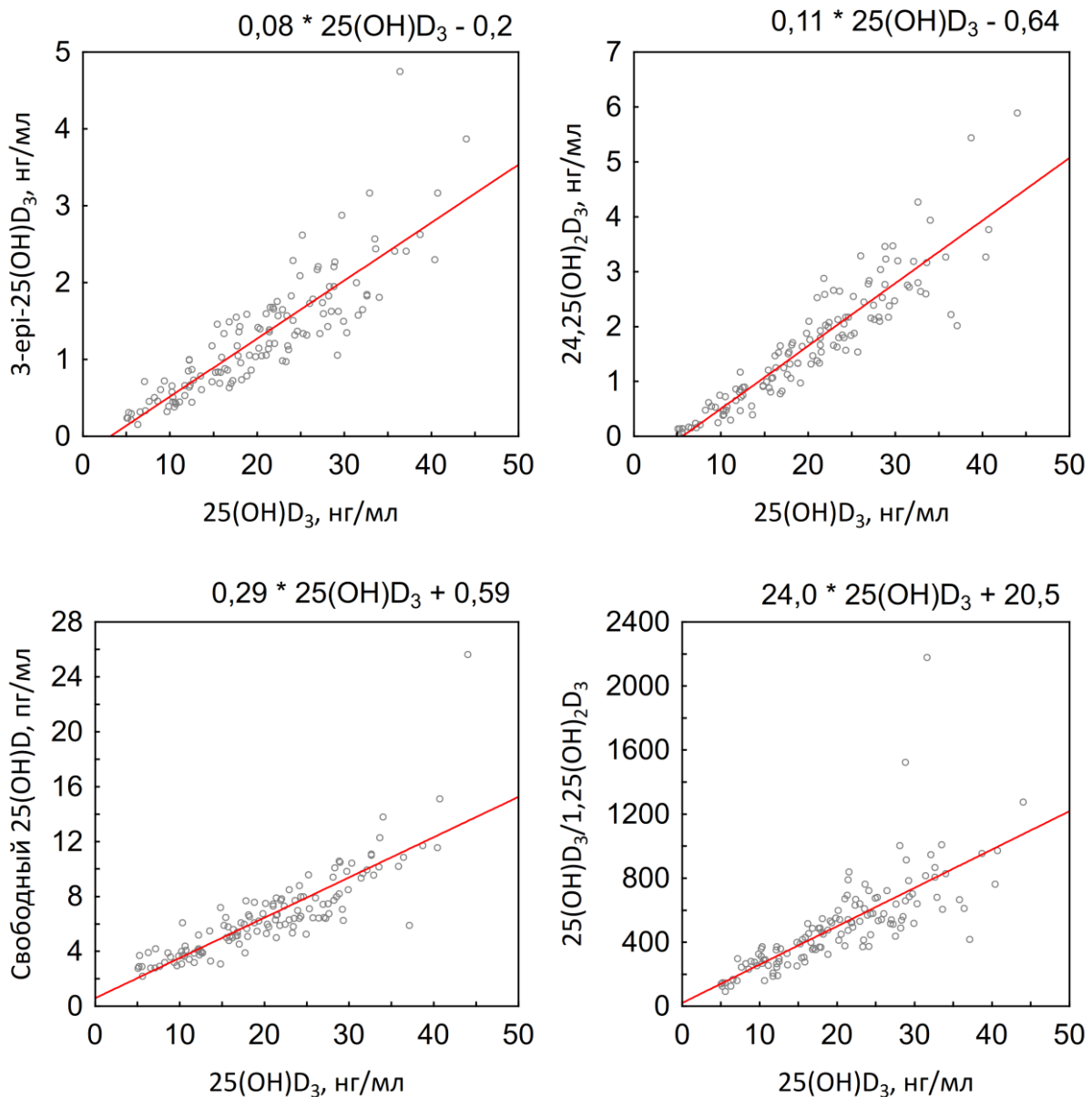


Рисунок 5. Графики зависимости уровней метаболитов витамина D (3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), свободного $25(\text{OH})\text{D}$ и соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ от концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ среди здоровых добровольцев (n = 130). Линейная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * x + b$; y – 3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ (слева сверху), $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (справа сверху), свободный $25(\text{OH})\text{D}$ (слева внизу), $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (справа внизу), x – $25(\text{OH})\text{D}_3$

Зависимость соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ от уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$ в лучшей степени описывалась уравнением экспоненциальной кривой ($r^2 = 0,56$, $p < 0,001$) (рис. 6), при этом расчетные значения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ выше РИ наблюдались при значениях $25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 9,2 нг/мл – для уравнения экспоненциальной кривой, и менее 13,1 нг/мл – для линейной модели.

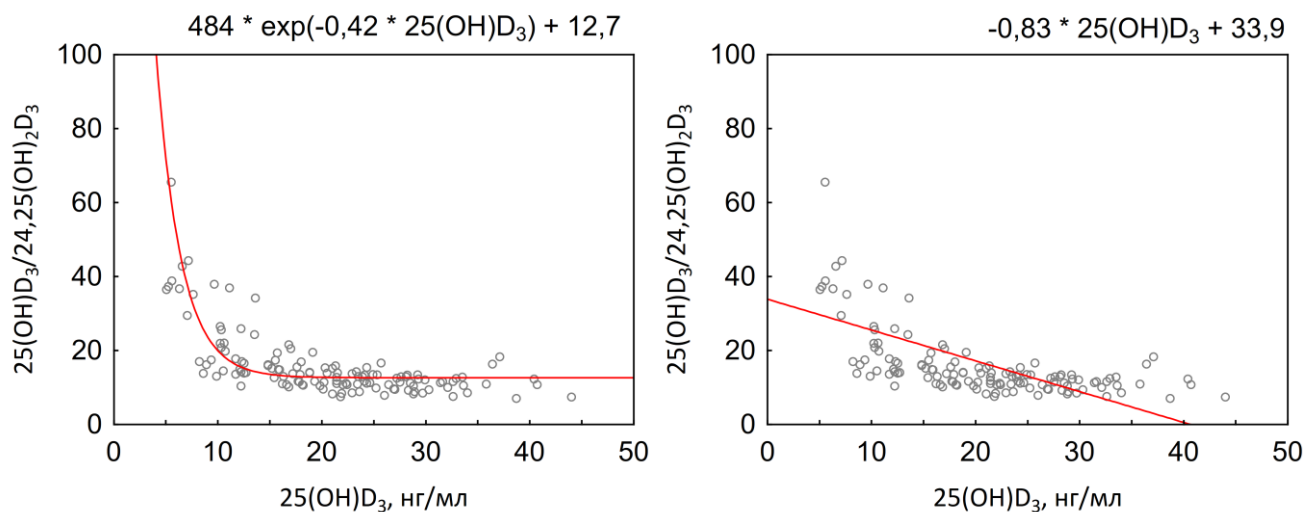


Рисунок 6. Графики зависимости соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ от уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$ среди здоровых добровольцев ($n = 130$). Слева – экспоненциальная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * \exp(b * x) + c$, справа – линейная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * x + b$; $y - 25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, $x - 25(\text{OH})\text{D}_3$

$24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 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. 7).

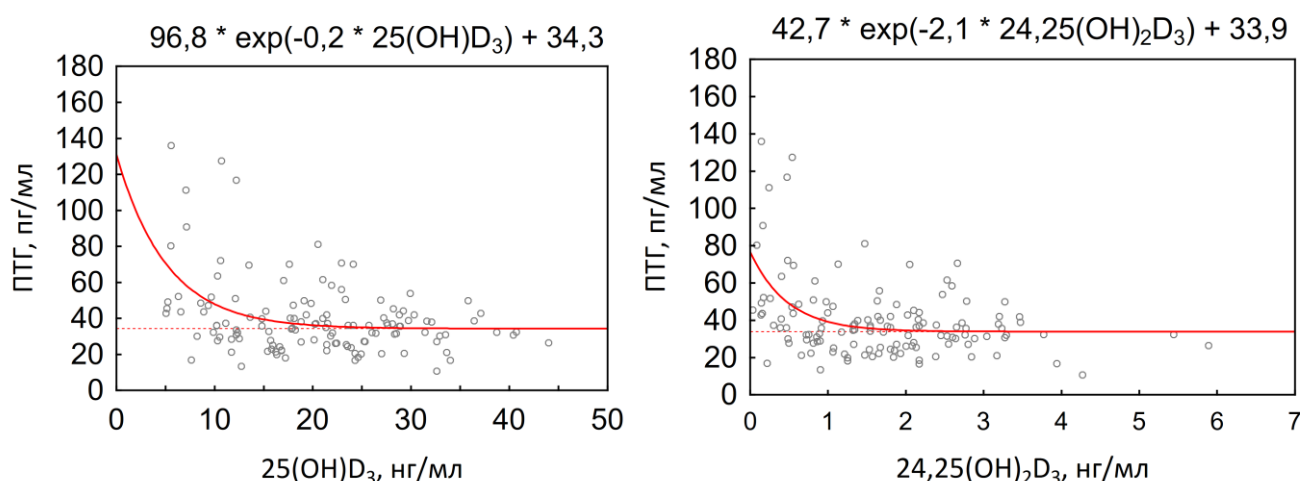


Рисунок 7. Графики зависимости концентрации ПТГ от уровня 25(OH)D₃ и 24,25(OH)₂D₃ среди здоровых добровольцев (n = 130). ПТГ – паратиреоидный гормон.

*Экспоненциальная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * \exp(b * x) + c$; y – ПТГ, x – 25(OH)D₃ (слева), 24,25(OH)₂D₃ (справа)*

Концентрации 25(OH)D₃ и 24,25(OH)₂D₃, 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(OH)D₃ и 33,9 пг/мл для 24,25(OH)₂D₃) + 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.

Результаты лабораторных исследований у здоровых добровольцев в динамике после приема 150 000 МЕ колекальциферола представлены в Таблице 7.

Таблица 7. Значения лабораторных показателей у здоровых добровольцев исходно и после приема колекальциферола.

Лабораторный параметр	День 0 n = 130	День 1 n = 129	День 3 n = 123	День 7 n = 122	P (Friedman ANOVA)	P (Wilcoxon) *
Кальций общий, ммоль/л	2,39 [2,34; 2,46]	2,41 [2,35; 2,46]	2,41 [2,36; 2,48]	2,39 [2,35; 2,45]	0,244	-
Кальций альбумин-скорректированный, ммоль/л	2,26 [2,21; 2,30]	2,27 [2,22; 2,33]	2,29 [2,24; 2,34]	2,28 [2,22; 2,33]	<0,001	P ₀₋₁ = 0,001, p ₁₋₃ = 0,071, p ₃₋₇ = 0,031, p ₀₋₃ <0,001, p ₀₋₇ = 0,024, p ₁₋₇ = 0,839
Фосфор, ммоль/л	1,14 [1,05; 1,26]	1,21 [1,08; 1,32]	1,22 [1,14; 1,32]	1,19 [1,10; 1,31]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ <0,001, p ₁₋₃ = 0,029, p ₃₋₇ = 0,017, p ₁₋₇ = 0,725, p ₀₋₇ = 0,014
ПТГ, пг/мл	36,0 [27,4; 44,2]	34,7 [25,5; 44,4]	30,6 [22,3; 40,4]	30,0 [23,3; 40,7]	<0,001	P ₀₋₁ = 0,174, p ₀₋₃ = p ₀₋₇ = p ₁₋₃ <0,001, p ₃₋₇ = 0,763, p ₁₋₇ = 0,009
Креатинин, мкмоль/л	69,9 [65,8; 74,6]	69,5 [65,2; 76,4]	69,7 [66,0; 76,1]	70,7 [65,5; 76,1]	0,784	-
Альбумин, г/л	47 [45; 48]	47 [44; 48]	46 [44; 48]	46 [45; 48]	0,032	P ₀₋₁ = 0,006, p ₁₋₃ = 0,074, p ₃₋₇ = 0,225, p ₀₋₃ <0,001, p ₀₋₇ = 0,033, p ₁₋₇ = 0,841
Магний, ммоль/л	0,81 [0,77; 0,84]	0,80 [0,76; 0,85]	0,80 [0,76; 0,83]	0,79 [0,75; 0,83]	0,022	P ₀₋₁ = 0,639, p ₁₋₃ = 0,078, p ₃₋₇ = 0,090, p ₀₋₃ = 0,051, p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₇ = 0,001
Кальций-креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	0,27 [0,11; 0,42]	0,31 [0,17; 0,47]	0,31 [0,16; 0,47]	0,35 [0,17; 0,55]	0,138	-
Фосфор-креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	1,8 [1,3; 2,6]	1,9 [1,1; 2,5]	1,7 [1,2; 2,4]	1,8 [1,2; 2,5]	0,117	-
Свободный 25(OH)D, пг/мл	6,2 [4,2; 7,7]	12,5 [9,5; 15,6]	15,4 [11,2; 19,4]	14,7 [10,6; 17,4]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ = p ₃₋₇ <0,001
DBP, мг/л	253 [217; 284]	262 [224; 303]	246 [216; 280]	264 [224; 292]	0,019	P ₀₋₁ = 0,251, p ₁₋₃ = 0,008, p ₃₋₇ = 0,078, p ₀₋₃ = 0,506, p ₀₋₇ = 0,356, p ₁₋₇ = 0,538

25(OH)D ₃ , нг/мл	20,3 [12,5; 26,9]	31,5 [27,0; 39,4]	36,5 [31,9; 44,7]	38,7 [33,1; 45,7]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ = p ₃₋₇ <0,001
3-epi-25(OH)D ₃ , нг/мл	1,2 [0,7; 1,7]	2,8 [2,1; 3,7]	4,0 [3,3; 5,2]	3,7 [3,1; 5,0]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ = p ₃₋₇ <0,001
1,25(OH) ₂ D ₃ , пг/мл	41 [36; 49]	48 [41; 56]	47 [40; 55]	47 [40; 55]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ = p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₃ = 0,891, p ₃₋₇ = 0,574, p ₁₋₇ = 0,283
24,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	1,6 [0,8; 2,4]	1,8 [1,2; 2,6]	2,8 [2,0; 3,6]	3,4 [2,4; 4,3]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ = p ₃₋₇ <0,001
25(OH)D ₃ /24,25(OH) ₂ D ₃	13,4 [10,9; 16,7]	17,5 [14,7; 22,2]	13,6 [11,2; 16,8]	11,9 [10,3; 14,6]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ = p ₃₋₇ <0,001, p ₁₋₃ = 0,871
25(OH)D ₃ /1,25(OH) ₂ D ₃	482 [312; 639]	676 [527; 823]	778 [647; 972]	844 [683; 986]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,061

Примечания: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. * Подстрочный индекс в р-значениях указывает дни лабораторных исследований, между которыми проводилось попарное сравнение. В этих сравнениях применялась поправка Бонферрони, и значение р менее 0,0083 считалось статистически значимым. ПТГ – паратиреоидный гормон; DBP – витамин D-связывающий белок.

После приема колекальциферола к 3-му дню наблюдалось клинически незначимое повышение сывороточных показателей, характеризующих кальций-фосфорный обмен (альбумин-скорректированного кальция и фосфора, $p_{0-3} < 0,001$), а также снижение уровней ПТГ ($p_{1-3} < 0,001$), альбумина к 3-му дню ($p_{0-3} < 0,001$) и магния к 7-му дню ($p_{1-7} = 0,001$). Исследуемые биохимические показатели мочи, а также сывороточные уровни общего кальция и креатинина оставались стабильными на протяжении периода наблюдения.

Что касается метаболитов витамина D, после приема колекальциферола мы наблюдали рост концентрации основного циркулирующего метаболита ($25(\text{OH})\text{D}_3$) на протяжении всего периода наблюдения ($p < 0,001$). Медиана прироста $25(\text{OH})\text{D}_3$ составила 19,8 [16,2; 23,3] нг/мл, к 7-му дню наблюдения 50 из 63 лиц (79%) с исходным дефицитом витамина D ($25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 20 нг/мл) и 48 из 50 лиц (96%) с недостаточностью витамина D ($25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 30 нг/мл и ≥ 20 нг/мл) достигли рекомендуемых значений (≥ 30 нг/мл). Уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ значительно повысились к первому дню наблюдения ($p_{0-1} < 0,001$), после чего сохранялись стабильными, тогда как концентрация $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ продолжала увеличиваться на протяжении периода наблюдения ($p < 0,001$) (рис. 8).

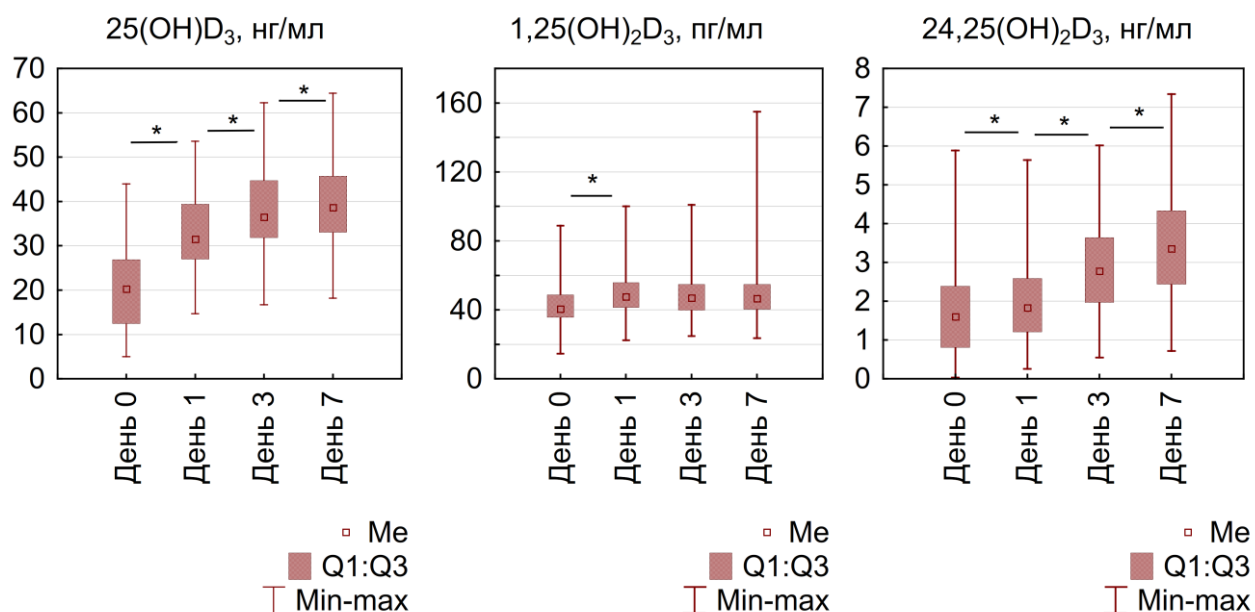


Рисунок 8. Динамика изменения основных метаболитов витамина D (25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ и 24,25(OH)₂D₃) среди здоровых добровольцев на протяжении периода наблюдения (n_{День 0} = 130, n_{День 1} = 129, n_{День 3} = 123, n_{День 7} = 122). * – значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

Значения свободного 25(OH)D и 3-epi-25(OH)D₃ увеличивались до 3-го дня наблюдения, после чего снизились к 7-му дню ($p < 0,001$), тогда как значения DBP снизились к 3-му дню ($p_{1-3} = 0,008$). При исследовании соотношений метаболитов витамина D значения 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ увеличились к 1-му дню, после чего снизились к 7-му дню, а уровни 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ увеличивались до 3-го дня ($p < 0,001$).

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 8.

Таблица 8. 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 стандартизированных 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 9).

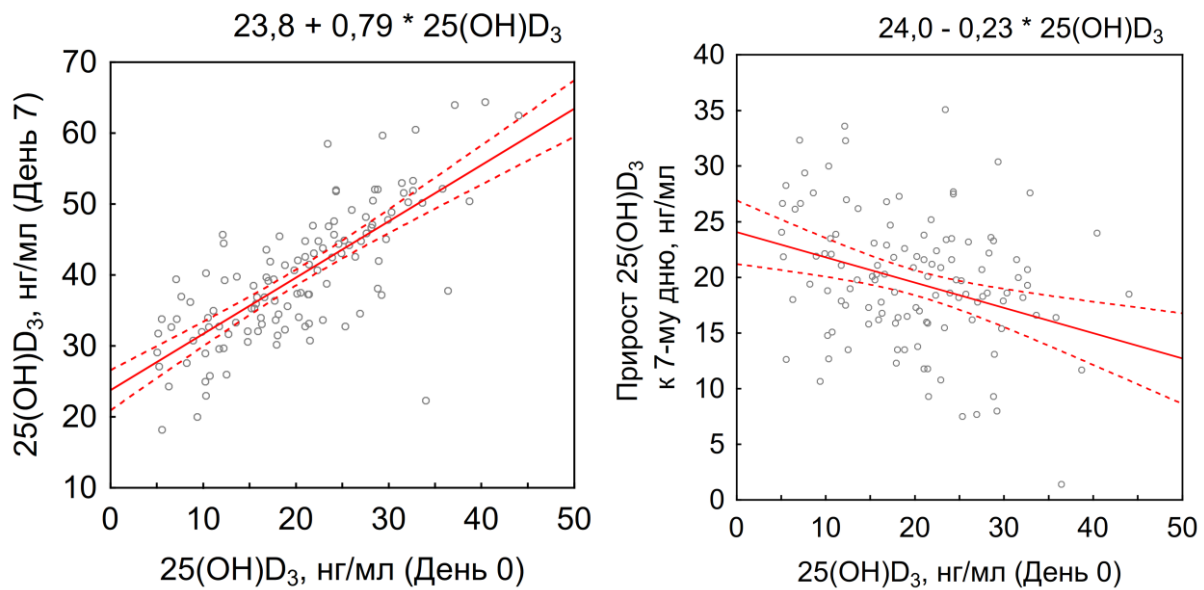


Рисунок 9. Зависимость концентрации 25(OH)D₃ на 7-й день наблюдения и прироста 25(OH)D₃ к 7-му дню наблюдения от исходной концентрации 25(OH)D₃ среди здоровых добровольцев (n = 122). *Линейная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * x + b$; y – 25(OH)D₃ (день 7) (слева), прирост 25(OH)D₃ к 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 $\Delta 25(OH)D_3$).

3.1.1 Обсуждение полученных результатов

Анализ взаимосвязей метаболитов витамина D продемонстрировал, что большинство показателей изменяются линейно в зависимости от концентрации основного циркулирующего метаболита 25(OH)D₃, кроме соотношения 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃, в лучшей степени характеризуемого экспоненциальной зависимостью, тогда как концентрация активного метаболита и основного

транспортного белка (DBP) не ассоциированы с уровнем 25(OH)D₃. Эти результаты в целом согласуются с более ранними литературными данными [126, 130, 192, 233, 236], однако впервые продемонстрированы на отечественной популяции. Для характеризующих метаболизм витамина D показателей с установленным РИ, расчетные отклонения от него наблюдались при уровнях 25(OH)D₃ равных 13,1 нг/мл и ниже, что свидетельствует о значимом изменении метаболизма витамина D в диапазоне его выраженного дефицита.

Полученная точка подавления избыточной секреции ПТГ для 25(OH)D₃, в целом, соответствовала значительной части ранее проведенных работ, согласно данным мировой литературы [191], а также оказалась близка к данным, полученным на тюменской выборке, где при использовании метода поиска изменения корреляционной зависимости ПТГ от уровня 25(OH)D получено пороговое значение, равное 23,6 нг/мл [16]. Поскольку концентрации 25(OH)D₂ у обследованных лиц оказались близки к неопределяемым, мы предполагаем возможным экстраполировать полученное значение на концентрации общего 25(OH)D, а также согласны с тем, что отдельное измерение концентрации 25(OH)D₂, вероятно, имеет клиническое значение преимущественно при использовании эргокальциферола с целью профилактики и лечения дефицита витамина D [199]. Нужно отметить, что в настоящей работе для данного анализа впервые в отечественной практике использовались значения витамина D, определенные хроматографическим методом, что позволило также рассчитать аналогичные точки подавления для 24,25(OH)₂D₃, продемонстрировавшего равнозначную способность в предсказании концентрации ПТГ. Полученные данные не представляется возможным полноценно транслировать на общую популяцию, учитывая ограниченную репрезентативность выборки, однако они характеризуют регуляцию уровней ПТГ в зависимости от содержания витамина D в организме среди молодых лиц. Кроме того, группа характеризовалась неоптимальным содержанием кальция в рационе, что также могло повлиять на полученные результаты. Использованный нами метод оценки точки подавления имеет существенное ограничение в виде высокой вариабельности результата в

зависимости от принимаемого верхнего порога концентрации ПТГ. Многообещающим является проведение дополнительных исследований с включением большего количества лиц и применением альтернативных методов анализа (в частности, кусочно-линейного регрессионного анализа).

Прием болюсной дозы колекальциферола в целом сопровождался снижением соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и увеличением соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, что свидетельствовало о преобладании катаболического пути над образованием активного метаболита витамина D и может быть рассмотрено в качестве механизма предотвращения токсичности витамина D. К сожалению, метаболиты витамина D не продемонстрировали лучшей предсказательной способности в отношении эффективности терапии болюсной терапии колекальциферолом по сравнению с исходным $25(\text{OH})\text{D}_3$, что согласуется с данными работы аналогичного дизайна Saleh и соавт., которые исследовали параметры метаболизма витамина D через 4 недели после приема 100 000 МЕ колекальциферола [192]. Тем не менее, учитывая данные работ аналогичной направленности с более длительным периодом наблюдения пациентов, получающих колекальциферол в ежедневном режиме, данные параметры требуют дополнительного изучения в контексте других режимов терапии колекальциферолом.

3.2 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 [13]. Половозрастная структура групп и ИМТ были сопоставимы между собой. Общая характеристика участников этого раздела исследования приведена в Таблице 9.

Таблица 9. Общая характеристика пациентов с исходным выраженным дефицитом витамина D и его нормальными значениями на исходных визитах.

Параметр	Выраженный дефицит (25(ОН)D <10 нг/мл) (n=16)	Норма (25(ОН)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.

Основные результаты клинического обследования, характеризующие образ жизни участников данной части исследования, отображены в Таблице 10.

Таблица 10. Характеристика образа жизни здоровых добровольцев с исходным выраженным дефицитом витамина D и нормальными значениями.

Параметр	Дефицит (n=16)	Норма (n=17)	P
Курильщики в настоящее время, n (%)	2 (12%)	1 (6%)	0,601
Курильщики всего, n (%)	3 (19%)	4 (24%)	1,000
Употребление алкоголя, единиц в неделю	0 [0; 1]	1 [0; 1,5]	0,201
Упражнения продолжительностью более 30 мин, в неделю	4 [1; 5]	3,5 [2,5; 5]	0,780
Употребление молочных продуктов, порций в день	1 [0,5; 1]	1 [0,5; 1]	0,446
Употребление мясных продуктов, порций в неделю	6 [4,5; 7]	4,5 [3; 5]	0,204
Употребление кофе, чашек в неделю	2,5 [1,5; 6,5]	5 [2; 8,5]	0,217
Употребление газированных напитков, мл в неделю	0 [0; 100]	150 [0; 1000]	0,110
Путешествие на юг, n (%)	1 (6%)	6 (35%)	0,085
Прогулки в дневное время в солнечную погоду, n	5 [0; 20]	10 [7; 20]	0,485
Использование солярия, n (%)	0	3 (18%)	0,227
Использование солнцезащитного крема, n (%)	6 (33%)	9 (53%)	0,491

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

Приверженность вредным привычкам, уровень физической активности, основные характеристики рациона, как и воздействие УФ-излучения были также сопоставимы в группах.

Результаты биохимических исследований и концентрации ПТГ в группах приведены в Таблице 11, результаты исследования свободного 25(OH)D, DBP и метаболитов витамина D в группах представлены в Таблице 12.

Таблица 11. Изменения уровней биохимических показателей и ПТГ у здоровых добровольцев с исходным выраженным дефицитом витамина D и целевыми значениями.

Лабораторный параметр	Группа	День 0 n _д = 16 n _н = 17	День 1 n _д = 16 n _н = 16	День 3 n _д = 16 n _н = 14	День 7 n _д = 15 n _н = 15	P (Friedman ANOVA)	P (Wilcoxon) **
Кальций общий, ммоль/л	Дефицит	2,38 [2,34; 2,44]	2,39 [2,36; 2,44]	2,36 [2,31; 2,45]	2,41 [2,36; 2,46]	0,245	-
	Норма	2,39 [2,34; 2,48]	2,41 [2,37; 2,46]	2,40 [2,34; 2,46]	2,41 [2,34; 2,49]	0,765	-
Кальций альбумин-скорректированный, ммоль/л	Дефицит	2,24 [2,18; 2,31]	2,25 [2,24; 2,31]	2,27 [2,20; 2,31]	2,28 [2,24; 2,35]	0,221	-
	Норма	2,26 [2,23; 2,30]	2,28 [2,23; 2,34]	2,29 [2,24; 2,32]	2,27 [2,20; 2,37]	0,159	-
Фосфор, ммоль/л	Дефицит	1,23 [1,15; 1,27]	1,21 [1,10; 1,29]	1,28 [1,18; 1,34]	1,24 [1,12; 1,36]	0,461	-
	Норма	1,10 [1,05; 1,25]	1,21 [1,02; 1,35]	1,19 [1,14; 1,25]	1,16 [1,09; 1,31]	0,544	-
ПТГ, пг/мл	Дефицит	48,0 [43,3; 66,3] *	43,0 [27,8; 59,9]	40,5 [27,4; 53,2] *	28,7 [24,7; 47,9]	0,003	P ₀₋₁ = 0,070, p ₁₋₃ = 0,352, p ₃₋₇ = 0,112, p ₀₋₃ = 0,008, p ₁₋₇ = 0,008, p ₀₋₇ = 0,002
	Норма	32,3 [27,1; 38,6]	33,2 [22,4; 37,8]	22,3 [18,3; 35,2]	31,6 [21,0; 35,8]	0,633	-
Креатинин, мкмоль/л	Дефицит	67,3 [64,2; 73,2]	65,8 [61,9; 71,1] *	66,9 [61,2; 70,3] *	66,8 [61,3; 72,3]	0,226	-
	Норма	71,5 [66,0; 83,2]	70,9 [67,2; 78,3]	69,8 [68,0; 76,8]	72,0 [67,7; 76,1]	0,982	-
Альбумин, г/л	Дефицит	48 [46; 49]	47 [43; 48]	45 [44; 48]	46 [43; 49]	0,023	P ₀₋₁ = 0,021, p ₁₋₃ = 0,308, p ₃₋₇ = 0,224, p ₀₋₃ = 0,008, p ₁₋₇ = 0,650, p ₀₋₇ = 0,158
	Норма	47 [46; 48]	47 [46; 48]	46 [45; 48]	46 [46; 48]	0,191	-

Магний, ммоль/л	Дефицит	0,81 [0,76; 0,84]	0,80 [0,76; 0,83]	0,78 [0,76; 0,80]	0,76 [0,74; 0,78]	0,008	$P_{0-1} = 0,551, p_{1-3} = 0,055, p_{3-7} = 0,397,$ $p_{0-3} = 0,013, p_{1-7} = 0,013, p_{0-7} = 0,005$
	Норма	0,80 [0,76; 0,83]	0,80 [0,76; 0,85]	0,80 [0,74; 0,82]	0,78 [0,76; 0,81]	0,690	-
Кальций- креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	Дефицит	0,18 [0,09; 0,30]	0,20 [0,12; 0,60]	0,35 [0,13; 0,40]	0,37 [0,16; 0,59]	0,192	-
	Норма	0,28 [0,13; 0,42]	0,19 [0,14; 0,45]	0,32 [0,16; 0,46]	0,33 [0,21; 0,47]	0,318	-
Фосфор- креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	Дефицит	1,9 [1,3; 2,3]	2,1 [1,8; 2,7]	1,8 [1,6; 2,7] *	1,7 [1,3; 2,6]	0,687	-
	Норма	1,7 [1,4; 2,6]	1,3 [1,0; 2,4]	1,1 [0,7; 1,5]	1,4 [0,6; 1,9]	0,002	$P_{0-1} = 0,125, p_{1-3} = 0,039, p_{3-7} = 0,300,$ $p_{0-3} = 0,005, p_{1-7} = 0,221, p_{0-7} = 0,008$

Примечания: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. * Значимые различия при сравнении между группами. ** Подстрочный индекс в р-значениях указывает дни лабораторных исследований, между которыми проводилось попарное сравнение. В этих сравнениях применялась поправка Бонферрони, и значение р менее 0,0083 считалось статистически значимым. n_d – количество обследованных лиц с исходным выраженным дефицитом витамина D; n_n – количество обследованных лиц с исходными целевыми значениями; ПТГ – паратиреоидный гормон.

Таблица 12. Изменения уровней свободных 25(ОН)D, DBP и метаболитов витамина D у здоровых добровольцев с исходным выраженным дефицитом витамина D и целевыми значениями.

Лабораторный параметр	Группа	День 0	День 1	День 3	День 7	P	P (Wilcoxon) **
		$n_d = 16$ $n_n = 17$	$n_d = 16$ $n_n = 16$	$n_d = 16$ $n_n = 14$	$n_d = 15$ $n_n = 15$	(Friedman ANOVA)	
Свободный 25(ОН)D, пг/мл	Дефицит	3,1 [2,8; 3,7] *	8,1 [7,2; 9,1] *	10,0 [9,0; 12,4] *	9,1 [8,6; 12,3] *	<0,001	$P_{0-1} = p_{1-3} = p_{0-3} = p_{0-7} < 0,001,$ $p_{3-7} = 0,005, p_{1-7} = 0,015$
	Норма	10,9 [9,9; 11,7]	17,1 [15,5; 20,4]	20,7 [19,1; 22,8]	18,9 [14,0; 20,8]	<0,001	$P_{0-1} = p_{0-3} < 0,001, p_{1-3} = 0,009,$ $p_{3-7} = p_{0-7} = 0,002, p_{1-7} = 0,650$
DBP, мг/л	Дефицит	273 [258; 330]	286 [254; 342]	261 [229; 312]	280 [240; 298]	0,277	-

	Норма	274 [244; 298]	264 [221; 293]	250 [209; 265]	268 [203; 329]	0,675	-
25(OH)D ₃ , нг/мл	Дефицит	7,1 [5,5; 8,7] *	21,5 [17,6; 25,0] *	28,5 [26,7; 30,3] *	31,8 [27,1; 33,8] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,009
	Норма	33,6 [32,6; 37,1]	45,2 [43,5; 50,0]	50,2 [48,7; 53,1]	51,9 [50,2; 60,5]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ <0,001, p ₁₋₃ = p ₀₋₇ = 0,001, p ₃₋₇ = 0,300, p ₁₋₇ = 0,011
3-epi-25(OH)D ₃ , нг/мл	Дефицит	0,3 [0,3; 0,5] *	1,9 [1,7; 2,4] *	3,1 [2,7; 4,2] *	2,9 [2,5; 4,1] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,044
	Норма	2,4 [1,8; 2,6]	3,6 [2,9; 4,4]	4,9 [4,1; 5,9]	4,7 [3,7; 6,7]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,019, p ₁₋₇ = 0,008
1,25(OH) ₂ D ₃ , пг/мл	Дефицит	36 [31; 40] *	54 [41; 64]	49 [40; 62]	51 [44; 55]	0,002	P ₀₋₁ <0,001, p ₁₋₃ = 0,698, p ₃₋₇ = 0,826, p ₀₋₃ = p ₀₋₇ = 0,003, p ₁₋₇ = 0,460
	Норма	41 [38; 53]	46 [39; 50]	44 [37; 51]	50 [36; 60]	0,379	-
24,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	Дефицит	0,2 [0,1; 0,5] *	0,6 [0,4; 0,8] *	1,6 [1,0; 1,9] *	2,1 [1,5; 2,4] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001
	Норма	3,2 [2,7; 3,8]	3,3 [2,8; 4,0]	4,2 [3,6; 5,6]	4,4 [4,1; 5,4]	<0,001	P ₀₋₁ = 0,079, p ₁₋₃ = p ₀₋₃ <0,001, p ₃₋₇ = 0,022, p ₁₋₇ = 0,011, p ₀₋₇ = 0,002
25(OH)D ₃ / 24,25(OH) ₂ D ₃	Дефицит	36,6 [17,3; 40,8] *	44,3 [24,7; 54,3] *	20,0 [15,0; 23,5] *	15,5 [11,9; 19,3] *	<0,001	P ₀₋₁ = 0,015, p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₀₋₃ = 0,001
	Норма	10,9 [9,5; 12,4]	13,8 [11,4; 15,8]	11,7 [9,5; 14,5]	11,3 [8,9; 12,8]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₃₋₇ = 0,002, p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = 0,016, p ₁₋₇ <0,001, p ₀₋₇ = 0,191
25(OH)D ₃ / 1,25(OH) ₂ D ₃	Дефицит	201 [144; 272] *	431 [368; 484] *	597 [406; 654] *	645 [525; 736] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₃ = 0,002, p ₃₋₇ = 0,173
	Норма	816 [667; 956]	983 [868; 1269]	1184 [994; 1342]	1013 [874; 1260]	<0,001	P ₀₋₁ = 0,005, p ₁₋₃ = 0,221, p ₃₋₇ = 0,272, p ₀₋₃ = 0,004, p ₁₋₇ = 0,570, p ₀₋₇ = 0,020

Примечания: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. * Значимые различия при сравнении между группами. ** Подстрочный индекс в р-значениях указывает дни лабораторных исследований, между которыми проводилось попарное сравнение. В этих сравнениях применялась поправка Бонферрони, и значение р менее 0,0083 считалось статистически значимым. n_д – количество обследованных лиц с исходным выраженным дефицитом витамина D; n_н – количество обследованных лиц с исходными целевыми значениями; DBP – витамин D-связывающий белок.

Пациенты с выраженным дефицитом витамина D характеризовались более высокими исходными уровнями ПТГ ($p < 0,001$) и не имели значимых отличий по оцениваемым биохимическим показателям крови и мочи в сравнении с пациентами, имеющими нормальные исходные уровни витамина D. Вторичный гиперпаратиреоз был выявлен у 4 пациентов (25%) с выраженным дефицитом витамина D, тогда как у всех пациентов с нормальными значениями витамина D уровни ПТГ не превышали РИ.

В группе выраженного дефицита витамина D также наблюдались более низкие исходные уровни основных исследуемых метаболитов витамина D – 3-epi-25(OH)D₃ ($p < 0,001$), 1,25(OH)₂D₃ ($p = 0,041$) и 24,25(OH)₂D₃ ($p < 0,001$), а также более низкие уровни свободного 25(OH)D ($p < 0,001$), тогда как уровни DBP значимо не различались между группами. При этом, соотношение 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ было более высоким ($p < 0,001$), что соответствовало снижению активности 24-гидроксилазы, тогда как соотношение 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ было ниже, чем среди лиц с нормальными уровнями витамина D ($p < 0,001$), и указывало на более высокую продукцию активного метаболита витамина D – 1,25(OH)₂D₃.

После приема нагрузочной дозы колекальциферола к 7-му дню наблюдения ПТГ нормализовался у 3 из 4 пациентов (75%) с вторичным гиперпаратиреозом; уровни ПТГ в группе выраженного дефицита витамина D значимо снизились ($p_{0-7} = 0,002$) и не отличались от таковых у пациентов с нормальными исходными уровнями витамина D. Кроме того, в группе выраженного дефицита витамина D наблюдалось клинически не значимое снижение альбумина к 3-му дню ($p_{0-3} = 0,008$) и магния к 7-му дню ($p_{0-7} = 0,005$). В группе нормальных исходных уровней витамина D наблюдалось снижение фосфатурии к 3-му дню ($p_{0-3} = 0,005$). В остальном значимых изменений биохимических показателей на протяжении периода наблюдения, как и различий между группами по исследуемым биохимическим параметрам крови и мочи, не отмечалось.

Что касается метаболитов витамина D и их соотношений, уровни 25(OH)D₃ и 3-epi-25(OH)D₃ увеличивались в обеих группах преимущественно до 3-го дня

наблюдения ($p_{0-3} < 0,001$ для обоих показателей в обеих группах), после чего находились на плато (для $25(\text{OH})\text{D}_3$ среди лиц с исходным дефицитом и нормальными значениями витамина D $p_{3-7} = 0,009$ и $0,300$ соответственно, для $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ $p_{3-7} = 0,044$ и $0,019$ соответственно) (рис. 10).

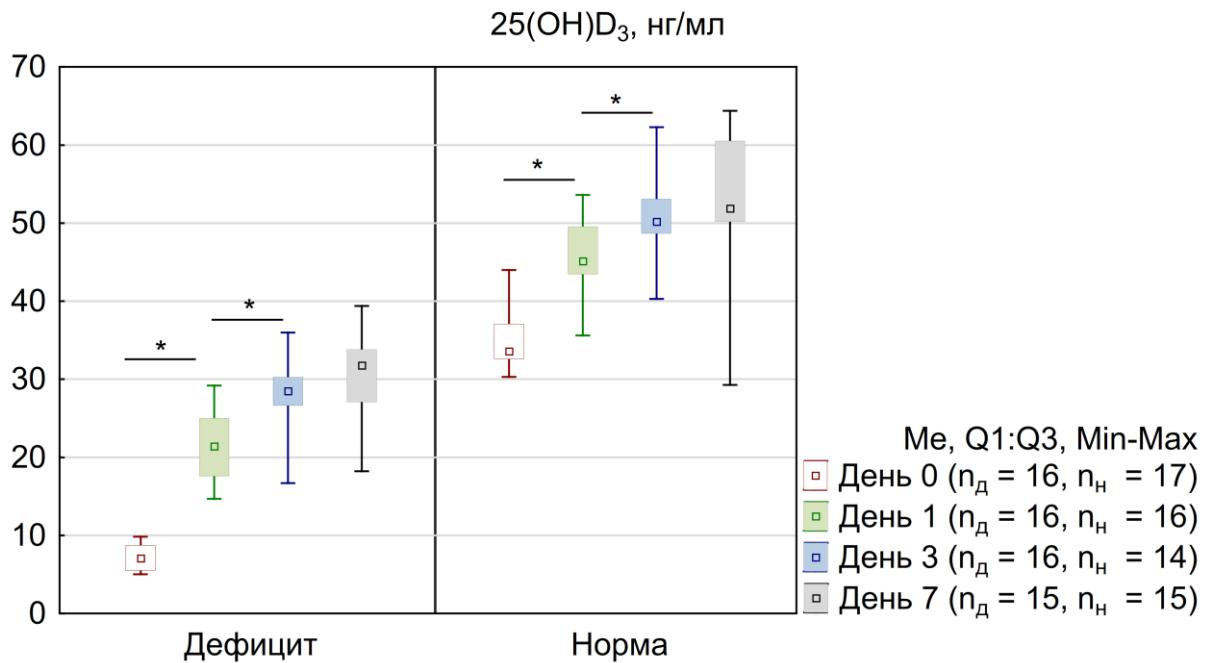


Рисунок 10. Динамика изменения концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ среди здоровых добровольцев с исходным выраженным дефицитом витамина D и целевыми значениями на протяжении периода наблюдения. n_d – количество обследованных лиц с исходным выраженным дефицитом витамина D; n_n – количество обследованных лиц с исходными целевыми значениями; * – значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

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, $p = 0,010$) (рис. 11).

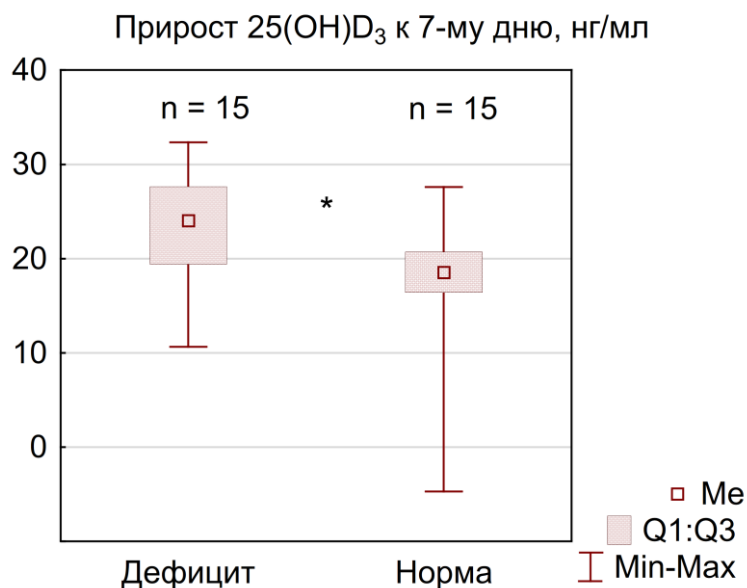


Рисунок 11. Прирост 25(OH)D₃ к 7-му дню после приема колекальциферола среди здоровых добровольцев с исходным выраженным дефицитом витамина D и целевыми значениями. * – значимые различия при сравнении между группами (критерий Mann-Whitney)

Уровни 24,25(OH)₂D₃ увеличивались на протяжении всего периода наблюдения в группе дефицита и до 3-го дня в группе нормальных значений ($p < 0,001$), уровни 1,25(OH)₂D₃ 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. 12). Сывороточные концентрации 25(OH)D₂ не превышали 0,5 нг/мл у всех исследуемых лиц на протяжении всего периода наблюдения.

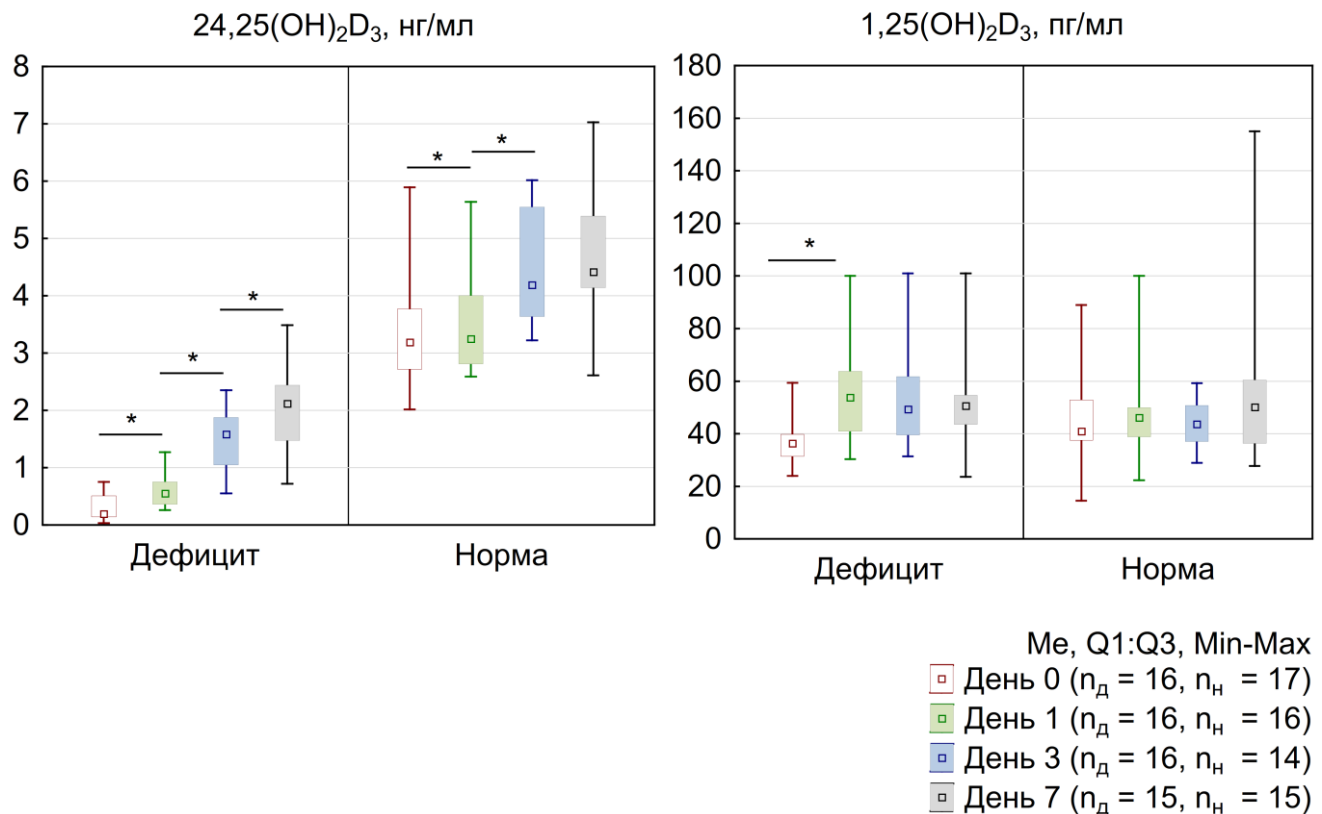


Рисунок 12. Динамика изменения концентраций 24,25(OH)₂D₃ и 1,25(OH)₂D₃ среди здоровых добровольцев с исходным выраженным дефицитом витамина D и целевыми значениями на протяжении периода наблюдения. n_d – количество обследованных лиц с исходным выраженным дефицитом витамина D; n_n – количество обследованных лиц с исходными целевыми значениями; * – значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

Соотношение 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ имело тенденцию к повышению к 1-му дню в группе исходного дефицита ($p_{0-1} = 0,015$) и повысилось в группе исходных нормальных уровней витамина D ($p_{0-1} = 0,002$), после чего снизилось к концу периода наблюдения в обеих группах ($p_{1-7} < 0,001$). Соотношение 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ увеличивалось до 3-го дня как в группе дефицита ($p_{0-3} < 0,001$), так и среди лиц с нормальными исходными значениями витамина D ($p_{0-3} = 0,004$). Уровни свободного 25(OH)D изменялись в целом согласованно с концентрациями 25(OH)D₃ в обеих группах – увеличивались до 3-го дня ($p_{0-3} < 0,001$ в обеих группах), после чего снизились к 7-му дню наблюдения ($p_{3-7} = 0,005$ и $0,002$ в группе дефицита и нормы соответственно), тогда как значения DBP сохранялись

неизменными. Значимые исходные различия между группами по исследуемым параметрам метаболизма витамина D сохранялись к концу периода наблюдения, за исключением уровней $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($p = 0,935$), а при отдельном анализе пациентов, достигших целевых уровней $25(\text{OH})\text{D}_3$ (≥ 30 нг/мл) к 7-му дню, также отсутствовали различия между группами в уровнях $3\text{-eri-}25(\text{OH})\text{D}_3$ ($p = 0,083$), что отражено в Таблице 13.

Таблица 13. Сравнение параметров метаболизма витамина D у пациентов с исходным выраженным дефицитом витамина D и его нормальными значениями, имеющими целевые уровни $25(\text{OH})\text{D}_3$ на 7-й день наблюдения.

Параметр	Выраженный дефицит (n=9)	Норма (n=14)	P
Свободный $25(\text{OH})\text{D}$, пг/мл	9,2 [9,1; 12,6]	19,0 [16,4; 20,8]	<0,001
DBP, мг/л	280 [258; 292]	278 [223; 329]	0,829
$25(\text{OH})\text{D}_3$, нг/мл	33,8 [32,0; 36,2]	52,1 [50,3; 60,5]	<0,001
$3\text{-eri-}25(\text{OH})\text{D}_3$, нг/мл	3,7 [2,9; 4,2]	4,9 [3,8; 6,7]	0,083
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, пг/мл	51 [49; 53]	51 [40; 60]	0,975
$24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, нг/мл	2,1 [1,7; 2,4]	4,4 [4,2; 5,4]	<0,001
$25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	16,1 [14,5; 19,3]	11,4 [9,1; 12,8]	0,002
$25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	646 [618; 736]	1021 [881; 1260]	<0,001

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. DBP – витамин D-связывающий белок.

3.2.1 Обсуждение полученных результатов

Прицельное изучение метаболизма витамина D при его выраженном дефиците в сравнении с лицами с нормальным содержанием витамина D в организме подтвердило полученные в предыдущей части исследования указания на значимую адаптацию метаболизма витамина D при снижении сывороточной концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 10 нг/мл. У лиц с выраженным дефицитом витамина D наблюдалось сниженное образование $3\text{-eri-}25(\text{OH})\text{D}_3$ и основного неактивного метаболита ($24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), а также повышенная продукция основного активного метаболита ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), что подтверждается расчетом соответствующих

соотношений метаболитов (более высокие соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и более низкие соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на протяжении всего периода наблюдения). Интересным наблюдением оказалось то, что между группами не было выявлено значимых различий по результатам клинического обследования, что, однако, могло быть в свою очередь обусловлено небольшим размером групп.

Таким образом, наши данные подтверждают гипотезу о том, что в условиях дефицита субстрата продукция активного метаболита витамина D преобладает над продукцией других метаболитов [217]. Обобщение наблюдаемых изменений метаболизма витамина D при его выраженном дефиците представлено на рисунке 13.

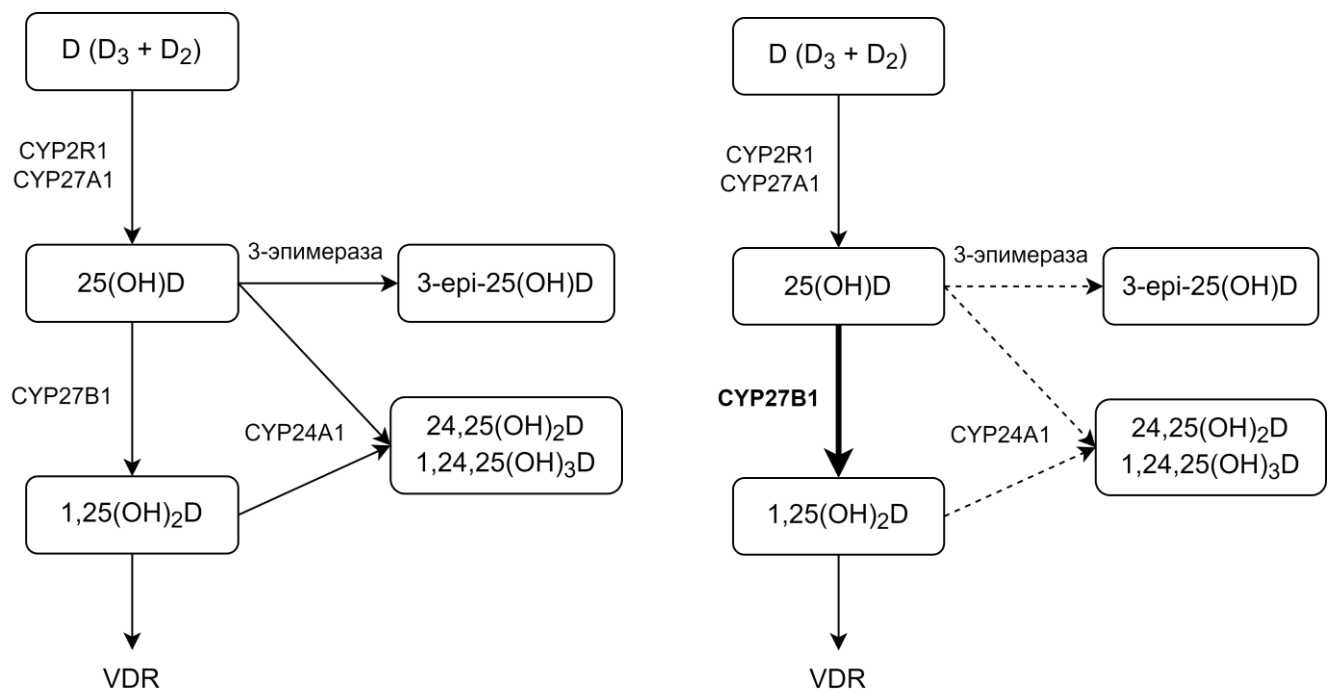


Рисунок 13. Основные этапы метаболизма витамина D при нормальных сывороточных значениях витамина D (слева) и при выраженном дефиците витамина D (справа). Полуужирная стрелка соответствует повышенной продукции метаболита, пунктирные стрелки соответствуют сниженной продукции метаболитов. VDR – рецептор витамина D

Данные отклонения преимущественно сохраняются в раннем периоде после восполнения дефицита витамина D, о чем свидетельствует сохранение различий по исследуемым соотношениям метаболитов; различия в уровнях $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ также

сохранились к концу периода наблюдения, а концентрации $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ стали сопоставимы с группой контроля, вероятно, в условиях увеличения количества субстрата. Кроме того, сопоставление прироста концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ после приема колекальциферола в группах позволяет предположить возможное влияние наблюдаемых изменений на эффективность стандартной терапевтической дозы, а именно, сниженная активность 24-гидроксилазы у пациентов с выраженным дефицитом витамина D могла способствовать большему приросту уровней $25(\text{OH})\text{D}_3$ после приема нагрузочной дозы колекальциферола.

3.3 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. Основные характеристики исследуемых в данной части работы групп представлены в Таблице 14.

Таблица 14. 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, кг/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.

Особенности течения основного заболевания в группе акромегалии приведены в Таблице 15.

Таблица 15. Характеристика группы акромегалии в контексте течения основного заболевания (n = 34).

Параметр	Значение
Время от появления симптомов, лет	4,1 [2,1; 9,1]
Время от постановки диагноза, лет	0,6 [0,5; 1,3]
ИФР-1, нг/мл	802 [511; 960]
ИФР-1 * верхняя граница РИ	2,9 [1,9; 3,7]
СТГ, нг/мл	9,8 [3,6; 28,0]
Лечение основного заболевания, n (%)	10 (29%)
• Медикаментозная монотерапия, n (%)	5 (15%)
• Нейрохирургическое лечение, n (%)	1 (3%)
• Комбинированное лечение, n (%)	4 (12%)
Наличие нарушения углеводного обмена, n (%)	10 (29%)
Наличие сахарного диабета, n (%)	6 (18%)
• HbA1c, %	8,3 [7,4; 10,0]
Низкоэнергетический перелом в анамнезе, n (%)	3 (9%)

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3], качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1; РИ – референсный интервал; СТГ – соматотропный гормон; HbA1c – гликированный гемоглобин.

У всех включенных пациентов определялись уровни ИФР-1 выше верхней границы возраст-специфического РИ, что свидетельствовало об активности заболевания. Большинство пациентов не получали лечение по поводу акромегалии до включения в исследование – таких пациентов оказалось 24 (71%). Среди 10 пациентов (29%), получавших лечение, у 5 пациентов (15%) проводилась медикаментозная монотерапия (3 пациента (9%) принимали каберголин, 1 пациент (3%) получал аналог соматостатина и 1 пациент (3%) – пегвисомант), 1 пациент (3%) перенес трансназальную аденомэктомию и 4 пациента (12%) получали комбинированное лечение – медикаментозное лечение с хирургическим вмешательством у 3 пациентов (9%) или лучевой терапией у 1 пациента (3%). У части пациентов имелись осложнения основного заболевания: нарушение углеводного обмена различной степени выраженности у 10 пациентов (29%) с

манифестным сахарным диабетом у 6 пациентов (18%); 3 пациента (9%) имели низкоэнергетический перелом в анамнезе.

Сравнительная характеристика образа жизни пациентов с акромегалией и контрольной группы представлены в Таблице 16.

Таблица 16. Характеристика образа жизни пациентов с акромегалией и контрольной группы.

Параметр	Акромегалия (n=34)	Контрольная группа (n=30)	P
Курильщики в настоящее время, n (%)	5 (15%)	13 (43%)	0,014
Курильщики всего, n (%)	10 (29%)	18 (60%)	0,023
Употребление алкоголя, единиц в неделю	0,3 [0; 1]	1 [0; 2]	0,047
Упражнения продолжительностью более 30 мин, в неделю	4 [2; 7]	3 [2; 3]	0,030
Употребление молочных продуктов, порций в день	1 [1; 2]	1 [1; 1]	0,442
Употребление мясных продуктов, порций в неделю	4 [3; 7]	5 [3; 7]	0,378
Употребление кофе, чашек в неделю	5 [1; 10]	7 [1; 10]	0,346
Употребление газированных напитков, мл в неделю	0 [0; 150]	0 [0; 0]	0,453
Путешествие на юг, n (%)	3 (9%)	4 (13%)	0,697
Прогулки в дневное время в солнечную погоду, n	5 [2; 11]	4 [1; 11]	0,445
Использование солярия, n (%)	0	1 (3%)	0,469
Использование солнцезащитного крема, n (%)	9 (26%)	12 (40%)	0,294

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

Пациенты с акромегалией в целом характеризовались более здоровым образом жизни, поскольку они были менее склонны к курению ($p = 0,014$ для количества курильщиков на момент участия в исследовании и $p = 0,023$ для общего числа курильщиков) и употреблению алкоголя ($p = 0,047$), а также сообщили о несколько более высокой физической активности ($p = 0,030$). Группы не различались значимо по рациону и воздействию УФ-излучения.

Результаты лабораторных исследований в группах представлены в Таблицах 17 и 18.

Таблица 17. Концентрации биохимических показателей и ПТГ у пациентов с акромегалией и контрольной группы.

Лабораторный параметр	Группа	День 0 n _а = 34 n _к = 30	День 1 n _а = 33 n _к = 29	День 3 n _а = 32 n _к = 29	День 7 n _а = 30 n _к = 28	P (Friedman ANOVA)	P (Wilcoxon) **
Кальций общий, ммоль/л	Акромегалия	2,46 [2,38; 2,52] *	2,45 [2,36; 2,51]	2,47 [2,39; 2,53]	2,51 [2,42; 2,53] *	0,133	-
	Контрольная группа	2,37 [2,31; 2,43]	2,41 [2,36; 2,46]	2,41 [2,37; 2,46]	2,37 [2,34; 2,48]	0,033	P ₀₋₁ = 0,014, p ₁₋₃ = 0,466, p ₃₋₇ = 0,282, p ₀₋₃ = 0,009, p ₁₋₇ = 0,895, p ₀₋₇ = 0,053
Кальций альбумин-скорректированный, ммоль/л	Акромегалия	2,32 [2,28; 2,41] *	2,33 [2,31; 2,39] *	2,39 [2,31; 2,44] *	2,40 [2,32; 2,45] *	0,015	P ₀₋₁ = 0,711, p ₁₋₃ = p ₁₋₇ = 0,022, p ₃₋₇ = 0,564, p ₀₋₃ = 0,019, p ₀₋₇ = 0,005
	Контрольная группа	2,25 [2,21; 2,31]	2,29 [2,23; 2,33]	2,30 [2,26; 2,35]	2,27 [2,24; 2,34]	0,005	P ₀₋₁ = 0,014, p ₁₋₃ = 0,241, p ₃₋₇ = 0,287, p ₀₋₃ <0,001, p ₁₋₇ = 0,920, p ₀₋₇ = 0,034
Фосфор, ммоль/л	Акромегалия	1,39 [1,27; 1,58] *	1,40 [1,27; 1,55] *	1,50 [1,35; 1,63] *	1,45 [1,34; 1,54] *	0,001	P ₀₋₁ = 0,427, p ₁₋₃ = 0,005, p ₃₋₇ = 0,147, p ₀₋₃ <0,001, p ₁₋₇ = 0,048, p ₀₋₇ = 0,015
	Контрольная группа	1,10 [1,00; 1,22]	1,15 [1,01; 1,26]	1,19 [1,07; 1,27]	1,15 [1,09; 1,31]	0,058	-
ПТГ, пг/мл	Акромегалия	33,1 [23,6; 42,3] *	32,1 [23,8; 45,5]	27,4 [20,9; 38,1]	28,5 [19,8; 36,7]	<0,001	P ₀₋₁ = 0,555, p ₁₋₃ = 0,004, p ₃₋₇ = 0,393, p ₀₋₃ <0,001, p ₀₋₇ = p ₁₋₇ = 0,001
	Контрольная группа	38,6 [31,0; 50,3]	37,0 [28,9; 51,4]	35,8 [28,9; 45,3]	34,3 [25,3; 47,7]	0,032	P ₀₋₁ = 0,738, p ₁₋₃ = p ₀₋₇ = 0,018, p ₃₋₇ = 0,927, p ₀₋₃ = 0,010, p ₁₋₇ = 0,127
Креатинин, мкмоль/л	Акромегалия	66,6 [62,5; 73,9]	65,9 [61,4; 70,9] *	68,4 [58,9; 73,7]	67,3 [60,6; 72,3]	0,428	-
	Контрольная группа	70,3 [67,4; 78,0]	73,5 [66,9; 79,8]	70,3 [67,1; 79,4]	72,2 [64,0; 83,9]	0,019	P ₀₋₁ = 0,002, p ₁₋₃ = 0,198, p ₃₋₇ = 0,206, p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = 0,070, p ₀₋₇ = 0,495
Альбумин, г/л	Акромегалия	45 [44; 47]	45 [43; 47]	44 [43; 45] *	45 [43; 46]	0,066	-
	Контрольная группа	46 [44; 47]	46 [44; 48]	46 [44; 47]	46 [44; 47]	0,479	-
Магний, ммоль/л	Акромегалия	0,80 [0,75; 0,84]	0,79 [0,76; 0,82]	0,79 [0,74; 0,82]	0,79 [0,75; 0,82]	0,649	-

	Контрольная группа	0,82 [0,76; 0,85]	0,79 [0,77; 0,84]	0,79 [0,76; 0,82]	0,79 [0,75; 0,84]	0,669	-
Кальций-креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	Акромегалия	0,29 [0,16; 0,48]	0,28 [0,16; 0,54]	0,37 [0,22; 0,68]	0,30 [0,13; 0,62]	0,099	-
	Контрольная группа	0,30 [0,13; 0,42]	0,26 [0,21; 0,41]	0,29 [0,21; 0,42]	0,35 [0,20; 0,50]	0,879	-
Фосфор-креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	Акромегалия	1,8 [1,3; 2,3]	2,2 [1,7; 2,5] *	2,1 [1,7; 2,8]	2,2 [1,9; 2,6] *	0,153	-
	Контрольная группа	1,8 [1,4; 2,7]	1,7 [0,9; 2,4]	1,6 [1,4; 2,3]	1,7 [1,2; 2,3]	0,088	-

Примечания: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. * Значимые различия при сравнении между группами. ** Подстрочный индекс в р-значениях указывает дни лабораторных исследований, между которыми проводилось попарное сравнение. В этих сравнениях применялась поправка Бонферрони, и значение р менее 0,0083 считалось статистически значимым. n_a – количество обследованных лиц с акромегалией; n_k – количество обследованных лиц контрольной группы; ПТГ – паратиреоидный гормон.

Таблица 18. Концентрации свободного 25(ОН)D, DBP и метаболитов витамина D у пациентов с акромегалией и контрольной группы.

Лабораторный параметр	Группа	День 0 $n_a = 34$ $n_k = 30$	День 1 $n_a = 33$ $n_k = 29$	День 3 $n_a = 32$ $n_k = 29$	День 7 $n_a = 30$ $n_k = 28$	P (Friedman ANOVA)	P (Wilcoxon) **
Свободный 25(ОН)D, пг/мл	Акромегалия	4,5 [3,5; 5,5] *	8,4 [6,1; 10,0] *	9,3 [6,8; 11,4] *	9,0 [6,7; 11,2] *	<0,001	$P_{0-1} = p_{0-3} = p_{0-7} < 0,001$, $p_{1-3} = 0,006$, $p_{3-7} = 0,943$, $p_{1-7} = 0,017$
	Контрольная группа	6,4 [4,1; 7,7]	12,1 [9,5; 15,0]	14,0 [10,3; 18,1]	12,9 [9,4; 15,4]	<0,001	$P_{0-1} = p_{1-3} = p_{3-7} = p_{0-3} = p_{0-7} < 0,001$, $p_{1-7} = 0,105$
DBP, мг/л	Акромегалия	239 [203; 277]	293 [241; 329]	322 [247; 355] *	319 [272; 363] *	<0,001	$P_{0-1} = 0,011$, $p_{1-3} = 0,136$, $p_{3-7} = 0,388$, $p_{0-3} = p_{0-7} < 0,001$, $p_{1-7} = 0,026$
	Контрольная группа	247 [212; 281]	258 [237; 300]	236 [204; 274]	245 [220; 277]	0,313	-

25(OH)D ₃ , нг/мл	Акромегалия	14,8 [11,9; 20,5]	25,0 [21,6; 31,9] *	31,0 [25,7; 36,2] *	32,1 [27,2; 35,6] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,014
	Контрольная группа	19,5 [12,5; 25,7]	31,0 [28,1; 35,0]	33,9 [30,2; 43,1]	34,3 [30,9; 42,9]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,648
3-epi-25(OH)D ₃ , нг/мл	Акромегалия	1,0 [0,6; 1,4] *	2,6 [1,9; 3,2]	3,9 [3,3; 4,8]	3,5 [2,8; 4,4]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001
	Контрольная группа	1,4 [0,9; 1,7]	2,7 [2,1; 3,5]	3,9 [3,3; 4,9]	3,6 [3,0; 4,6]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,003
1,25(OH) ₂ D ₃ , пг/мл	Акромегалия	50 [42; 63] *	52 [45; 72] *	50 [44; 60]	46 [40; 58] *	<0,001	P ₀₋₁ <0,001, p ₁₋₃ = 0,019, p ₃₋₇ = 0,023, p ₀₋₃ = 0,483, p ₁₋₇ = 0,002, p ₀₋₇ = 0,107
	Контрольная группа	42 [34; 48]	48 [41; 55]	46 [39; 54]	43 [35; 47]	0,092	-
24,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	Акромегалия	0,8 [0,4; 1,1] *	1,0 [0,6; 1,4] *	1,6 [1,3; 2,1] *	2,0 [1,7; 2,6] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001
	Контрольная группа	1,5 [0,9; 2,6]	1,8 [1,2; 2,6]	3,0 [1,9; 3,6]	3,2 [2,1; 4,2]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001
25(OH)D ₃ / 24,25(OH) ₂ D ₃	Акромегалия	19,2 [15,6; 31,3] *	24,9 [19,1; 44,6] *	19,3 [15,2; 24,1] *	15,4 [13,5; 18,0] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₇ = p ₁₋₇ <0,001, p ₀₋₃ = 0,150
	Контрольная группа	12,7 [9,9; 17,0]	18,2 [14,2; 21,3]	13,1 [10,6; 18,2]	12,3 [9,0; 14,9]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₁₋₇ <0,001, p ₀₋₃ = 0,191, p ₀₋₇ = 0,002
25(OH)D ₃ / 1,25(OH) ₂ D ₃	Акромегалия	289 [223; 438] *	482 [364; 575] *	601 [436; 726] *	699 [446; 824] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,003
	Контрольная группа	501 [356; 641]	689 [548; 789]	757 [602; 972]	851 [727; 1028]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₃ = 0,031, p ₃₋₇ = 0,050

Примечания: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. * Значимые различия при сравнении между группами. ** Подстрочный индекс в р-значениях указывает дни лабораторных исследований, между которыми проводилось попарное сравнение. В этих сравнениях применялась поправка Бонферрони, и значение р менее 0,0083 считалось статистически значимым. n_а – количество обследованных лиц с акромегалией; n_к – количество обследованных лиц контрольной группы; DBP – витамин D-связывающий белок.

У пациентов с акромегалией выявлены более высокие исходные уровни кальция, как общего ($p = 0,004$), так и альбумин-скорректированного ($p < 0,001$), а также фосфора в сыворотке крови ($p < 0,001$). Концентрации общего сывороточного кальция превышали верхнюю границу РИ у 8 пациентов (24%) с акромегалией по сравнению с 1 пациентом (3%) в контрольной группе ($p = 0,029$), однако, при этом только у 1 пациента (3%) с акромегалией повышение уровня кальция сохранялось после поправки на альбумин, в контрольной группе ни у одного пациента не наблюдалось превышения верхней границы РИ для альбумин-скорректированного кальция. Гиперфосфатемия наблюдалась у 11 пациентов (32%) с акромегалией по сравнению с 1 пациентом (3%) в контрольной группе ($p = 0,003$). Остальные изученные биохимические показатели значимо не различались между группами.

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 $25(\text{OH})\text{D}$ ($p = 0,007$), $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ ($p = 0,045$) и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($p < 0,001$), тогда как уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ были выше, чем в контрольной группе ($p = 0,003$). Лишь у одного пациента с акромегалией исходный уровень витамина D соответствовал достаточному (≥ 30 нг/мл), согласно рекомендациям Endocrine Society и Российской ассоциации эндокринологов [13, 114]. Однако, несмотря на тенденцию к более низким уровням $25(\text{OH})\text{D}_3$, исходные уровни ПТГ были ниже в группе акромегалии ($p = 0,044$), 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 разделу 3.1) (рис. 14).

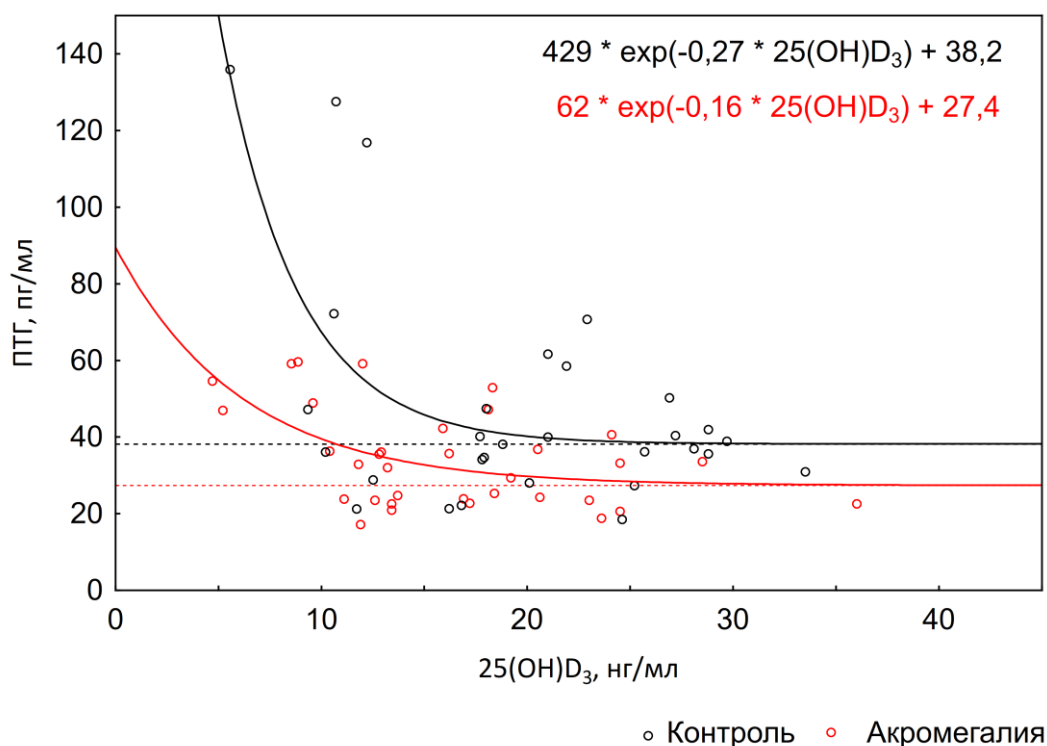


Рисунок 14. Взаимосвязь между исходными уровнями ПТГ и 25(ОН)D₃ в группе акромегалии (n = 34) и контрольной группе (n = 30). ПТГ – паратиреоидный гормон. Экспоненциальная модель подгонки кривых, функция подгонки: $y = a * \exp(b * x) + c$; y – ПТГ, x – 25(ОН)D₃, для обеих моделей $p < 0,001$

Дальнейший расчет соотношений 25(ОН)D₃/24,25(ОН)₂D₃ и 25(ОН)D₃/1,25(ОН)₂D₃ соответствовал наблюдаемым различиям в уровнях метаболитов витамина D с более высокими соотношениями 25(ОН)D₃/24,25(ОН)₂D₃ ($p < 0,001$) и более низкими соотношениями 25(ОН)D₃/1,25(ОН)₂D₃ в группе акромегалии ($p = 0,001$), указывающими на более низкую продукцию 24,25(ОН)₂D₃ и более высокую продукцию 1,25(ОН)₂D₃. Исходные уровни DBP были сопоставимы между группами. Расчетный свободный 25(ОН)D продемонстрировал выраженную положительную корреляцию с измеренным в обеих группах ($r = 0,84$, $p < 0,001$ в группе акромегалии, $r = 0,87$, $p < 0,001$ в контрольной группе).

Чтобы оценить связь наблюдаемых изменений с активностью заболевания у пациентов с акромегалией, мы исследовали корреляцию с уровнями ИФР-1. 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 ($r = 0,39$, $p = 0,022$) (рис. 15), в то время как среди оцененных метаболитов витамина D и их соотношений ни один показатель не продемонстрировал значимой ассоциации с уровнями ИФР-1.

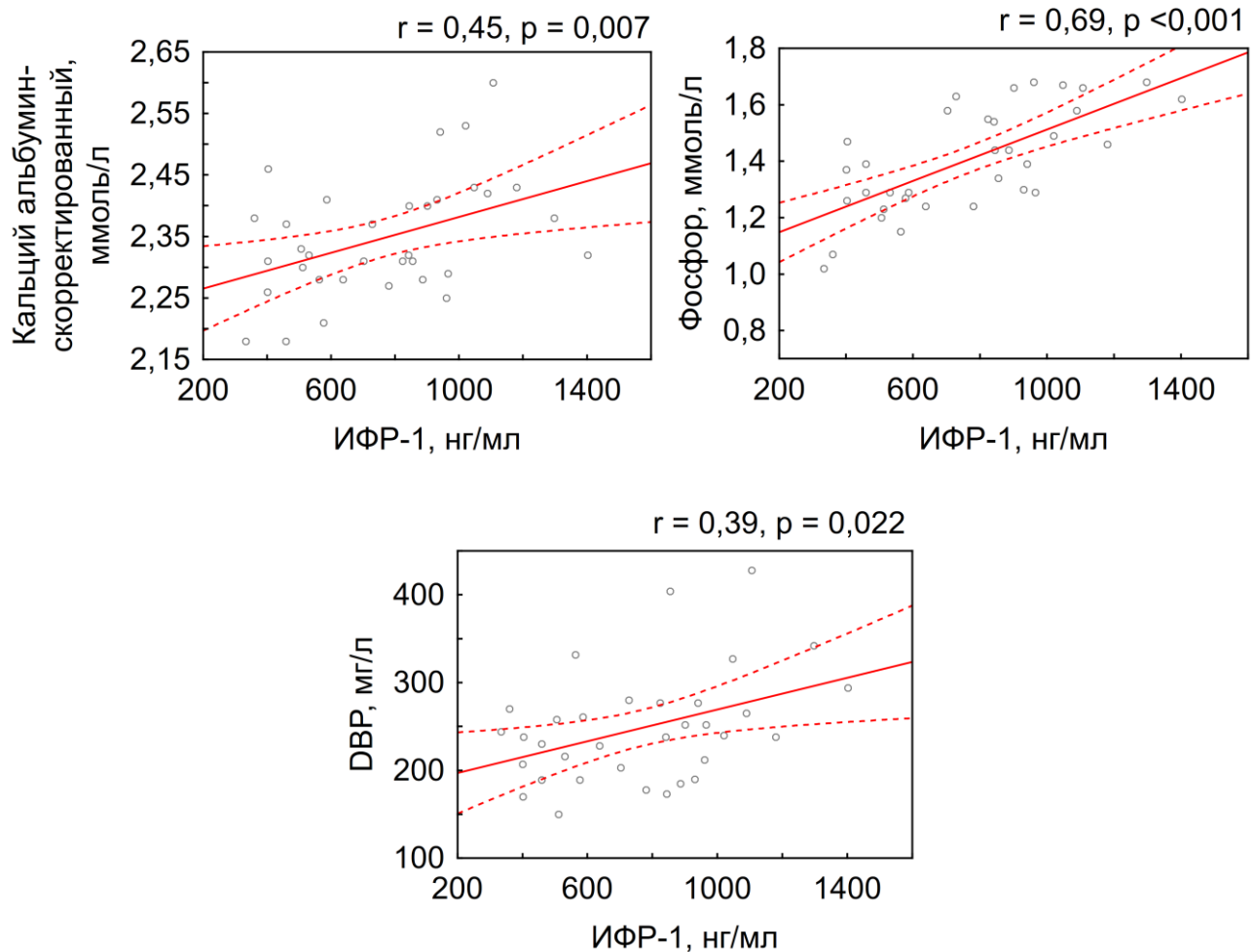


Рисунок 15. Корреляция между уровнем ИФР-1 и исходными оцениваемыми сывороточными параметрами в группе акромегалии ($n = 34$). ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1; DBP – витамин D-связывающий белок

Наблюдаемые исходно различия в сывороточных уровнях общего, альбумин-скорректированного кальция и фосфора сохранились к концу периода наблюдения ($p = 0,002$; $p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно) при этом в обеих группах наблюдалось клинически не значимое увеличение концентрации альбумин-

скорректированного кальция – к 7-му дню в группе акромегалии ($p_{0-7} = 0,005$) и к 3-му дню в контрольной группе ($p_{0-3} < 0,001$), а также повышение сывороточного фосфора в группе акромегалии к 3-м суткам ($p_{0-3} < 0,001$). Значения ПТГ снизились к 3-му дню в группе акромегалии ($p_{0-3} < 0,001$), после чего находились на плато ($p_{3-7} = 0,393$), тогда как в контрольной группе наблюдалась тенденция к снижению ПТГ к 3-му дню наблюдения, не достигшая статистической значимости ($p_{0-3} = 0,010$); различия между группами по значениям ПТГ стали незначимыми, начиная с 1-го дня наблюдения. Пациенты из контрольной группы также имели тенденцию к увеличению общего сывороточного кальция к 3-му дню наблюдения ($p_{0-3} = 0,009$) и клинически незначимое повышение креатинина сыворотки к 1-му дню ($p_{0-1} = 0,002$). Уровни фосфора в моче после приема колекальциферола были значимо выше у пациентов с акромегалией, чем в контрольной группе, на 1-й и 7-й дни после приема колекальциферола ($p = 0,020$ и $0,009$ соответственно). Остальные оцениваемые биохимические параметры были стабильными в течение периода наблюдения.

К концу периода наблюдения 16 пациентов (53%) из группы акромегалии достигли адекватных уровней $25(\text{OH})\text{D}_3$ (≥ 30 нг/мл) против 22 пациентов (79%) из контрольной группы ($p = 0,056$). 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 ($r = -0,56$, $p = 0,001$) (рис. 16).

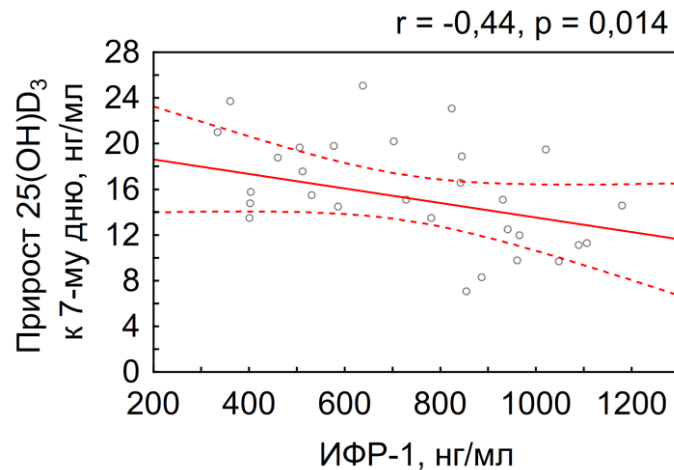


Рисунок 16. Корреляция между уровнем ИФР-1 и приростом 25(OH)D₃ к 7-му дню наблюдения в группе акромегалии (n = 30). ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1

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, $p = 0,034$).

В целом, изученные метаболиты витамина D изменялись сходным образом между группами: уровни $25(\text{OH})\text{D}_3$, 3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ конкордантно увеличивались до 3-го дня, после чего $25(\text{OH})\text{D}_3$ оставался стабильным, 3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ снижался, а $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ продолжал увеличиваться к 7-му дню. Различия между группами в уровнях $25(\text{OH})\text{D}_3$ стали значимыми с первого дня наблюдения ($p = 0,023$; $p = 0,040$ и $p = 0,039$ на 1-й, 3-й и 7-й дни соответственно). У пациентов с акромегалией к 1-м суткам после приема колекальциферола 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 периода наблюдения (рис. 17). Уровни $25(\text{OH})\text{D}_2$ не превышали 0,5 нг/мл у всех обследованных лиц на протяжении исследования.

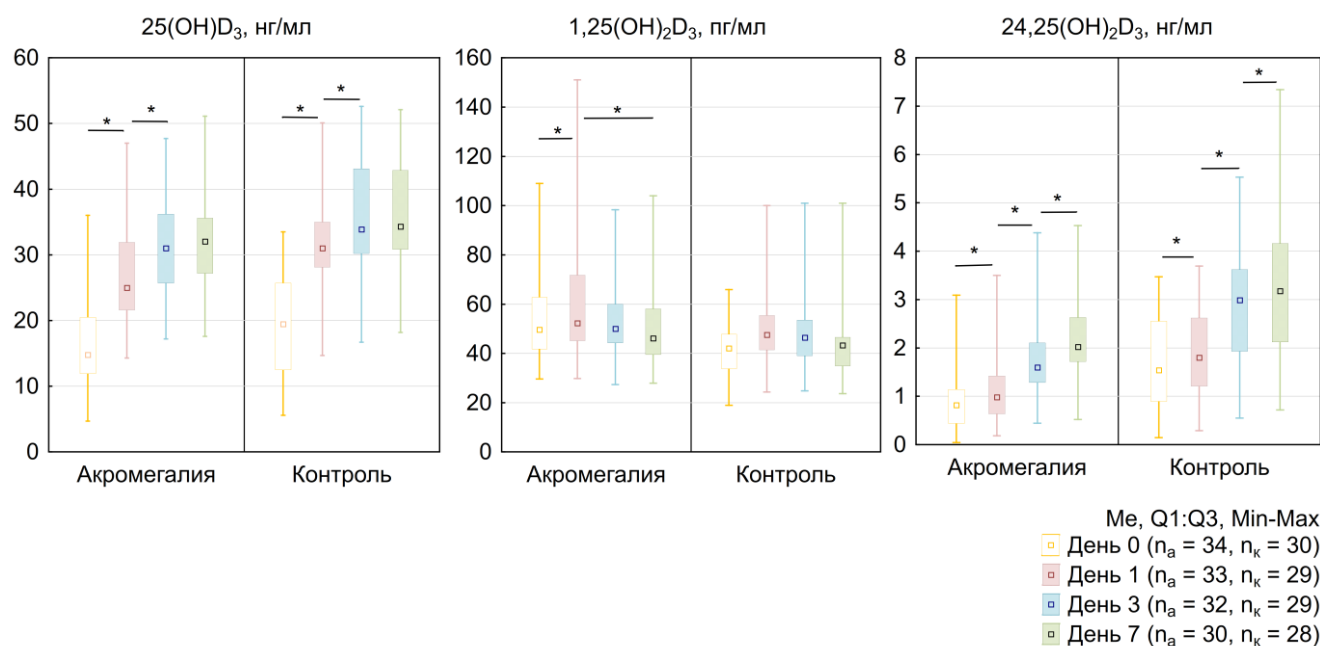


Рисунок 17. Динамика уровней 25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ и 24,25(OH)₂D₃ в группе акромегалии и контрольной группе. n_a – количество обследованных лиц с акромегалией; n_k – количество обследованных лиц контрольной группы; * – значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

В обеих группах соотношения 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ увеличивались к 1-му дню ($p_{0-1} < 0,001$), после чего снижались к 7-му дню ($p_{1-7} < 0,001$), соотношения 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ продолжали увеличиваться в течение периода наблюдения в группе акромегалии ($p_{0-3} < 0,001, p_{3-7} = 0,003$), а в контрольной группе – преимущественно к 3-му дню ($p_{0-3} < 0,001, p_{3-7} = 0,050$). К 7-му дню сохранялись значимыми различия в концентрациях 1,25(OH)₂D₃ и 24,25(OH)₂D₃ ($p = 0,048$ и $p = 0,001$ соответственно), а также в соответствующих соотношениях ($p = 0,002$ и $p = 0,001$ соответственно), в том числе при включении в сравнение только пациентов, достигших достаточного уровня 25(OH)D₃ (≥ 30 нг/мл) и имеющих сопоставимые значения 25(OH)D₃ ($p = 0,271$), что отражено в Таблице 19.

Таблица 19. Сравнение параметров метаболизма витамина D в группе акромегалии и контрольной группе среди лиц, имеющих целевые уровни 25(OH)D₃ на 7-й день наблюдения.

Параметр	Акромегалия (n=16)	Контрольная группа (n=22)	P
Свободный 25(OH)D, пг/мл	10,5 [9,5; 11,7]	13,9 [10,9; 16,6]	0,009
DBP, мг/л	313 [278; 364]	245 [222; 274]	<0,001
25(OH)D ₃ , нг/мл	34,9 [32,8; 37,7]	37,4 [33,7; 44,2]	0,271
3-epi-25(OH)D ₃ , нг/мл	4,1 [3,4; 4,5]	3,8 [3,2; 5,0]	0,804
1,25(OH) ₂ D ₃ , пг/мл	49 [44; 59]	44 [36; 47]	0,008
24,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	2,4 [2,0; 2,7]	3,5 [2,7; 4,4]	0,004
25(OH)D ₃ /24,25(OH) ₂ D ₃	14,4 [13,2; 17,2]	10,7 [8,5; 14,9]	0,006
25(OH)D ₃ /1,25(OH) ₂ D ₃	726 [629; 831]	942 [774; 1065]	0,005

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. DBP – витамин D-связывающий белок.

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 ($p < 0,001$) (рис. 18), а уровни свободного 25(OH)D увеличились в меньшей степени по сравнению с лицами из группы контроля (4,5 [3,5; 6,2] против 6,3 [4,3; 8,0] пг/мл, $p = 0,018$), оставаясь ниже, чем в контрольной группе на протяжении всего периода наблюдения ($p = 0,002$; $p < 0,001$; $p = 0,003$ на 1-й, 3-й и 7-й дни соответственно).

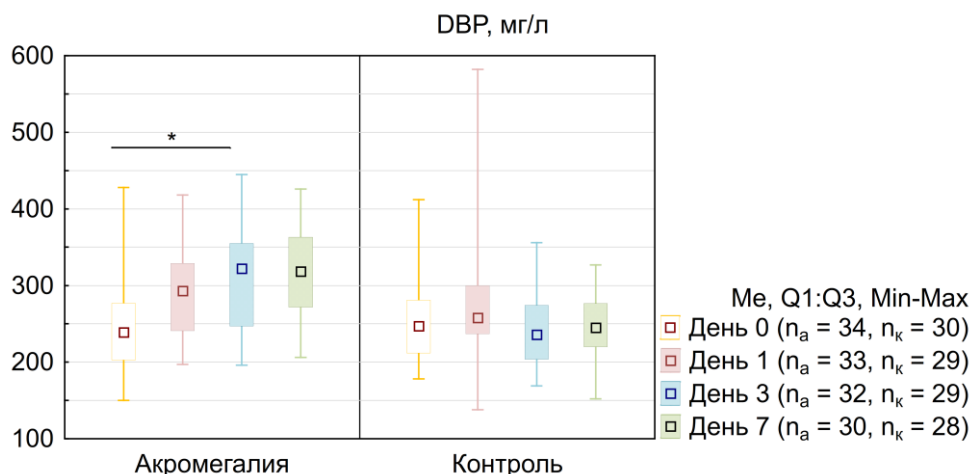


Рисунок 18. Изменение концентрации витамин D-связывающего белка (DBP) в группе акромегалии и контрольной группе. n_a – количество обследованных лиц с акромегалией; n_k – количество обследованных лиц контрольной группы; * – значимые различия при сравнении показателей между двумя точками наблюдения (критерий Wilcoxon с поправкой Бонферрони)

3.3.1 Обсуждение полученных результатов

Прежде всего, почти у всех включенных пациентов с акромегалией выявлены недостаточные уровни витамина D (дефицит у 74% включенных пациентов и недостаточность у 97% пациентов) с пограничной статистической значимостью при сравнении с контрольной группой ($p = 0,055$). Этот результат согласуется с некоторыми из предыдущих исследований, указавшими на повышенный риск дефицита витамина D при акромегалии [105, 116, 142]. Учитывая, что набор групп осуществлялся равномерно в течение года, влияние сезона участия в исследовании на полученные результаты рассматривается нами как маловероятное. Кроме того, результаты анкетирования свидетельствуют о том, что различия в образе жизни, судя по всему, не способствовали снижению уровня витамина D у пациентов с акромегалией.

Во-вторых, наше исследование согласуется с указаниями на повышенную продукцию $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ при акромегалии, отмеченными в более ранних исследованиях и обсуждаемыми ранее [52, 83, 142, 238]. В целом, наблюдаемые исходно отклонения в метаболизме витамина D у пациентов с акромегалией

напоминают таковые у пациентов с дефицитом витамина D [217]. Тем не менее, эти изменения не могут быть полностью объяснены низкими исходными уровнями $25(\text{OH})\text{D}_3$ у пациентов с акромегалией, поскольку значимые различия между группами по соответствующим параметрам (уровням $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и соответствующим соотношениям) сохранялись в том числе в подгруппе пациентов, у которых было достигнуто восполнение уровня витамина D до нормальных значений. Повышенная продукция активного метаболита витамина D может быть причиной угнетения катаболического пути и наблюдаемой более низкой продукции $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, направленной на предотвращение дальнейшего прогрессирования дефицита витамина D.

Наиболее часто встречаемой находкой при биохимическом обследовании пациентов с акромегалией являлось повышение уровня фосфора в сыворотке крови, которое коррелировало с активностью заболевания. Повышение уровня кальция встречалось реже и не сохранялось после проведения поправки на альбумин в подавляющем большинстве случаев. Следует отметить, что среди включенных в исследование пациентов не было выявлено случаев сопутствующего первичного гиперпаратиреоза, который, по литературным данным, является одной из основных возможных причин повышения сывороточного кальция при акромегалии. Тем не менее, уровни кальция в сыворотке в целом были выше в группе акромегалии, что в сочетании с высокими сывороточными уровнями фосфора отражало повышенную продукцию активного метаболита витамина D. Отсутствие корреляции между исходными уровнями метаболитов витамина D и их соотношениями с маркерами активности основного заболевания позволяет предположить прямое влияние гиперпродукции СТГ на транспорт в кишечном эпителии и/или почечных канальцах, а также наличие дополнительных факторов, вызывающих наблюдаемые у пациентов отклонения в метаболизме кальция и фосфора.

Другим важным наблюдением стала низкая частота вторичного гиперпаратиреоза у пациентов с акромегалией и более низкие исходные уровни ПТГ, несмотря на тенденцию к более низким уровням витамина D. Подобные

данные, а также повышение уровня ПТГ после лечения акромегалии были показаны в некоторых из предыдущих исследований [58, 71, 124], хотя другие исследования продемонстрировали отличные результаты [34, 215, 238]. Мы предполагаем, что подавление секреции ПТГ, наблюдаемое у пациентов с акромегалией, могло быть связано с комбинированным влиянием более высоких уровней кальция и $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в сыворотке крови. Повышение уровней $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в начале периода наблюдения могло способствовать отмеченному в группе акромегалии более выраженному снижению ПТГ.

Хотя повышение уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$ в ответ на стандартную терапевтическую дозу колекальциферола оказалось сопоставимым между группами, его сывороточные концентрации среди пациентов с акромегалией были в целом ниже после приема болюсной дозы колекальциферола. Кроме того, у пациентов с акромегалией наблюдалась отрицательная корреляция прироста уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$ с маркерами активности заболевания и отсутствие его корреляции с ИМТ. Наряду с дискордантными различиями между группами в зависимости от наличия ожирения, это предполагает возможное влияние избыточной гормональной продукции на эффективность терапии колекальциферолом. На наблюдаемых различиях в приросте $25(\text{OH})\text{D}_3$ между группами могла отразиться более низкая активность 24-гидроксилазы у пациентов с акромегалией, а также более низкое процентное содержание жировой ткани в организме, характерное для пациентов с акромегалией [101].

Исходные уровни DBP не отличались значимо от таковых показателей у здоровых лиц, что не вполне соответствовало результатам предыдущего исследования по этой теме [24]. Однако, положительная корреляция значений DBP с ИФР-1 и его отличная от контрольной группы динамика после приема колекальциферола указывают на измененную регуляцию его продукции при активной акромегалии. Учитывая предполагаемое влияние избыточной продукции СТГ в качестве возможного объяснения, этот параметр, наряду с уровнем фосфора в сыворотке, заслуживает рассмотрения как маркер активности заболевания [153]. Более низкие исходные сывороточные концентрации свободного $25(\text{OH})\text{D}$ и его

менее выраженный прирост в течение периода наблюдения у пациентов с акромегалией соответствовали наблюдаемым исходным уровням 25(ОН)D₃ и динамике уровней DBP.

3.4 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. Основные характеристики исследуемых в данной части исследования групп представлены в Таблице 20.

Таблица 20. 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(ОН)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.

Обе группы состояли преимущественно из женщин молодого и среднего возраста, и большинство включенных лиц имели избыточный вес или умеренное ожирение. Пациенты с БИК имели более низкие скрининговые уровни общего 25(ОН)D, определенные методом иммунохемилюминесцентного анализа на исходном визите ($p = 0,002$).

Особенности течения основного заболевания в группе БИК приведены в Таблице 21.

Таблица 21. Характеристика группы БИК в контексте течения основного заболевания (n = 30).

Параметр	Значение
Время от появления симптомов, лет	6,0 [1,6; 11,8]
Время от постановки диагноза, лет	0,7 [0,4; 1,6]
Свободный кортизол, нмоль/24 часа	1227 [813; 2970]
Утренний АКТГ, пг/мл	87 [60; 125]
Наличие сахарного диабета, n (%)	15 (50%)
• HbA1c, %	7,8 [7,0; 8,4]
Низкоэнергетический перелом в анамнезе, n (%)	7 (23%)

Примечания: количественные признаки представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3], качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. АКТГ – адренокортикотропный гормон; БИК – болезнь Иценко-Кушинга; HbA1c – гликированный гемоглобин.

У всех включенных пациентов с БИК установлено наличие активности заболевания по результатам комплексного обследования в стационаре (повышение верхней границы РИ при измерении свободного кортизола в суточной моче и/или кортизола в слюне в 23:00 и/или отрицательный НПТ с 1 мг дексаметазона). Осложнения основного заболевания отмечены у значимой части участников исследования: у 50% пациентов с БИК имелся ранее диагностированный сахарный диабет с преимущественно компенсированным состоянием на момент участия в исследовании (медиана HbA1c 7,8 [7,0; 8,4] %), и у 23% пациентов имелись низкоэнергетические переломы в анамнезе.

Сравнительная характеристика образа жизни пациентов с БИК и контрольной группы представлены в Таблице 22.

Таблица 22. Характеристика образа жизни пациентов с БИК и контрольной группы.

Параметр	БИК (n=30)	Контрольная группа (n=30)	P
Курильщики в настоящее время, n (%)	6 (20%)	13 (43%)	0,095
Курильщики всего, n (%)	10 (33%)	18 (60%)	0,069
Употребление алкоголя, единиц в неделю	0 [0; 0]	1 [0; 2]	0,007
Упражнения продолжительностью более 30 мин, в неделю	5 [2; 7]	3 [2; 3]	0,093
Употребление молочных продуктов, порций в день	1 [1; 1]	1 [1; 1]	1,000
Употребление мясных продуктов, порций в неделю	5 [4; 7]	5 [3; 7]	0,640
Употребление кофе, чашек в неделю	6 [2; 8]	7 [1; 10]	0,405
Употребление газированных напитков, мл в неделю	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0,757
Путешествие на юг, n (%)	3 (10%)	4 (13%)	1,000
Прогулки в дневное время в солнечную погоду, n	7 [0; 20]	4 [1; 11]	0,493
Использование солярия, n (%)	0	1 (3%)	1,000
Использование солнцезащитного крема, n (%)	6 (20%)	13 (43%)	0,271

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.

Группы не имели значимых различий по статусу курения, уровню ежедневной физической активности, пищевым привычкам и воздействию УФ-излучения, и хотя наблюдалась небольшая разница в потреблении алкоголя ($p = 0,007$), абсолютные значения были небольшими в обеих группах.

Результаты лабораторных исследований в группах представлены в Таблицах 23 и 24.

Таблица 23. Концентрации биохимических показателей и ПТГ у пациентов с БИК и контрольной группы.

Лабораторный параметр	Группа	День 0 n _б = 30 n _к = 30	День 1 n _б = 30 n _к = 29	День 3 n _б = 30 n _к = 29	День 7 n _б = 30 n _к = 28	P (Friedman ANOVA)	P (Wilcoxon) **
Кальций общий, ммоль/л	БИК	2,39 [2,25; 2,44]	2,37 [2,31; 2,47]	2,35 [2,27; 2,46]	2,39 [2,27; 2,51]	0,887	-
	Контрольная группа	2,37 [2,31; 2,43]	2,41 [2,36; 2,46]	2,41 [2,37; 2,46]	2,37 [2,34; 2,48]	0,033	P ₀₋₁ = 0,014, p ₁₋₃ = 0,466, p ₃₋₇ = 0,282, p ₀₋₃ = 0,009, p ₁₋₇ = 0,895, p ₀₋₇ = 0,053
Кальций альбумин- скорректированный, ммоль/л	БИК	2,28 [2,21; 2,36]	2,31 [2,23; 2,38]	2,30 [2,22; 2,36]	2,31 [2,23; 2,37]	0,918	-
	Контрольная группа	2,25 [2,21; 2,31]	2,29 [2,23; 2,33]	2,30 [2,26; 2,35]	2,27 [2,24; 2,34]	0,005	P ₀₋₁ = 0,014, p ₁₋₃ = 0,241, p ₃₋₇ = 0,287, p ₀₋₃ < 0,001, p ₁₋₇ = 0,920, p ₀₋₇ = 0,034
Фосфор, ммоль/л	БИК	1,04 [0,98; 1,13]	1,15 [1,02; 1,19]	1,18 [1,04; 1,23]	1,07 [0,97; 1,19]	0,003	P ₀₋₁ = 0,006, p ₁₋₃ = 0,581, p ₃₋₇ = 0,033, p ₀₋₃ < 0,001, p ₁₋₇ = 0,258, p ₀₋₇ = 0,352
	Контрольная группа	1,10 [1,00; 1,22]	1,15 [1,01; 1,26]	1,19 [1,07; 1,27]	1,15 [1,09; 1,31]	0,058	-
ПТГ, пг/мл	БИК	38,9 [33,8; 55,2]	39,5 [29,7; 52,3]	40,1 [31,7; 52,8]	40,1 [30,5; 53,6]	0,597	-
	Контрольная группа	38,6 [31,0; 50,3]	37,0 [28,9; 51,4]	35,8 [28,9; 45,3]	34,3 [25,3; 47,7]	0,032	P ₀₋₁ = 0,738, p ₁₋₃ = p ₀₋₇ = 0,018, p ₃₋₇ = 0,927, p ₀₋₃ = 0,010, p ₁₋₇ = 0,127
Креатинин, мкмоль/л	БИК	67,6 [62,4; 70,1] *	68,9 [63,4; 72,8] *	68,9 [62,1; 72,9]	69,0 [63,3; 72,5]	0,296	-
	Контрольная группа	70,3 [67,4; 78,0]	73,5 [66,9; 79,8]	70,3 [67,1; 79,4]	72,2 [64,0; 83,9]	0,019	P ₀₋₁ = 0,002, p ₁₋₃ = 0,198, p ₃₋₇ = 0,206, p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = 0,070, p ₀₋₇ = 0,495
Альбумин, г/л	БИК	44 [42; 46] *	44 [41; 45] *	44 [40; 47] *	44 [41; 47]	0,293	-
	Контрольная группа	46 [44; 47]	46 [44; 48]	46 [44; 47]	46 [44; 47]	0,479	-
Магний, ммоль/л	БИК	0,87 [0,81; 0,92] *	0,86 [0,79; 0,94] *	0,84 [0,78; 0,91] *	0,87 [0,81; 0,93] *	0,271	-

	Контрольная группа	0,82 [0,76; 0,85]	0,79 [0,77; 0,84]	0,79 [0,76; 0,82]	0,79 [0,75; 0,84]	0,669	-
Кальций-креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	БИК	0,36 [0,16; 0,49]	0,49 [0,28; 0,63] *	0,37 [0,22; 0,59]	0,49 [0,23; 0,80]	0,053	-
	Контрольная группа	0,30 [0,13; 0,42]	0,26 [0,21; 0,41]	0,29 [0,21; 0,42]	0,35 [0,20; 0,50]	0,879	-
Фосфор-креатининовое соотношение мочи, ммоль/ммоль	БИК	2,6 [2,0; 3,1] *	2,6 [1,7; 3,1] *	2,6 [2,0; 3,6] *	3,4 [2,4; 4,1] *	0,001	P ₀₋₁ = 0,510, p ₁₋₃ = 0,657, p ₃₋₇ = 0,025, p ₀₋₃ = 0,136, p ₁₋₇ = 0,002, p ₀₋₇ <0,001
	Контрольная группа	1,8 [1,4; 2,7]	1,7 [0,9; 2,4]	1,6 [1,4; 2,3]	1,7 [1,2; 2,3]	0,088	-

Примечания: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. * Значимые различия при сравнении между группами. ** Подстрочный индекс в р-значениях указывает дни лабораторных исследований, между которыми проводилось попарное сравнение. В этих сравнениях применялась поправка Бонферрони, и значение р менее 0,0083 считалось статистически значимым. n_б – количество обследованных лиц с болезнью Иценко-Кушинга; n_к – количество обследованных лиц контрольной группы; БИК – болезнь Иценко-Кушинга; ПТГ – паратиреоидный гормон.

Таблица 24. Концентрации свободного 25(ОН)D, DBP и метаболитов витамина D у пациентов с БИК и контрольной группы.

Лабораторный параметр	Группа	День 0 n _б = 30 n _к = 30	День 1 n _б = 30 n _к = 29	День 3 n _б = 30 n _к = 29	День 7 n _б = 30 n _к = 28	P (Friedman ANOVA)	P (Wilcoxon) **
Свободный 25(ОН)D, пг/мл	БИК	4,9 [4,0; 6,1] *	10,7 [8,4; 12,5]	12,9 [11,0; 14,3]	11,4 [10,0; 12,5]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₇ = 0,674
	Контрольная группа	6,4 [4,1; 7,7]	12,1 [9,5; 15,0]	14,0 [10,3; 18,1]	12,9 [9,4; 15,4]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₇ = 0,105
DBP, мг/л	БИК	270 [227; 298]	277 [247; 328]	276 [236; 301] *	252 [206; 281]	0,156	-
	Контрольная группа	247 [212; 281]	258 [237; 300]	236 [204; 274]	245 [220; 277]	0,313	-

25(OH)D ₃ , нг/мл	БИК	17,9 [13,0; 24,5]	34,5 [27,6; 38,8]	37,6 [33,2; 45,5]	35,4 [32,1; 42,7]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,014, p ₁₋₇ = 0,006
	Контрольная группа	19,5 [12,5; 25,7]	31,0 [28,1; 35,0]	33,9 [30,2; 43,1]	34,3 [30,9; 42,9]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,648
3-epi-25(OH)D ₃ , нг/мл	БИК	0,8 [0,6; 1,1] *	3,0 [2,4; 3,5]	4,2 [3,6; 5,1]	3,1 [2,7; 3,8]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₇ = 0,018
	Контрольная группа	1,4 [0,9; 1,7]	2,7 [2,1; 3,5]	3,9 [3,3; 4,9]	3,6 [3,0; 4,6]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₃₋₇ = 0,003
1,25(OH) ₂ D ₃ , пг/мл	БИК	41 [35; 50]	48 [37; 53]	47 [42; 56]	42 [39; 52]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ <0,001, p ₁₋₃ = 0,222, p ₃₋₇ = 0,016, p ₁₋₇ = 0,422, p ₀₋₇ = 0,067
	Контрольная группа	42 [34; 48]	48 [41; 55]	46 [39; 54]	43 [35; 47]	0,092	-
24,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	БИК	1,0 [0,5; 1,4] *	1,4 [0,8; 1,8] *	2,1 [1,6; 2,8]	2,6 [1,8; 3,1]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001
	Контрольная группа	1,5 [0,9; 2,6]	1,8 [1,2; 2,6]	3,0 [1,9; 3,6]	3,2 [2,1; 4,2]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001
25(OH)D ₃ / 24,25(OH) ₂ D ₃	БИК	19,5 [15,3; 26,8] *	26,8 [21,2; 32,5] *	17,4 [15,9; 21,0] *	13,9 [12,3; 18,8] *	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₀₋₇ = p ₁₋₇ <0,001, p ₀₋₃ = 0,017
	Контрольная группа	12,7 [9,9; 17,0]	18,2 [14,2; 21,3]	13,1 [10,6; 18,2]	12,3 [9,0; 14,9]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₁₋₃ = p ₃₋₇ = p ₁₋₇ <0,001, p ₀₋₃ = 0,191, p ₀₋₇ = 0,002
25(OH)D ₃ / 1,25(OH) ₂ D ₃	БИК	425 [373; 555]	716 [588; 917]	783 [628; 1034]	814 [666; 1044]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ = p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₃ = 0,082, p ₃₋₇ = 0,861, p ₁₋₇ = 0,060
	Контрольная группа	501 [356; 641]	689 [548; 789]	757 [602; 972]	851 [727; 1028]	<0,001	P ₀₋₁ = p ₀₋₃ = p ₁₋₇ = p ₀₋₇ <0,001, p ₁₋₃ = 0,031, p ₃₋₇ = 0,050

Примечания: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1; Q3]. * Значимые различия при сравнении между группами. ** Подстрочный индекс в р-значениях указывает дни лабораторных исследований, между которыми проводилось попарное сравнение. В этих сравнениях применялась поправка Бонферрони, и значение р менее 0,0083 считалось статистически значимым. n_б – количество обследованных лиц с болезнью Иценко-Кушинга; n_к – количество обследованных лиц контрольной группы; БИК – болезнь Иценко-Кушинга; DBP – витамин D-связывающий белок.

У пациентов с БИК выявлен ряд отклонений в биохимических параметрах при исходном лабораторном обследовании, в частности, более низкие уровни креатинина ($p = 0,025$) и альбумина ($p = 0,002$) сыворотки, в то время как концентрации магния были выше, чем в контрольной группе ($p = 0,006$). В группе БИК также наблюдалось более высокое фосфор-креатининовое соотношение в моче ($p = 0,019$). Остальные изученные биохимические показатели не имели статистически значимой разницы между группами. У 3 пациентов (10%) из группы БИК и у 5 пациентов (17%) из контрольной группы выявлен вторичный гиперпаратиреоз, его частота не различалась значимо между группами ($p = 0,707$); у одного пациента с БИК в ходе исследования был диагностирован бессимптомный первичный гиперпаратиреоз.

Что касается оценки метаболизма витамина D, неожиданно уровни $25(\text{OH})\text{D}_3$ оказались равными в группах (17,9 [13,0; 24,5] против 19,5 [12,5; 25,7] нг/мл, $p = 0,432$), при этом только у 2 пациентов (7%) с БИК и у 1 пациента (3%) из контрольной группы отмечен достаточный уровень витамина D в соответствии с рекомендациями Endocrine Society и Российской ассоциации эндокринологов (≥ 30 нг/мл) [13, 114]. Сывороточные концентрации активного метаболита витамина D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) также были сопоставимы между группами ($p = 0,994$), тогда как уровни $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ были ниже у пациентов с БИК ($p = 0,002$ и $0,004$ соответственно). Результаты дальнейшего расчета соотношений $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ соответствовали наблюдаемым различиям в уровнях метаболитов: соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ были выше в группе БИК ($p < 0,001$), указывая на более низкую активность 24-гидроксилазы, а соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ не различались между группами ($p = 0,665$).

Уровни свободного $25(\text{OH})\text{D}$ были ниже у пациентов с БИК ($p = 0,027$), а уровни DBP не различались между группами ($p = 0,155$). Хотя расчетный свободный $25(\text{OH})\text{D}$ 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(OH)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(OH)D и не было выявлено связи с измеренными уровнями свободного 25(OH)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(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ ($r = 0,36$, $p = 0,049$).

Наблюдаемые исходные различия биохимических показателей в основном сохранялись в течение периода наблюдения. В группе БИК наблюдалось повышение уровня фосфора в сыворотке к 3-му дню ($p_{0-3} < 0,001$) и увеличение фосфор-креатининового соотношения в моче к 7-му дню ($p_{0-7} < 0,001$). У пациентов из контрольной группы наблюдался ряд клинически не значимых изменений биохимических показателей: повышение альбумин-скорректированного сывороточного кальция к 3-му дню наблюдения ($p_{0-3} < 0,001$), а также повышение креатинина сыворотки к 1-му дню ($p_{0-1} = 0,002$). У пациентов с БИК в течение периода наблюдения уровни ПТГ сохранялись неизменными, тогда как в контрольной группе наблюдалась тенденция к снижению ПТГ к 3-м суткам ($p_{0-3} = 0,010$). За время наблюдения не было зафиксировано новых случаев гиперкальциемии в обеих группах. У одного пациента из группы БИК и у одного пациента из контрольной группы на протяжении периода наблюдения наблюдалось устойчивое повышение кальций-креатининового соотношения в моче; у четырех пациентов (13%) с БИК в течение периода наблюдения развилась гиперкальциурия без каких-либо клинических проявлений в течение периода наблюдения, тогда как в контрольной группе не было новых случаев гиперкальциурии.

К 7-му дню 25 пациентов (83%) с БИК и 22 пациента (79%) из контрольной группы достигли адекватных уровней $25(\text{ОН})\text{D}_3$ (≥ 30 нг/мл) ($p = 0,744$). Прирост $25(\text{ОН})\text{D}_3$ ($\Delta 25(\text{ОН})\text{D}_3$) 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 $\Delta 25(\text{ОН})\text{D}_3$ 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, $p = 0,676$). Пациенты с БИК характеризовались сопоставимым $\Delta 25(\text{ОН})\text{D}_3$ вне зависимости от наличия ожирения ($n = 17$ против $n = 13$; 18,3 [14,2; 23,0] нг/мл против 19,6 [16,0; 21,5] нг/мл, $p = 0,837$), тогда как в контрольной группе $\Delta 25(\text{ОН})\text{D}_3$ был значимо меньше среди лиц с ожирением ($n = 8$ против $n = 20$; 12,1 [10,0; 13,1] против 18,3 [15,3; 21,4] нг/мл, $p < 0,001$). ИМТ имел статистически значимую корреляцию с $\Delta 25(\text{ОН})\text{D}_3$ только в контрольной группе ($r = -0,47$, $p = 0,011$), тогда как у пациентов с БИК такой ассоциации не было ($r = -0,06$, $p = 0,737$) (рис. 19).

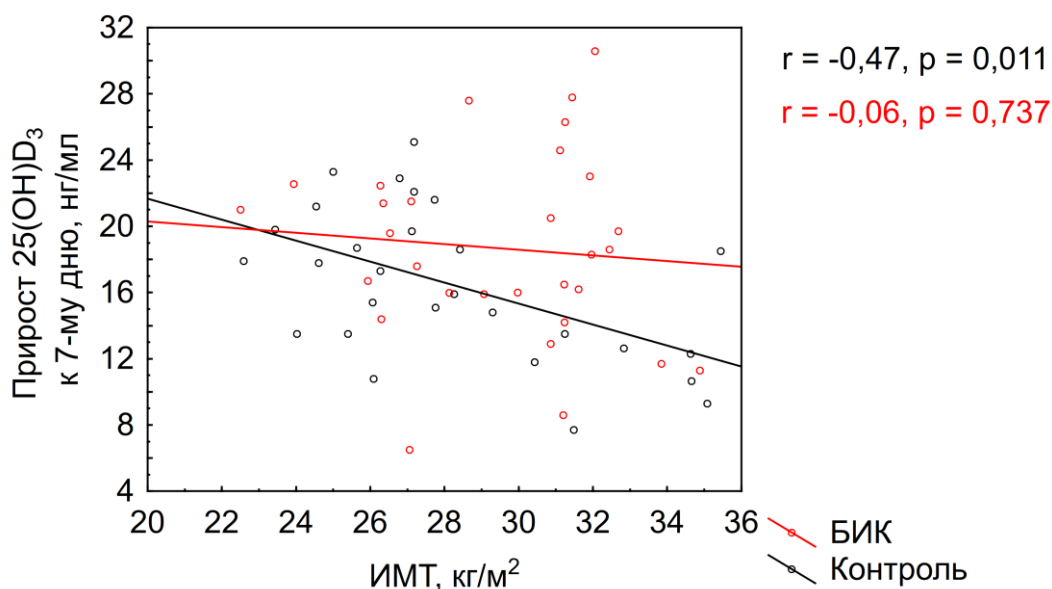


Рисунок 19. Корреляция между приростом $25(\text{ОН})\text{D}_3$ к 7-му дню наблюдения и ИМТ в группе БИК ($n = 30$) и в контрольной группе ($n = 28$). БИК – болезнь Иценко-Кушинга; ИМТ – индекс массы тела

Уровни $25(\text{OH})\text{D}_3$ продолжали увеличиваться к 3-му дню в обеих группах ($p_{0-3} < 0,001$), после чего имели тенденцию к снижению в группе БИК ($p_{3-7} = 0,014$) и оставались стабильными в контрольной группе ($p_{3-7} = 0,648$). Уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ увеличились у пациентов с БИК к 1-му дню ($p_{0-1} < 0,001$), после чего имели тенденцию к снижению ($p_{3-7} = 0,016$), тогда как в контрольной группе оставались стабильными в течение периода наблюдения. Остальные изученные параметры метаболизма витамина D в группах изменялись сходным образом: уровни 3-ері- $25(\text{OH})\text{D}_3$ увеличивались до 3-го дня, после чего снижались к 7-му дню; концентрации $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ характеризовались постепенным повышением на протяжении всего периода наблюдения. Уровни $25(\text{OH})\text{D}_2$ не превышали 0,5 нг/мл у всех обследованных лиц на протяжении всего периода наблюдения.

Как в группе БИК, так и в контрольной группе соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ увеличивались к 1-му дню, после чего снижались к 7-му дню ($p < 0,001$); соотношения $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ увеличивались к 1-му дню ($p_{0-1} < 0,001$), после чего оставались стабильными в группе БИК, а в контрольной группе увеличивались до 3-го дня ($p_{0-3} < 0,001$). Также в обеих группах значения DBP оставались неизменными, а уровень свободного $25(\text{OH})\text{D}$ увеличивался до 3-го дня после приема колекальциферола, после чего снизился к 7-му дню ($p < 0,001$). 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. 20).

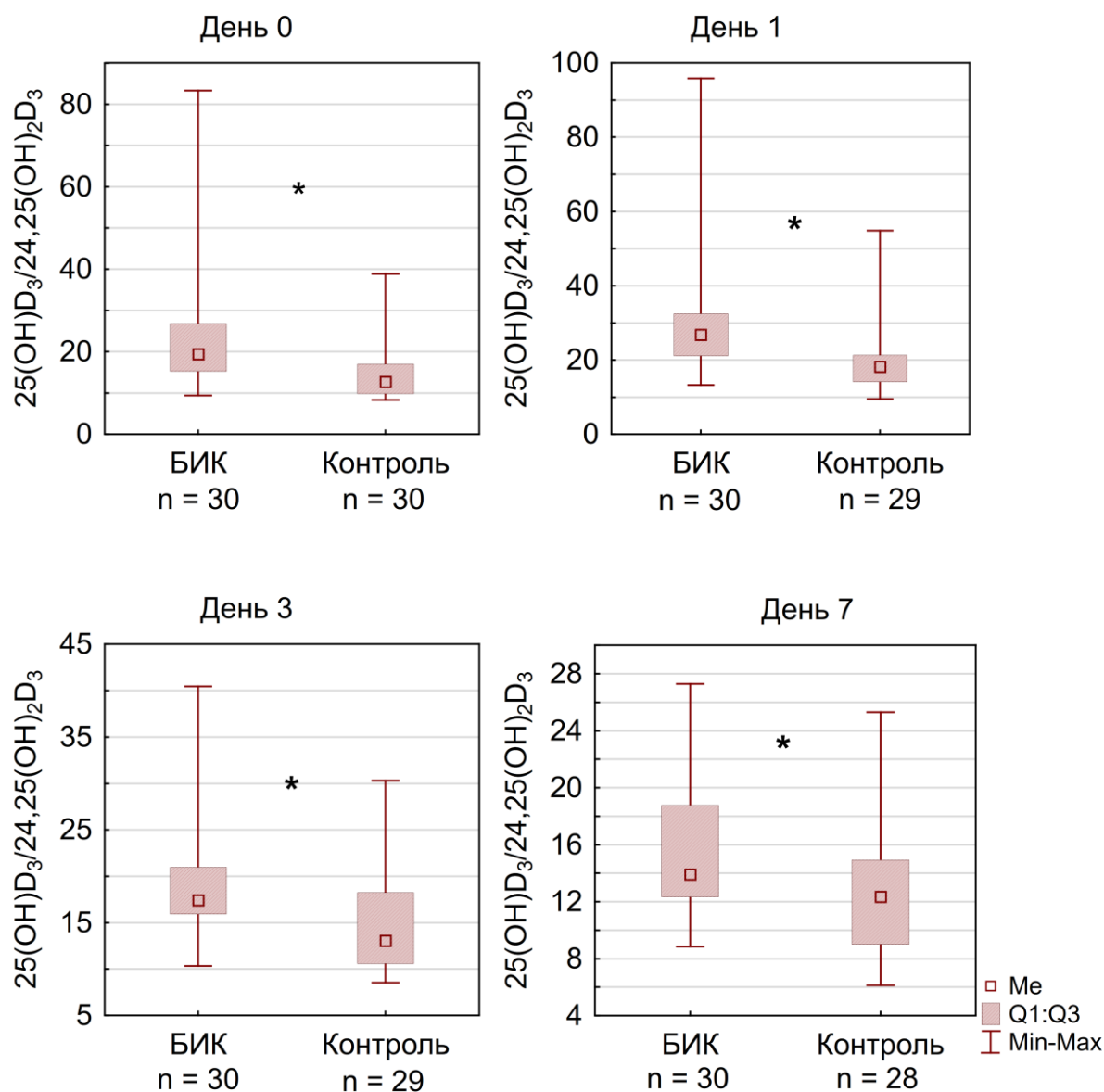


Рисунок 20. Динамика соотношений $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в группе БИК и контрольной группе. БИК – болезнь Иценко-Кушинга. * – значимые различия при сравнении между группами (критерий Mann-Whitney)

3.4.1 Обсуждение полученных результатов

Основная задача данной части исследования заключалась в оценке «статуса» витамина D и его изменения при приеме болюсной дозы колекальциферола у пациентов с БИК по сравнению со здоровыми людьми аналогичного возраста, пола и ИМТ. Мы не наблюдали различий между группами по исходному уровню $25(\text{OH})\text{D}_3$, оцененному методом ВЭЖХ-МС/МС, в то время как концентрации $25(\text{OH})\text{D}_2$, как и в остальных группах, оказались близки к неопределяемым.

Аналогичные нашим результаты были получены в большинстве исследований, проведенных именно при эндогенном гиперкортицизме у человека [22, 86] и у собак [72]. В исследовании Kugaï и соавт. отсутствовала контрольная группа, а уровень 25(OH)D в плазме крови соответствовал дефициту витамина D у большинства обследованных пациентов [132], в то время как в нашем исследовании только у 2/3 включенных пациентов с БИК наблюдалось снижение уровня 25(OH)D₃ ниже 20 нг/мл. Что касается экзогенного гиперкортицизма, мета-анализ, направленный на изучение уровней 25(OH)D в сыворотке крови у получающих длительную терапию глюкокортикоидами лиц, выявил его более низкие значения, чем у здоровых лиц в контрольной группе, но сопоставимые с таковыми у лиц с аналогичными заболеваниями, не принимавшими стероидные препараты [76]. Эти результаты позволяют предположить влияние основного заболевания, послужившего причиной длительной терапии глюкокортикоидами, на уровень 25(OH)D. Несколько удивительным являлся тот факт, что мы получили существенно противоречивые результаты в исследуемой группе при скрининге общего 25(OH)D с помощью иммуноаналитического метода и при измерении исходного уровня 25(OH)D₃ с помощью ВЭЖХ-МС/МС, поскольку первоначально выявленные различия между группами с более низкими уровнями общего 25(OH)D в исследуемой группе по данным хемилюминесцентного иммуноанализа не воспроизвелись в последующем при проведении исследования методом ВЭЖХ-МС/МС. Следует отметить, что наш иммуноаналитический метод, в отличие от ВЭЖХ-МС/МС, не участвовал во внешней программе контроля качества в период проведения исследования; кроме того, для этого метода имеются литературные указания на более низкие аналитические характеристики с тенденцией к низкой специфичности и высокой вариабельности результатов [145].

При оценке других параметров метаболизма витамина D наиболее значимым открытием оказалось более высокое соотношение 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ у пациентов с БИК, наблюдаемое как исходно, так и в ходе наблюдения после приема нагрузочной дозы колекальциферола, что указывает на устойчиво сниженную активность 24-гидроксилазы, основного фермента катаболизма витамина D. Более

ранние клинические и экспериментальные исследования также указывали на изменение активности ферментов метаболизма витамина D при гиперкортицизме. Однако, эти исследования были гетерогенными по своему дизайну и направлены преимущественно на изучение активности 1 α -гидроксилазы [72, 86, 103, 132, 140, 198], в отношении которой в нашем исследовании не получено данных о наличии изменений у пациентов с БИК по сравнению со здоровыми людьми. При краткосрочном назначении глюкокортикоидов Lindgren и соавт. показали транзиторное повышение уровня 24,25(OH)₂D₃ у крыс [140], в то время как в работе Nahn и соавт. не наблюдалось изменений в концентрациях 24,25(OH)₂D₃ [103]. Собаки с БИК имели аналогичные уровни 24,25(OH)₂D₃ до и после гипофизэктомии, а также по сравнению с контрольными собаками [72]. В единственном исследовании сопоставимого с нашим дизайна, проведенном Kugai и соавт., были получены низконормальные 24,25(OH)₂D₃ у пациентов с синдромом Кушинга [132], что согласуется с нашим результатом, а также с некоторыми экспериментальными работами, продемонстрировавшими подавление экспрессии CYP24A1 глюкокортикоидами в остеобластах человека [244], печени и кишечнике [245], а также в мозге и миокарде крыс [120]. Необходимо отметить, что в настоящей работе впервые активность 24-гидроксилазы у пациентов с гиперкортицизмом была оценена путем расчета отношения 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃, которое также активно обсуждается в последние годы с точки зрения нового инструмента для оценки «статуса» витамина D [60, 97]. Учитывая корреляцию этого параметра с лабораторным маркером активности основного заболевания (свободный кортизол в суточной моче), можно предположить прямое влияние гиперпродукции кортизола на активность 24-гидроксилазы. Интересно, что снижение активности 24-гидроксилазы, наблюдаемое у пациентов с БИК, судя по всему, повлияло на эффективность терапии колекальциферолом, уменьшив негативный вклад ожирения, поскольку у пациентов с БИК, в отличие от контрольной группы, наблюдался аналогичный прирост 25(OH)D₃ независимо от наличия ожирения и отсутствовала корреляция между Δ 25(OH)D₃ и ИМТ. Более того, прирост 25(OH)D₃ у пациентов с ожирением

из контрольной группы был меньше не только, чем у пациентов без ожирения, но и чем у пациентов с ожирением и БИК.

Другим интригующим открытием стало более низкое содержание свободного 25(ОН)D, наблюдаемое у пациентов с БИК, несмотря на аналогичные уровни DBP и более низкие уровни альбумина, что, напротив, позволяет ожидать более высоких значений свободного 25(ОН)D. Принимая во внимание более слабую корреляцию между измеренным и рассчитанным свободным 25(ОН)D у пациентов с БИК, а также отсутствие корреляции измеренного свободного 25(ОН)D с основным транспортным белком, можно заподозрить измененное сродство DBP к лиганду. Одно из возможных объяснений – гликозилирование белков вследствие сахарного диабета, имевшегося у половины включенных пациентов с БИК [188, 210]. После приема колекальциферола, который сопровождался увеличением свободного 25(ОН)D, различия между группами по сывороточным значениям данного показателя нивелировались, поэтому другим предполагаемым объяснением может выступить конкурентное связывание с лигандом. Поскольку для актина описано связывание DBP с высокой аффинностью [154], а также учитывая хорошо известное катаболическое действие глюкокортикоидов на мышечную ткань [102], мы рассматриваем актин как вероятный конкурирующий лиганд. Хотя это в основном умозрительные заключения, в настоящей работе впервые исследованы сывороточные уровни свободного витамина D в условиях избытка глюкокортикоидов, поэтому полученные результаты требуют проверки воспроизводимости и дальнейшего изучения.

Наблюдаемые различия в биохимических показателях, характеризующих кальций-фосфорный обмен, в целом соответствовали данным более ранних исследований [84–86, 93, 115, 182], за исключением сопоставимого с контрольной группой уровня фосфора в сыворотке крови и низкой распространенности гиперкальциурии. Интересным наблюдением стало отсутствие снижения ПТГ у пациентов с БИК после приема терапевтической дозы колекальциферола. Механизм этого явления не совсем ясен, мы склонны соглашаться с более ранней

гипотезой о том, что это может быть проявлением адаптации к хронической потере кальция с мочой [208].

Полученные в данном разделе результаты были частично опубликованы автором диссертационной работы в 2021–2022 гг. [177, 178].

Ограничения исследования

Наше исследование имело ряд ограничений: не проводилась отдельная оценка количества поступающего с пищей витамина D, не исследовались возможные генетические различия в изоформах DBP, которые могли бы повлиять на сывороточные концентрации DBP, а также некоторые параметры, вовлеченные в регуляцию гомеостаза кальций-фосфорного обмена (например, FGF-23), кроме того, не проводилась прямая оценка активности ферментов, участвующих в метаболизме витамина D. Выборка здоровых добровольцев характеризовалась относительно небольшим объемом и ограниченной репрезентативностью, что, однако, было связано с желанием минимизировать количество факторов, потенциально влияющих на метаболизм витамина D и кальций-фосфорный обмен. Редкость изучаемых заболеваний и эмпирическое формирование групп (без предварительного расчета размера выборки) в силу пилотного характера исследования также могли иметь определенное влияние на полученные результаты. Отдельные пациенты получали терапию с потенциальным влиянием на метаболизм витамина D и кальция в течение 3 месяцев до участия в исследовании (спиронолактон, диуретики, ингибиторы протонной помпы, пероральные контрацептивы, противогрибковая терапия, антидепрессанты, барбитураты, противоэпилептические препараты). Наконец, в настоящем исследовании не проводилось обследование пациентов с ремиссией акромегалии и БИК для проверки выдвинутых гипотез, что, однако, является многообещающим направлением для дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Появление хроматографических методов определения метаболитов витамина D открыло принципиально новые возможности изучения роли витамина D в организме, в том числе, позволило посмотреть с другой стороны на патогенез целого ряда заболеваний, прежде всего сопровождающихся развитием тяжелых костных осложнений.

В представленной работе проведена детальная характеристика метаболизма витамина D в зависимости от его содержания в организме, в том числе на фоне терапии стандартной болюсной дозой колекальциферола. Наблюдаемые изменения продукции активных и неактивных метаболитов на фоне приема болюсной дозы колекальциферола у здоровых лиц, а также выявленные отклонения у лиц с выраженным дефицитом витамина D, указывают на наличие функциональной адаптации ферментативной системы, осуществляющей метаболические трансформации витамина D, как к нехватке витамина D в организме, так и к его быстрому восполнению при приеме болюсной дозы. Продемонстрированы возможности использования других метаболитов витамина D, помимо традиционного маркера «статуса» витамина D (общего 25(OH)D), для оценки достаточности содержания витамина D в организме. Исходная оценка уровней метаболитов витамина D не предоставила преимуществ в предсказании эффективности болюсной дозы колекальциферола, однако представляется перспективным направлением изучение таковой способности при других режимах терапии колекальциферолом (в частности, при ежедневном режиме приема).

Настоящая работа также явилась первым проспективным интервенционным исследованием, охарактеризовавшим метаболизм витамина D в условиях гиперпродукции гормонов при нейроэндокринных заболеваниях – акромегалии и БИК. Выявленные изменения продукции основных метаболитов витамина D (в частности, повышенная продукция активного метаболита витамина D у пациентов с акромегалией и снижение активности катаболического пути у пациентов с БИК) позволяют расширить понимание патофизиологии этих состояний, в частности, известных ранее отклонений в параметрах кальций-фосфорного обмена. Кроме

того, наблюдаемая измененная эффективность болюсной дозы колекальциферола у этих пациентов требует дальнейшего изучения. Для проверки предложенных гипотез и разработки специализированных клинических руководств в отношении профилактики и коррекции дефицита витамина D при данных патологиях необходимы долгосрочные РКИ.

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-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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

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

АКТГ – адренокортикотропный гормон

АТФ – аденозинтрифосфат

БИК – болезнь Иценко-Кушинга

ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с тандемным масс-спектрометрическим детектированием

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМТ – индекс массы тела

ИФА – иммуноферментный анализ

ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1

КТ – компьютерная томография

МЕ – международных единиц

МПК – минеральная плотность кости

МРТ – магнитно-резонансная томография

НПТ – ночной подавляющий тест

ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест

ПТГ – паратиреоидный гормон

РИ – референсный интервал

РКИ – рандомизированное клиническое исследование

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СТГ – соматотропный гормон

УФ – ультрафиолетовый

СУР – цитохром P450

СУР24A1 – цитохром P450 24A1 (24-гидроксилаза)

СУР27B1 – цитохром P450 27B1 (1 α -гидроксилаза)

СУР2R1 – цитохром P450 2R1 (основная 25-гидроксилаза)

D₂ – эргокальциферол (витамин D₂)

D₃ – колекальциферол (витамин D₃)

DBP – vitamin D-binding protein, витамин D-связывающий белок

FGF-23 – fibroblast growth factor 23, фактор роста фибробластов 23

Max – максимальное значение

Me – медиана

Min – минимальное значение

Q1 – первый квартиль

Q3 – третий квартиль

RANKL – receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-B

TRPV6 – transient receptor potential vanilloid subfamily member 6, член 6 ваниллоидного подсемейства каналов транзитного рецепторного потенциала

VDR – vitamin D receptor, рецептор витамина D

VMR – vitamin D metabolite ratio, соотношение 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агуреева О. В., Жабрева Т. О., Скворцова Е. А., и соавт. Анализ уровня витамина D в сыворотке крови пациентов в Ростовской области // Остеопороз и остеопатии. - 2016. - № 2. - Т. 19. - С. 47.
2. Белая Ж. Е., Рожинская Л. Я., Гребенникова Т. А., и соавт. Краткое изложение проекта Федеральных клинических рекомендаций по остеопорозу // Остеопороз и остеопатии. - 2020. - № 2. - Т. 23. - С. 4–21.
3. Борисенко Е. П., Романцова Е. Б., Бабцева А. Ф. Обеспеченность витамином D детского и взрослого населения Амурской области // Бюллетень. - 2016. - № 60. - Т. 9. - С. 57–61.
4. Громова О. А., Торшин И. Ю., Гилельс А. В., и соавт. Метаболиты витамина D : роль в диагностике и терапии витамин-D-зависимых патологий // Фармакокинетика и фармакодинамика. - 2016. - № 4. - Т. 25. - С. 9–18.
5. Дедов И. И., Молитвословова Н. Н., Рожинская Л. Я., и соавт. Федеральные клинические рекомендации по клинике, диагностике, дифференциальной диагностике и методам лечения акромегалии // Проблемы эндокринологии. - 2013. - № 6. - Т. 59. - С. 4–18.
6. Каронова Т. Л., Гринева Е. Н., Никитина И. Л., и соавт. Уровень обеспеченности витамином D жителей Северо-Западного региона РФ (г. Санкт-Петербург и г. Петрозаводск) // Остеопороз и остеопатии. - 2013. - № 3. - Т. 16. - С. 3–7.
7. Малявская С. И., Кострова Г. Н., Лебедев А. В., и соавт. Уровни витамина D у представителей различных групп населения города Архангельска // Экология человека. - 2018. - № 1. - Т. 25. - С. 60–64.
8. Маркова Т. Н., Марков Д. С., Маркелова Т. Н., и соавт. Распространенность дефицита витамина D и факторов риска остеопороза у лиц молодого возраста // Вестник Чувашского Университета. - 2012. - № 3. - Т. 234. - С. 441–446.

9. Мельниченко Г. А., Дедов И. И., Белая Ж. Е., и соавт. Болезнь Иценко-Кушинга: Клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, методы лечения // Проблемы эндокринологии. - 2015. - № 2. - Т. 61. - С. 55–77.
10. Нурлыгаянов Р. З., Сыртланова Э. Р. Распространённость дефицита витамина D у лиц старше 50 лет, постоянно проживающих в республике Башкортостан, в период минимальной инсоляции // Остеопороз и остеопатии. - 2012. - № 3. - Т. 15. - С. 7–9.
11. Нурлыгаянов Р. З., Сыртланова Э. Р., Минасов Т. Б., и соавт. Уровень витамина D у лиц старше 50 лет, постоянно проживающих в республике Башкортостан, в период максимальной инсоляции // Остеопороз и остеопатии. - 2015. - № 1. - Т. 18. - С. 7–9.
12. Пигарова Е. А., Абдульвапова З. Н., Петрушкина А. А., и соавт. Случай тяжелого семейного дефицита витамина D // Остеопороз и остеопатии. - 2015. - № 3. - Т. 18. - С. 36–39.
13. Пигарова Е. А., Рожинская Л. Я., Белая Ж. Е., и соавт. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых // Проблемы эндокринологии. - 2016. - № 4. - Т. 62. - С. 60–84.
14. Пигарова Е. А., Рожинская Л. Я., Катамадзе Н. Н., и соавт. Распространенность дефицита и недостаточности витамина D среди населения, проживающего в различных регионах Российской Федерации: результаты 1-го этапа многоцентрового поперечного рандомизированного исследования // Остеопороз и остеопатии. - 2020. - № 4. - Т. 23. - С. 4–12.
15. Спасич Т. А., Лемешевская Е. П., Решетник Л. А., и соавт. Гигиеническое значение дефицита витамина D у населения Иркутской области и пути его профилактики // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2014. - № 6. - Т. 100. - С. 44–47.
16. Суплотова Л. А., Авдеева В. А., Пигарова Е. А., и соавт. “Точка отсечения”

витамина D: метод подавления избыточной секреции ПТГ // Ожирение и метаболизм. - 2019. - № 3. - Т. 16. - С. 88–93.

17. Суплотова Л. А., Авдеева В. А., Пигарова Е. А., и соавт. Дефицит витамина D в России: первые результаты регистрового неинтервенционного исследования частоты дефицита и недостаточности витамина D в различных географических регионах страны // Проблемы эндокринологии. - 2021. - № 2. - Т. 67. - С. 84–92.

18. Суплотова Л. А., Авдеева В. А., Пигарова Е. А., и соавт. Первое российское многоцентровое неинтервенционное регистровое исследование по изучению частоты дефицита и недостаточности витамина D в Российской Федерации у взрослых // Терапевтический архив. - 2021. - № 10. - Т. 93. - С. 1209–1216.

19. Хазова Е. Л., Ширинян Л. В., Зазерская И. Е., и соавт. Сезонные колебания уровня 25-гидроксиколекальциферола у беременных, проживающих в Санкт - Петербурге // Гинекология. - 2015. - № 4. - Т. 17. - С. 38–42.

20. Akeno N., Matsunuma A., Maeda T., et al. Regulation of vitamin D-1alpha-hydroxylase and -24-hydroxylase expression by dexamethasone in mouse kidney // J. Endocrinol. - 2000. - № 3. - Vol. 164. - P. 339–348.

21. Al Mutair A. N., Nasrat G. H., Russell D. W. Mutation of the CYP2R1 vitamin D 25-hydroxylase in a Saudi Arabian family with severe vitamin D deficiency // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2012. - № 10. - Vol. 97. - P. E2022–2025.

22. Aloia J. F., Roginsky M., Ellis K., et al. Skeletal metabolism and body composition in Cushing's syndrome // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 1974. - № 6. - Vol. 39. - P. 981–985.

23. Aloia J., Fazzari M., Shieh A., et al. The vitamin D metabolite ratio (VMR) as a predictor of functional biomarkers of bone health // Clinical Endocrinology. - 2017. - № 5. - Vol. 86. - P. 674–679.

24. Altinova A. E., Ozkan C., Akturk M., et al. Vitamin D-binding protein and free

vitamin D concentrations in acromegaly // *Endocrine*. - 2016. - № 2. - Vol. 52. - P. 374–9.

25. Alwan A., Rizkallah M., Maalouf G., et al. Positive Correlations Between Free Vitamin D and Bone Variables in a Group of Young Lebanese Men // *Journal of Clinical Densitometry*. - 2018. - № 3. - Vol. 21. - P. 459–461.

26. Aspray T. J., Bowring C., Fraser W., et al. National osteoporosis society vitamin D Guideline Summary // *Age and Ageing*. - 2014. - № 5. - Vol. 43. - P. 592–595.

27. Azer S. M., Vaughan L. E., Tebben P. J., et al. 24-Hydroxylase Deficiency Due to CYP24A1 Sequence Variants: Comparison With Other Vitamin D-mediated Hypercalcemia Disorders // *Journal of the Endocrine Society*. - 2021. - № 9. - Vol. 5. - P. 1–10.

28. Baecher S., Leinenbach A., Wright J. A., et al. Simultaneous quantification of four vitamin D metabolites in human serum using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for vitamin D profiling // *Clinical Biochemistry*. - 2012. - № 16–17. - Vol. 45. - P. 1491–1496.

29. Baldock P. A., Thomas G. P., Hodge J. M., et al. Vitamin D action and regulation of bone remodeling: suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast // *Journal of Bone and Mineral Research*. - 2006. - № 10. - Vol. 21. - P. 1618–1626.

30. Barger-Lux M. J., Heaney R. P. Effects of above average summer sun exposure on serum 25-hydroxyvitamin D and calcium absorption // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. - 2002. - № 11. - Vol. 87. - P. 4952–4956.

31. Bergeim O., Stewart F. T., Hawk P. B. A study of the metabolism of calcium, magnesium, sulphur, phosphorus, and nitrogen in acromegaly // *J Exp Med*. - 1914. - № 3. - Vol. 20. - P. 218–224.

32. Bhan I., Powe C. E., Berg A. H., et al. Bioavailable vitamin D is more tightly linked to mineral metabolism than total vitamin D in incident hemodialysis patients // *Kidney*

International. - 2012. - № 1. - Vol. 82. - P. 84–89.

33. Bianda T., Hussain M. A, Glatz Y., et al. Effects of short-term insulin-like growth factor-I or growth hormone treatment on bone turnover, renal phosphate reabsorption and 1,25 dihydroxyvitamin D₃ production in healthy man // Journal of internal medicine. - 1997. - № 2. - Vol. 241. - P. 143–50.

34. Bijlsma J. W., Nortier J. W., Duursma S. A., et al. Changes in bone metabolism during treatment of acromegaly // Acta Endocrinologica. - 1983. - № 2. - Vol. 104. - P. 153–9.

35. Bikle D. D. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications // Chemistry & biology. - 2014. - № 3. - Vol. 21. - P. 319–29.

36. Bikle D. D., Siiteri P. K., Ryzen E., et al. Serum protein binding of 1,25-Dihydroxyvitamin D: A reevaluation by direct measurement of free metabolite levels // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 1985. - № 5. - Vol. 61. - P. 969–975.

37. Bikle D. D., Gee E., Halloran B., et al. Assessment of the Free Fraction of 25-Hydroxyvitamin D in Serum and Its Regulation by Albumin and the Vitamin D-Binding Protein // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 1986. - № 4. - Vol. 63. - P. 954–959.

38. Bikle D. D., Schwartz J. Vitamin D binding protein, total and free vitamin D levels in different physiological and pathophysiological conditions // Frontiers in Endocrinology. - 2019. - № 5. - Vol. 10. - P. 317.

39. Binkley N., Dawson-Hughes B., Durazo-Arvizu R., et al. Vitamin D Measurement Standardization: The Way Out of the Chaos // Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology. - 2017. - Vol. 173. - P. 117–121.

40. Binkley N., Lappe J., Singh R., et al. Can vitamin D metabolite measurements facilitate a “treat-to-target” paradigm to guide vitamin D supplementation? // Osteoporosis International. - 2015. - № 5. - Vol. 26. - P. 1655–1660.

41. Bischoff-Ferrari H. A., Willett W. C., Wong J. B., et al. Fracture Prevention With Vitamin D Supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials // JAMA. - 2005. - № 18. - Vol. 293. - P. 2257–2264.
42. Bischoff-Ferrari H. A., Willett W. C., Wong J. B., et al. Prevention of Nonvertebral Fractures With Oral Vitamin D and Dose Dependency: a meta-analysis of randomized controlled trials // Archives of Internal Medicine. - 2009. - № 6. - Vol. 169. - P. 551–561.
43. Boer I. H., Sachs M. C., Chonchol M., et al. Estimated GFR and Circulating 24,25-Dihydroxyvitamin D3 Concentration: A Participant-Level Analysis of 5 Cohort Studies and Clinical Trials // Am J Kidney Dis. - 2014. - № 2. - Vol. 64. - P. 187–197.
44. Boonen S., Lips P., Bouillon R., et al. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin D supplementation: Evidence from a comparative metaanalysis of randomized controlled trials // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2007. - № 4. - Vol. 92. - P. 1415–1423.
45. Boonen S., Vanderschueren D., Haentjens P., et al. Calcium and vitamin D in the prevention and treatment of osteoporosis - A clinical update // Journal of Internal Medicine. - 2006. - № 6. - Vol. 259. - P. 539–552.
46. Bouillon R. Genetic and Racial Differences in the Vitamin D Endocrine System // Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. - 2017. - № 4. - Vol. 46. - P. 1119–1135.
47. Bouillon R., Van Schoor N. M., Gielen E., et al. Optimal vitamin D status: A critical analysis on the basis of evidence-based medicine // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2013. - № 8. - Vol. 98. - P. E1283–E1304.
48. Bouillon R., Schuit F., Antonio L., et al. Vitamin D Binding Protein: A Historic Overview // Frontiers in Endocrinology. - 2020. - Vol. 10. - P. 910.
49. Braun A., Kofler A., Morawietz S., et al. Sequence and organization of the human vitamin D-binding protein gene // Biochimica et Biophysica Acta. - 1993. - № 3. - Vol.

1216. - P. 385–394.

50. Brixen K., Nielsen H. K., Bouillon R., et al. Effects of short-term growth hormone treatment on PTH, calcitriol, thyroid hormones, insulin and glucagon // *Acta Endocrinologica*. - 1992. - № 4. - Vol. 127. - P. 331–6.

51. Brown A. J., Ritter C., Slatopolsky E., et al. 1Alpha,25-dihydroxy-3-epi-vitamin D₃, a natural metabolite of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃, is a potent suppressor of parathyroid hormone secretion // *Journal of cellular biochemistry*. - 1999. - № 1. - Vol. 73. - P. 106–113.

52. Brown D. J., Spanos E., MacIntyre I. Role of pituitary hormones in regulating renal vitamin D metabolism in man // *British Medical Journal*. - 1980. - № 6210. - Vol. 280. - P. 277–278.

53. Brown J., Singer F. R. Calcium metabolism in acromegaly // *British Medical Journal*. - 1969. - № 5648. - Vol. 2. - P. 50.

54. Buckley L., Guyatt G., Fink H. A., et al. 2017 American College of Rheumatology Guideline for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis // *Arthritis Care & Research*. - 2017. - № 8. - Vol. 69. - P. 1095–1110.

55. Cai Q., Chandler J. S., Wasserman R. H., et al. Vitamin D and adaptation to dietary calcium and phosphate deficiencies increase intestinal plasma membrane calcium pump gene expression // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 1993. - № 4. - Vol. 90. - P. 1345–9.

56. Calvo M., Ena J. M. Relations between vitamin D and fatty acid binding properties of vitamin D-binding protein // *Biochemical and biophysical research communications*. - 1989. - № 1. - Vol. 163. - P. 14–17.

57. Camanni F., Massara F., Losana O., et al. Increased Renal Tubular Reabsorption of Phosphorus in Acromegaly // *J Clin Endocrinol Metab*. - 1968. - № 7. - Vol. 28. - P. 999–1005.

58. Cappelli C., Gandossi E., Agosti B., et al. Long-term treatment of acromegaly with

lanreotide: evidence of increased serum parathormone concentration // Endocrine journal. - 2004. - № 6. - Vol. 51. - P. 517–20.

59. Cashman K. D., Dowling K. G., Škrabáková Z., et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? // American Journal of Clinical Nutrition. - 2016. - № 4. - Vol. 103. - P. 1033–1044.

60. Cavalier E., Huyghebaert L., Rousselle O., et al. Simultaneous measurement of 25(OH)-vitamin D and 24,25(OH)₂-vitamin D to define cut-offs for CYP24A1 mutation and vitamin D deficiency in a population of 1200 young subjects // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. - 2020. - № 2. - Vol. 58. - P. 197–201.

61. Cesareo R., Attanasio R., Caputo M., et al. Italian association of clinical endocrinologists (AME) and Italian chapter of the American association of clinical endocrinologists (AACE) position statement: Clinical management of vitamin D deficiency in adults // Nutrients. - 2018. - № 5. - Vol. 10. - P. 546.

62. Chaiamnuay S., Chailurkit L. O., Narongroeknawin P., et al. Current daily glucocorticoid use and serum creatinine levels are associated with lower 25(OH) vitamin D levels in thai patients with systemic lupus erythematosus // Journal of Clinical Rheumatology. - 2013. - № 3. - Vol. 19. - P. 121–125.

63. Chapuy M., Preziosi P., Maamer M., et al. Prevalence of Vitamin D Insufficiency in an Adult Normal Population // Osteoporosis International. - 1997. - № 5. - Vol. 7. - P. 439–443.

64. Cheng J. B., Levine M. A., Bell N. H., et al. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase // Proc Natl Acad Sci USA. - 2004. - № 20. - Vol. 101. - P. 7711–7715.

65. Cheng J. B., Motola D. L., Mangelsdorf D. J., et al. De-orphanization of Cytochrome P450 2R1 // Journal of Biological Chemistry. - 2003. - № 39. - Vol. 278. - P. 38084–38093.

66. Christakos S., Dhawan P., Verstuyf A., et al. Vitamin D: Metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects // *Physiological Reviews*. - 2016. - № 1. - Vol. 96. - P. 365–408.
67. Clarke M. W., Tuckey R. C., Gorman S., et al. Optimized 25-hydroxyvitamin D analysis using liquid-liquid extraction with 2D separation with LC/MS/MS detection, provides superior precision compared to conventional assays // *Metabolomics*. - 2013. - № 5. - Vol. 9. - P. 1031–1040.
68. Cleve H., Constans J. The Mutants of the Vitamin-D-Binding Protein: More than 120 Variants of the GC/DBP System // *Vox Sanguinis*. - 1988. - № 4. - Vol. 54. - P. 215–225.
69. Compston J. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update // *Endocrine*. - 2018. - № 1. - Vol. 61. - P. 7–16.
70. Condamine L., Mena C., Vrtovsni F., et al. Local action of phosphate depletion and insulin-like growth factor 1 on in vitro production of 1,25-dihydroxyvitamin D by cultured mammalian kidney cells // *J Clin Invest*. - 1994. - № 4. - Vol. 94. - P. 1673–9.
71. Constantin T., Tangpricha V., Shah R., et al. Calcium and bone turnover markers in acromegaly: A prospective, controlled study // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2017. - № 7. - Vol. 102. - P. 2416–2424.
72. Corbee R. J., Tryfonidou M. A., Meij B. P., et al. Vitamin D status before and after hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism // *Domestic Animal Endocrinology*. - 2012. - № 1. - Vol. 42. - P. 43–49.
73. Dahl B., Schiødt F. V., Gehrchen P. M., et al. Gc-globulin is an acute phase reactant and an indicator of muscle injury after spinal surgery // *Inflammation Research*. - 2001. - № 1. - Vol. 50. - P. 39–43.
74. Dahl B., Schiødt F. V., Rudolph S., et al. Trauma stimulates the synthesis of Gc-globulin // *Intensive Care Medicine*. - 2001. - № 2. - Vol. 27. - P. 394–399.
75. Dardenne O., Prudhomme J., Arabian A., et al. Targeted Inactivation of the 25-

Hydroxyvitamin D3-1 α -Hydroxylase Gene (CYP27B1) Creates an Animal Model of Pseudovitamin D-Deficiency Rickets // *Endocrinology*. - 2001. - № 7. - Vol. 142. - P. 3135–3141.

76. Davidson Z. E., Walker K. Z., Truby H. Do glucocorticosteroids alter vitamin D status? A systematic review with meta-analyses of observational studies // *J Clin Endocrinol Metab*. - 2012. - № 3. - Vol. 97. - P. 738–744.

77. DeLuca H. F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D // *The American journal of clinical nutrition*. - 2004. - № 6 Suppl. - Vol. 80. - P. 1689S–1696S.

78. Dhawan P., Christakos S. Novel regulation of 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase (24(OH)ase) transcription by glucocorticoids: cooperative effects of the glucocorticoid receptor, C/EBP β , and the vitamin D receptor in 24(OH)ase transcription // *Journal of Cellular Biochemistry*. - 2010. - № 6. - Vol. 110. - P. 1314–1323.

79. DiMartino S. J., Shah A. B., Trujillo G., et al. Elastase Controls the Binding of the Vitamin D-Binding Protein (Gc-Globulin) to Neutrophils: A Potential Role in the Regulation of C5a Co-Chemotactic Activity // *The Journal of Immunology*. - 2001. - № 4. - Vol. 166. - P. 2688–2694.

80. Dinour D., Beckerman P., Ganon L., et al. Loss-of-function mutations of CYP24A1, the vitamin D 24-hydroxylase gene, cause long-standing hypercalciuric nephrolithiasis and nephrocalcinosis // *Journal of Urology*. - 2013. - № 2. - Vol. 190. - P. 552–557.

81. Dirks N. F., Martens F., Vanderschueren D., et al. Determination of human reference values for serum total 1,25-dihydroxyvitamin D using an extensively validated 2D ID-UPLC–MS/MS method // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. - 2016. - Vol. 164. - P. 127–133.

82. Dueland S., Nenseter M. S., Drevon C. A. Uptake and degradation of filamentous actin and vitamin D-binding protein in the rat // *Biochemical Journal*. - 1991. - № 1. - Vol. 274. - P. 237–241.

83. Eskildsen P. C., Lund B., Sorensen O. H., et al. Acromegaly and vitamin D metabolism: effect of bromocriptine treatment // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 1979. - № 3. - Vol. 49. - P. 484–6.
84. Faggiano A., Pivonello R., Melis D., et al. Nephrolithiasis in Cushing's disease: Prevalence, etiopathogenesis, and modification after disease cure // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2003. - № 5. - Vol. 88. - P. 2076–2080.
85. Ferrari P., Bianchetti M. G., Sansonnens A., et al. Modulation of renal calcium handling by 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 // *Journal of the American Society of Nephrology*. - 2002. - № 10. - Vol. 13. - P. 2540–2546.
86. Findling J. W., Adams N. D., Lemann J., et al. Vitamin D metabolites and parathyroid hormone in Cushing's syndrome : relationship to calcium and phosphorus homeostasis // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 1982. - № 5. - Vol. 54. - P. 1039–1044.
87. Findling J. W., Kehoe M. E., Raff H. Identification of patients with Cushing's disease with negative pituitary adrenocorticotropin gradients during inferior petrosal sinus sampling: Prolactin as an index of pituitary venous effluent // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2004. - № 12. - Vol. 89. - P. 6005–6009.
88. Fleet J. C., Eksir F., Hance K. W., et al. Vitamin D-inducible calcium transport and gene expression in three Caco-2 cell lines // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. - 2002. - № 3. - Vol. 283. - P. G618-25.
89. Fontaine O., Pavlovitch H., Balsan S. 25-hydroxycholecalciferol metabolism in hypophysectomized rats // *Endocrinology*. - 1978. - № 6. - Vol. 102. - P. 1822–1826.
90. Francic V., Ursem S. R., Dirks N. F., et al. The effect of vitamin D supplementation on its metabolism and the vitamin D metabolite ratio // *Nutrients*. - 2019. - № 10. - Vol. 11. - P. 2539.
91. Fraser D., Kooh S., Kind H., et al. An Inborn Error of Vitamin D Metabolism

Involving Defective Conversion of 25-Hydroxyvitamin D to 1α , 25-dihydroxyvitamin D // The New England journal of medicine. - 1973. - № 16. - Vol. 289. - P. 817–822.

92. Fredstorp L., Pernow Y., Werner S. The short and long-term effects of octreotide on calcium homeostasis in patients with acromegaly // Clin Endocrinol (Oxf). - 1993. - № 3. - Vol. 39. - P. 331–336.

93. Freiberg J. M., Kinsella J., Sacktor B. Glucocorticoids increase the Na^+ - H^+ exchange and decrease the Na^+ gradient-dependent phosphate-uptake systems in renal brush border membrane vesicles // Proc Natl Acad Sci USA. - 1982. - № 16. - Vol. 79. - P. 4932–4936.

94. Fu G. K., Lin D., Zhang M. Y., et al. Cloning of human 25-hydroxyvitamin D- 1α -hydroxylase and mutations causing vitamin D-dependent rickets type 1 // Molecular Endocrinology. - 1997. - № 13. - Vol. 11. - P. 1961–1970.

95. Fujita H., Sugimoto K., Inatomi S., et al. Tight Junction Proteins Claudin-2 and -12 Are Critical for Vitamin D-dependent Ca^{2+} Absorption between Enterocytes // Molecular biology of the cell. - 2008. - № 5. - Vol. 19. - P. 1912–1921.

96. Garabedian M., Holick M. F., Deluca H. F., et al. Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands // Proc Natl Acad Sci USA. - 1972. - № 7. - Vol. 69. - P. 1673–1676.

97. Ginsberg C., Hoofnagle A. N., Katz R., et al. The Vitamin D Metabolite Ratio Is Associated With Changes in Bone Density and Fracture Risk in Older Adults // Journal of Bone and Mineral Research. - 2021. - № 12. - Vol. 36. - P. 2343–2350.

98. Ginsberg C., Katz R., Boer I. H., et al. The 24,25 to 25-hydroxyvitamin D ratio and fracture risk in older adults: The cardiovascular health study // Bone. - 2018. - Vol. 107. - P. 124–130.

99. Giustina A., Bouillon R., Binkley N., et al. Controversies in Vitamin D: A Statement From the Third International Conference // JBMR Plus. - 2020. - № 12. - Vol. 4. - P. e10417.

100. Gopal-Kothandapani J. S., Evans L. F., Walsh J. S., et al. Effect of vitamin D supplementation on free and total vitamin D: A comparison of Asians and Caucasians // *Clinical Endocrinology*. - 2019. - № 1. - Vol. 90. - P. 222–231.
101. Guo X., Gao L., Shi X., et al. Pre- and Postoperative Body Composition and Metabolic Characteristics in Patients with Acromegaly: A Prospective Study // *International Journal of Endocrinology*. - 2018. - Vol. 2018. - P. 4125013.
102. Gupta Y., Gupta A. Glucocorticoid-induced myopathy: Pathophysiology, diagnosis, and treatment // *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. - 2013. - № 5. - Vol. 17. - P. 913–6.
103. Hahn T. J., Halstead L. R., Baran D. T. Effects of short term glucocorticoid administration on intestinal calcium absorption and circulating vitamin D metabolite concentrations in man // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 1981. - № 1. - Vol. 52. - P. 111–115.
104. Halse J., Haugen H. N. Calcium and phosphate metabolism in acromegaly // *Acta Endocrinol (Copenh)*. - 1980. - № 4. - Vol. 94. - P. 459–67.
105. Halupczok-Zyła J., Jawiarczyk-Przybyłowska A., Bolanowski M. Patients with active acromegaly are at high risk of 25(OH)D deficiency // *Frontiers in Endocrinology*. - 2015. - Vol. 6. - P. 89.
106. Hanley D. A., Cranney A., Jones G., et al. Vitamin D in adult health and disease: A review and guideline statement from Osteoporosis Canada // *CMAJ*. - 2010. - № 12. - Vol. 182. - P. E610–8.
107. Haq A., Wimalawansa S. J., Pludowski P., et al. Clinical practice guidelines for vitamin D in the United Arab Emirates // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. - 2018. - Vol. 175. - P. 4–11.
108. Haussler M. R., Jurutka P. W., Mizwicki M., et al. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1 α ,25(OH) $_2$ -vitamin D $_3$: Genomic and non-genomic mechanisms //

Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2011. - № 4. - Vol. 25. - P. 543–559.

109. Heaney R. P., Dowell M. S., Hale C. A., et al. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D // Journal of the American College of Nutrition. - 2003. - № 2. - Vol. 22. - P. 142–146.

110. Heureux N., Lindhout E., Swinkels L. A direct assay for measuring free 25-hydroxyvitamin D // Journal of AOAC International. - 2017. - № 5. - Vol. 100. - P. 1318–1322.

111. Hewison M., Burke F., Evans K. N., et al. Extra-renal 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in human health and disease // Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. - 2007. - № 3–5. - Vol. 103. - P. 316–321.

112. Ho P. J., Fig L. M., Barkan A. L., et al. Bone mineral density of the axial skeleton in acromegaly // Journal of Nuclear Medicine. - 1992. - № 9. - Vol. 33. - P. 1608–1612.

113. Holick M. F. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health // Mayo Clinic Proceedings. - 2006. - № 3. - Vol. 81. - P. 353–373.

114. Holick M. F., Binkley N. C., Bischoff-Ferrari H. A., et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2011. - № 7. - Vol. 96. - P. 1911–1930.

115. Huybers S., Naber T. H. J., Bindels R. J. M., et al. Prednisolone-induced Ca²⁺ malabsorption is caused by diminished expression of the epithelial Ca²⁺ channel TRPV6 // American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology. - 2007. - № 1. - Vol. 292. - P. G92–97.

116. Ilhan M., Toptas-Hekimoglu B., Yaylim I., et al. Investigation of the vitamin D receptor polymorphisms in acromegaly patients // BioMed Research International. - 2015. - Vol. 2015. - P. 625981

117. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
118. Jehle A.W., Forgo J., Biber J., et al. IGF-I and vanadate stimulate Na/Pi-cotransport in OK cells by increasing type II Na/Pi-cotransporter protein stability // *Pflügers Arch – Eur J Physiol.* - 1998. - № 1. - Vol. 437. - P. 149–154.
119. Jemielita T. O., Leonard M. B., Baker J., et al. Association of 25-hydroxyvitamin D with areal and volumetric measures of bone mineral density and parathyroid hormone: impact of vitamin D-binding protein and its assays // *Osteoporosis International.* - 2016. - № 2. - Vol. 27. - P. 617–626.
120. Jiang P., Xue Y., Li H., et al. Dysregulation of vitamin D metabolism in the brain and myocardium of rats following prolonged exposure to dexamethasone // *Psychopharmacology.* - 2014. - № 17. - Vol. 231. - P. 3445–51.
121. Jones G., Kaufmann M. Diagnostic Aspects of Vitamin D: Clinical Utility of Vitamin D Metabolite Profiling // *JBMR Plus.* - 2021. - № 12. - Vol. 5. - P. e10581.
122. Jones G., Prosser D. E., Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D // *Journal of Lipid Research.* - 2014. - № 1. - Vol. 55. - P. 13–31.
123. Kamao M., Tatematsu S., Hatakeyama S., et al. C-3 epimerization of vitamin D₃ metabolites and further metabolism of C-3 epimers: 25-Hydroxyvitamin D₃ is metabolized to 3-epi-25-hydroxyvitamin D₃ and subsequently metabolized through C-1 α or C-24 hydroxylation // *Journal of Biological Chemistry.* - 2004. - № 16. - Vol. 279. - P. 15897–15907.
124. Kamenický P., Blanchard A., Gauci C., et al. Pathophysiology of renal calcium handling in acromegaly: What lies behind hypercalciuria? // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* - 2012. - № 6. - Vol. 97. - P. 2124–2133.

125. Katznelson L., Laws E. R., Melmed S., et al. Acromegaly: An Endocrine Society clinical practice guideline // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2014. - № 11. - Vol. 99. - P. 3933–3951.
126. Kaufmann M., Gallagher J. C., Peacock M., et al. Clinical utility of simultaneous quantitation of 25-hydroxyvitamin D and 24,25-dihydroxyvitamin D by LC-MS/MS involving derivatization with DMEQ-TAD // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2014. - № 7. - Vol. 99. - P. 2567–2574.
127. Kaufmann M., Morse N., Molloy B. J., et al. Improved Screening Test for Idiopathic Infantile Hypercalcemia Confirms Residual Levels of Serum 24,25-(OH)₂D₃ in Affected Patients // *Journal of Bone and Mineral Research*. - 2017. - № 7. - Vol. 32. - P. 1589–1596.
128. Kaufmann M., Schlingmann K. P., Berezin L., et al. Differential diagnosis of vitamin D-related hypercalcemia using serum vitamin D metabolite profiling // *Journal of Bone and Mineral Research*. - 2021. - № 7. - Vol. 36. - P. 1340–1350.
129. Kew R. R., Webster R. O. Gc-globulin (vitamin D-binding protein) enhances the neutrophil chemotactic activity of C5a and C5a des Arg // *Journal of Clinical Investigation*. - 1988. - № 1. - Vol. 82. - P. 364–369.
130. Kim H. K., Chung H. J., Lê H. G., et al. Serum 24,25-dihydroxyvitamin D level in general Korean population and its relationship with other vitamin D biomarkers // *PLoS ONE*. - 2021. - № 2. - Vol. 16. - P. e0246541.
131. Klein R. G., Arnaud S. B., Gallagher J. C., et al. Intestinal calcium absorption in exogenous hypercortisolism. Role of 25-hydroxyvitamin D and corticosteroid dose // *J Clin Invest*. - 1977. - № 1. - Vol. 60. - P. 253–259.
132. Kugai N., Koide Y., Yamashita K., et al. Impaired mineral metabolism in Cushing's syndrome: parathyroid function, vitamin D metabolites and osteopenia // *Endocrinol. Japon*. - 1986. - № 3. - Vol. 33. - P. 345–352.

133. Kurahashi I., Matsunuma A., Kawane T., et al. Dexamethasone enhances vitamin D-24-hydroxylase expression in osteoblastic (UMR-106) and renal (LLC-PK 1) cells treated with 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ // *Endocrine*. - 2002. - № 2. - Vol. 17. - P. 109–118.
134. Kutuzova G. D., DeLuca H. F. Gene expression profiles in rat intestine identify pathways for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ stimulated calcium absorption and clarify its immunomodulatory properties // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. - 2004. - № 2. - Vol. 432. - P. 152–166.
135. Leaf D. E., Waikar S. S., Wolf M., et al. Dysregulated mineral metabolism in patients with acute kidney injury and risk of adverse outcomes // *Clinical Endocrinology*. - 2013. - № 4. - Vol. 79. - P. 491–498.
136. Lensmeyer G., Poquette M., Wiebe D., et al. The C-3 epimer of 25-hydroxyvitamin D₃ is present in adult serum // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2012. - № 1. - Vol. 97. - P. 163–168.
137. Libório A. B., Figueiredo P. R. L., Montenegro R. M., et al. Urinary calcium excretion and insulin resistance in patients with acromegaly // *International Urology and Nephrology*. - 2012. - № 5. - Vol. 44. - P. 1473–1477.
138. Lieben L., Masuyama R., Torrekens S., et al. Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D–induced inhibition of bone mineralization // *The Journal of Clinical Investigation*. - 2012. - № 5. - Vol. 122. - P. 1803–15.
139. Lind S. E., Smith D. B., Janney P. A., et al. Depression of gelsolin levels and detection of gelsolin-actin complexes in plasma of patients with acute lung injury // *American Review of Respiratory Disease*. - 1988. - № 2. - Vol. 138. - P. 429–434.
140. Lindgren J. U., Merchant C. R., DeLuca H. F. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on osteopenia induced by prednisolone in adult rats // *Calcified Tissue International*. - 1982. - № 3. - Vol. 34. - P. 253–257.

141. Liu S., Tang W., Zhou J., et al. Fibroblast Growth Factor 23 Is a Counter-Regulatory Phosphaturic Hormone for Vitamin D // *J Am Soc Nephrol*. - 2006. - № 5. - Vol. 17. - P. 1305–1315.
142. Lund B., Eskildsen P. C., Lund B., et al. Calcium and vitamin D metabolism in acromegaly // *Acta Endocrinol (Copenh)*. - 1981. - № 4. - Vol. 96. - P. 444–450.
143. Luo G., Cunningham M., Kim S., et al. CYP3A4 induction by drugs: Correlation between a pregnane X receptor reporter gene assay and CYP3A4 expression in human hepatocytes // *Drug Metabolism and Disposition*. - 2002. - № 7. - Vol. 30. - P. 795–804.
144. Machado M. C., Sa S. V., Domenice S., et al. The role of desmopressin in bilateral and simultaneous inferior petrosal sinus sampling for differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome // *Clinical Endocrinology*. - 2007. - № 1. - Vol. 66. - P. 136–142.
145. Máčová L., Bičíková M. Vitamin D: Current challenges between the laboratory and clinical practice // *Nutrients*. - 2021. - № 6. - Vol. 13. - P. 1758.
146. Madden K., Feldman H. A., Chun R. F., et al. Critically Ill Children Have Low Vitamin D Binding Protein, Influencing Bioavailability of Vitamin D // *Annals of the American Thoracic Society*. - 2015. - № 11. - Vol. 12. - P. 1654–61.
147. Maeda S. S., Borba V. Z. C., Camargo M. B. R., et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D // *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. - 2014. - № 5. - Vol. 58. - P. 411–433.
148. Malabanan A. O., Turner A. K., Holick M. F. Severe generalized bone pain and osteoporosis in a premenopausal black female: Effect of vitamin D replacement // *Journal of Clinical Densitometry*. - 1998. - № 2. - Vol. 1. - P. 201–204.
149. Manroa P., Kannan S., Hatipoglu B., et al. Hypercalcemia and acromegaly-clarifying the connections. A case report and review of the literature // *Endocrine Practice*. - 2014.

- № 5. - Vol. 20. - P. e86-90.

150. Masuda, S Kamao M., Schroeder N. J., Makin H. L., et al. Characterization of 3-epi-1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 involved in 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 metabolic pathway in cultured cell lines // Biol Pharm Bull. - 2000. - № 2. - Vol. 23. - P. 133–139.

151. Mazziotti G., Frara S., Giustina A. Pituitary Diseases and Bone // Endocrine Reviews. - 2018. - № 4. - Vol. 39. - P. 440–488.

152. Mazziotti G., Maffezzoni F., Frara S., et al. Acromegalic osteopathy // Pituitary. - 2017. - № 1. - Vol. 20. - P. 63–69.

153. Mazziotti G., Maffezzoni F., Giustina A. Vitamin D-binding protein: one more piece in the puzzle of acromegalic osteopathy? // Endocrine. - 2016. - № 2. - Vol. 52. - P. 183–186.

154. McLeod J. F., Kowalski M. A., Haddad J. G. Interactions among serum vitamin D binding protein, monomeric actin, profilin, and profilactin // Journal of Biological Chemistry. - 1989. - № 2. - Vol. 264. - P. 1260–1267.

155. McVoy L. A., Kew R. R. CD44 and Annexin A2 Mediate the C5a Chemotactic Cofactor Function of the Vitamin D Binding Protein // The Journal of Immunology. - 2005. - № 7. - Vol. 175. - P. 4754–4760.

156. Meier U., Gressner O., Lammert F., et al. Gc-globulin: Roles in response to injury // Clinical Chemistry. - 2006. - № 7. - Vol. 52. - P. 1247–1253.

157. Meir T., Levi R., Lieben L., et al. Deletion of the vitamin D receptor specifically in the parathyroid demonstrates a limited role for the receptor in parathyroid physiology // American journal of physiology. Renal physiology. - 2009. - № 5. - Vol. 297. - P. F1192–F1198.

158. Michaëlsson K., Rasmusson A., Wolk A., et al. The Free Hormone Hypothesis: Is Free Serum 25-Hydroxyvitamin D a Better Marker for Bone Mineral Density in Older Women? // JBMR Plus. - 2018. - № 6. - Vol. 2. - P. 367–374.

159. Mizwicki M. T., Keidel D., Bula C. M., et al. Identification of an alternative ligand-binding pocket in the nuclear vitamin D receptor and its functional importance in $1\alpha,25(\text{OH})_2$ -vitamin D₃ signaling // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 2004. - № 35. - Vol. 101. - P. 12876–12881.
160. Moy K. A., Mondul A. M., Zhang H., et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D-binding protein // *American Journal of Clinical Nutrition*. - 2014. - № 6. - Vol. 99. - P. 1424–1431.
161. Nadarajah A., Hartog M., Redfern B., et al. Calcium Metabolism in Acromegaly // *Br Med J*. - 1968. - № 5634. - Vol. 4. - P. 797–801.
162. Nagasawa H., Uto Y., Sasaki H., et al. Gc protein (vitamin D-binding protein): Gc genotyping and GcMAF precursor activity // *Anticancer Res*. - 2005. - № 6A. - Vol. 25. - P. 3689–3695.
163. Nakagawa K., Sowa Y., Kurobe M., et al. Differential activities of $1\alpha,25$ -dihydroxy- $16\text{-ene-vitamin D}_3$ analogs and their 3-epimers on human promyelocytic leukemia (HL-60) cell differentiation and apoptosis // *Steroids*. - 2001. - № 3–5. - Vol. 66. - P. 327–337.
164. Nemere I., Safford S. E., Rohe B., et al. Identification and characterization of $1,25\text{D}_3$ -membrane-associated rapid response, steroid ($1,25\text{D}_3$ -MARRS) binding protein // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. - 2004. - № 1–5. - Vol. 89–90. - P. 281–285.
165. Neyra J. A., Hu M. C., Moe O. W. Klotho in clinical nephrology: Diagnostic and therapeutic implications // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. - 2020. - № 1. - Vol. 16. - P. 162–176.
166. Nielson C. M., Jones K. S., Bouillon R., et al. Role of assay type in determining free 25-hydroxyvitamin D levels in diverse populations // *New England Journal of Medicine*. - 2016. - № 17. - Vol. 374. - P. 1695–1696.
167. Nielson C. M., Jones K. S., Chun R. F., et al. Free 25-hydroxyvitamin D: Impact of

vitamin D binding protein assays on racial-genotypic associations // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2016. - № 5. - Vol. 101. - P. 2226–2234.

168. Nieman L. K., Biller B. M. K., Findling J. W., et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: An Endocrine Society clinical practice guideline // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2008. - № 5. - Vol. 93. - P. 1526–1540.

169. Nishioka H., Yamada S. Cushing's disease // Journal of Clinical Medicine. - 2019. - № 11. - Vol. 8. - P. 1951.

170. Norman A. W., Bouillon R., Farach-Carson M. C., et al. Demonstration that $1\beta,25$ -dihydroxyvitamin D₃ is an antagonist of the nongenomic but not genomic biological responses and biological profile of the three A-ring diastereomers of $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ // Journal of Biological Chemistry. - 1993. - № 27. - Vol. 268. - P. 20022–20030.

171. O'Riordan J. L. H., Bijvoet O. L. M. Rickets before the discovery of vitamin D // BoneKey reports. - 2014. - Vol. 3. - P. 478.

172. Omdahl J. L., Morris H. A., May B. K. Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: Expression, function, and regulation // Annual Review of Nutrition. - 2002. - Vol. 22. - P. 139–166.

173. Pálmer H. G., González-Sancho J. M., Espada J., et al. Vitamin D₃ promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling // The Journal of Cell Biology. - 2001. - № 2. - Vol. 154. - P. 369–87.

174. Parkinson C., Kassem M., Heickendorff L., et al. Pegvisomant-Induced Serum Insulin-Like Growth Factor-I Normalization in Patients with Acromegaly Returns Elevated Markers of Bone Turnover to Normal // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2003. - № 12. - Vol. 88. - P. 5650–5655.

175. Perez H. D., Kelly E., Chenoweth D., et al. Identification of the C5a Des Arg

Cochemotaxin. Homology With Vitamin D-binding Protein (Group-Specific Component Globulin) // J Clin Invest. - 1988. - № 1. - Vol. 82. - P. 360–363.

176. Pines A., Olchovsky D. Urolithiasis in acromegaly // Urology. - 1985. - № 3. - Vol. 26. - P. 240–242.

177. Povaliaeva A. A., Bogdanov V. P., Zhukov A. Y., et al. Characterization of vitamin D metabolism in active acromegaly in the setting of bolus (150,000 IU) cholecalciferol treatment // Endocrine. - 2022. - № 2. - Vol. 76. - P. 407–418.

178. Povaliaeva A., Bogdanov V., Pigarova E., et al. Assessment of Vitamin D Metabolism in Patients with Cushing's Disease in Response to 150,000 IU Cholecalciferol Treatment // Nutrients. - 2021. - № 12. - Vol. 13. - P. 4329.

179. Powe C. E., Ricciardi C., Berg A. H., et al. Vitamin D-binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density relationship // Journal of Bone and Mineral Research. - 2011. - № 7. - Vol. 26. - P. 1609–1616.

180. Priemel M., von Demarsh C., Klatte T. O., et al. Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients // Journal of bone and mineral research. - 2010. - № 2. - Vol. 25. - P. 305–312.

181. Quarles L. D. Skeletal secretion of FGF-23 regulates phosphate and vitamin D metabolism // Nature Reviews Endocrinology. - 2012. - № 5. - Vol. 8. - P. 276–286.

182. Ramsey I. K., Tebb A., Harris E., et al. Hyperparathyroidism in dogs with hyperadrenocorticism // Journal of Small Animal Practice. - 2005. - № 11. - Vol. 46. - P. 531–536.

183. Ravnsborg T., Olsen D. T., Thysen A. H., et al. The glycosylation and characterization of the candidate Gc macrophage activating factor // Biochimica et Biophysica Acta. - 2010. - № 4. - Vol. 1804. - P. 909–917.

184. Ray K., Wang X., Zhao M., et al. The rat vitamin D binding protein (Gc-globulin)

gene: Structural analysis, functional and evolutionary correlations // *Journal of Biological Chemistry*. - 1991. - № 10. - Vol. 266. - P. 6221–6229.

185. Rehan V. K., Torday J. S., Peleg S., et al. $1\alpha,25$ -Dihydroxy-3-epi-vitamin D₃, a natural metabolite of $1\alpha,25$ -dihydroxy vitamin D₃: Production and biological activity studies in pulmonary alveolar type II cells // *Molecular Genetics and Metabolism*. - 2002. - № 1. - Vol. 76. - P. 46–56.

186. Rehder D. S., Nelson R. W., Borges C. R. Glycosylation status of vitamin D binding protein in cancer patients // *Protein Science*. - 2009. - № 10. - Vol. 18. - P. 2036–2042.

187. Rizzoli R., Boonen S., Brandi M. L., et al. Vitamin D supplementation in elderly or postmenopausal women: A 2013 update of the 2008 recommendations from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) // *Current Medical Research and Opinion*. - 2013. - № 4. - Vol. 29. - P. 305–313.

188. Rondeau P., Bourdon E. The glycation of albumin: Structural and functional impacts // *Biochimie*. - 2011. - № 4. - Vol. 93. - P. 645–658.

189. Rosen C. J., Adams J. S., Bikle D. D., et al. The nonskeletal effects of vitamin D: An Endocrine Society scientific statement // *Endocrine Reviews*. - 2012. - № 3. - Vol. 33. - P. 456–492.

190. Rusinska A., Fludowski P., Walczak M., et al. Vitamin D supplementation guidelines for general population and groups at risk of vitamin D deficiency in Poland- Recommendations of the Polish society of pediatric endocrinology and diabetes and the expert panel with participation of national specialist consultants and representatives of scientific societies - 2018 update // *Frontiers in Endocrinology*. - 2018. - Vol. 9. - P. 246

191. Sai A. J., Walters R. W., Fang X., et al. Relationship between Vitamin D, Parathyroid Hormone, and Bone Health // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2011. - № 3. - Vol. 96. - P. E436–E446.

192. Saleh L., Tang J., Gawinecka J., et al. Impact of a single oral dose of 100,000 IU

Vitamin D3 on profiles of serum 25(OH)D3 and its metabolites 24,25(OH)2D3, 3-epi-25(OH)D3, and 1,25(OH)2D3 in adults with vitamin D insufficiency // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. - 2017. - № 12. - Vol. 55. - P. 1912–1921.

193. Schiødt F. V, Ott P., Bondesen S., et al. Reduced serum Gc-globulin concentrations in patients with fulminant hepatic failure: association with multiple organ failure // *Critical care medicine*. - 1997. - № 8. - Vol. 25. - P. 1366–1370.

194. Schlingmann K. P., Kaufmann M., Weber S., et al. Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia // *The New England Journal of Medicine*. - 2011. - № 5. - Vol. 365. - P. 410–421.

195. Schmid C., Neidert M. C., Tschopp O., et al. Growth hormone and Klotho // *Journal of Endocrinology*. - 2013. - № 2. - Vol. 219. - P. R37–57.

196. Schuster I. Cytochromes P450 are essential players in the vitamin D signaling system // *Biochimica et Biophysica Acta*. - 2011. - № 1. - Vol. 1814. - P. 186–199.

197. Schwartz J. B., Lai J., Lizaola B., et al. A comparison of measured and calculated free 25(OH) vitamin D levels in clinical Populations // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2014. - № 5. - Vol. 99. - P. 1631–1637.

198. Seeman E., Kumar R., Hunder G. G., et al. Production, degradation, and circulating levels of 1,25-dihydroxyvitamin D in health and in chronic glucocorticoid excess // *J Clin Invest*. - 1980. - № 4. - Vol. 66. - P. 664–669.

199. Sempos C. T., Heijboer A. C., Bikle D. D., et al. Vitamin D assays and the definition of hypovitaminosis D: results from the First International Conference on Controversies in Vitamin D // *British Journal of Clinical Pharmacology*. - 2018. - № 10. - Vol. 84. - P. 2194–2207.

200. Sequeira V. B., Rybchyn M. S., Tongkao-on W., et al. The role of the vitamin D receptor and ERp57 in photoprotection by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 // *Molecular Endocrinology*. - 2012. - № 4. - Vol. 26. - P. 574–582.

201. Shah R., Licata A., Oyesiku N. M., et al. Acromegaly as a cause of 1,25-dihydroxyvitamin D-dependent hypercalcemia : case reports and review of the literature // Pituitary. - 2012. - Vol. 15 Suppl 1. - P. S17-22.
202. Shieh A., Chun R. F., Ma C., et al. Effects of high-dose vitamin D2 versus D3 on total and free 25-hydroxyvitamin D and markers of calcium balance // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2016. - № 8. - Vol. 101. - P. 3070–3078.
203. Shieh A., Ma C., Chun R. F., et al. Associations between Change in Total and Free 25-Hydroxyvitamin D with 24,25-Dihydroxyvitamin D and Parathyroid Hormone // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2018. - № 9. - Vol. 103. - P. 3368–3375.
204. Shimada T., Hasegawa H., Yamazaki Y., et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis // Journal of Bone and Mineral Research. - 2004. - № 3. - Vol. 19. - P. 429–435.
205. Sigurdsson G., Nunziata V., Reiner M., et al. Calcium absorption and excretion in the gut in acromegaly // Clinical Endocrinology. - 1973. - № 3. - Vol. 2. - P. 187–192.
206. Singh R. J., Taylor R. L., Reddy G. S., et al. C-3 epimers can account for a significant proportion of total circulating 25-hydroxyvitamin D in infants, complicating accurate measurement and interpretation of vitamin D status // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2006. - № 8. - Vol. 91. - P. 3055–3061.
207. Slovik D. M., Neer R. M., Ohman J. L., et al. Parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D levels in glucocorticoid-treated patients // Clinical Endocrinology. - 1980. - № 3. - Vol. 12. - P. 243–248.
208. Smets P., Meyer E., Maddens B., et al. Cushing's syndrome, glucocorticoids and the kidney // General and Comparative Endocrinology. - 2010. - № 1. - Vol. 169. - P. 1–10.
209. Song Y. H., Naumova A. K., Liebhaber S. A., et al. Physical and meiotic mapping of the region of human chromosome 4q11-q13 encompassing the vitamin D binding

protein DBP/Gc-globulin and albumin multigene cluster // *Genome Research*. - 1999. - № 6. - Vol. 9. - P. 581–587.

210. Soudahome A. G., Catan A., Giraud P., et al. Glycation of human serum albumin impairs binding to the glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide // *Journal of Biological Chemistry*. - 2018. - № 13. - Vol. 293. - P. 4778–4791.

211. Speeckaert M., Huang G., Delanghe J. R., et al. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism // *Clinica Chimica Acta*. - 2006. - № 1–2. - Vol. 372. - P. 33–42.

212. Swamy N., Ray R. Fatty acid-binding site environments of serum vitamin D-binding protein and albumin are different // *Bioorganic Chemistry*. - 2008. - № 3. - Vol. 36. - P. 165–168.

213. Szabó B., Tabák Á. G., Toldy E., et al. The role of serum total and free 25-hydroxyvitamin D and PTH values in defining vitamin D status at the end of winter: a representative survey // *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. - 2017. - № 1. - Vol. 35. - P. 83–90.

214. Sze L., Bernays R. L., Zwimpfer C., et al. Excessively high soluble Klotho in patients with acromegaly // *Journal of Internal Medicine*. - 2012. - № 1. - Vol. 272. - P. 93–97.

215. Takamoto S., Tsuchiya H., Onishi T., et al. Changes in calcium homeostasis in acromegaly treated by pituitary adenectomy // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 1985. - № 1. - Vol. 61. - P. 7–11.

216. Tanaka Y., DeLuca H. F. Measurement of mammalian 25-hydroxyvitamin D3 24R- and 1 α -hydroxylase // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 1981. - № 1. - Vol. 78. - P. 196–199.

217. Tang J. C. Y., Jackson S., Walsh N. P., et al. The dynamic relationships between the active and catabolic vitamin D metabolites, their ratios, and associations with PTH // *Scientific Reports*. - 2019. - № 1. - Vol. 9. - P. 6974.

218. Tang J. C. Y., Nicholls H., Piec I., et al. Reference intervals for serum 24,25-

dihydroxyvitamin D and the ratio with 25-hydroxyvitamin D established using a newly developed LC–MS/MS method // *Journal of Nutritional Biochemistry*. - 2017. - Vol. 46. - P. 21–29.

219. Tebben P. J., Milliner D. S., Horst R. L., et al. Hypercalcemia, hypercalciuria, and elevated calcitriol concentrations with autosomal dominant transmission due to CYP24A1 mutations: effects of ketoconazole therapy // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2012. - № 3. - Vol. 97. - P. E423–427.

220. Thacher T. D., Levine M. A. CYP2R1 mutations causing vitamin D-deficiency rickets // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. - 2017. - Vol. 173. - P. 333–336.

221. Thode J., Juul-Jørgensen B., Bhatia H. M., et al. Comparison of serum total calcium, albumin-corrected total calcium, and ionized calcium in 1213 patients with suspected calcium disorders // *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. - 1989. - № 3. - Vol. 49. - P. 217–223.

222. Trivedi D. P., Doll R., Khaw K. T. Effect of four monthly oral vitamin D3 (cholecalciferol) supplementation on fractures and mortality in men and women living in the community: randomised double blind controlled trial // *BMJ*. - 2003. - № 7387. - Vol. 326. - P. 469.

223. Tsuchiya H., Onishi T., Takamoto S., et al. Acromegalic Patient with Recurrent Urolithiasis // *Endocrinol Jpn*. - 1985. - № 6. - Vol. 32. - P. 851–861.

224. Tuckey R. C., Cheng C. Y. S., Slominski A. T. The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover // *J Steroid Biochem Mol Biol*. - 2019. - Vol. 186. - P. 4–21.

225. Ueda M., Inaba M., Tahara H., et al. Hypercalcemia in a patient with primary hyperparathyroidism and acromegaly: distinct roles of growth hormone and parathyroid hormone in the development of hypercalcemia // *Internal medicine (Tokyo, Japan)*. - 2005. - № 4. - Vol. 44. - P. 307–310.

226. Uygur M. M., Yazıcı D. D., Buğdaycı O., et al. Prevalence of vertebral fractures and serum sclerostin levels in acromegaly // *Endocrine*. - 2021. - № 3. - Vol. 73. - P. 667–673.
227. Van Cromphaut S. J., Stockmans I., Torrekens S., et al. Duodenal calcium absorption in dexamethasone-treated mice: Functional and molecular aspects // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. - 2007. - № 2. - Vol. 460. - P. 300–305.
228. Van de Graaf S. F. J., Boullart I., Hoenderop J. G. J., et al. Regulation of the epithelial Ca^{2+} channels TRPV5 and TRPV6 by $1\alpha,25$ -dihydroxy Vitamin D3 and dietary Ca^{2+} // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. - 2004. - № 1–5. - Vol. 89–90. - P. 303–308.
229. Van der Valk E., Tobe T., Stades A., et al. Vanishing hypercalciuric kidney stones after treating underlying acromegaly // *Endocrinology, Diabetes & Metabolism Case Reports*. - 2013. - Vol. 2013. - P. 130001.
230. Varsavsky M., Moreno P. R., Fernández A. B., et al. Recommended vitamin D levels in the general population // *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*. - 2017. - Vol. 64 Suppl 1. - P. 7–14.
231. Vasconcellos C. A., Lind S. E. Coordinated inhibition of actin-induced platelet aggregation by plasma gelsolin and vitamin D-binding protein // *Blood*. - 1993. - № 12. - Vol. 82. - P. 3648–3657.
232. Veldurthy V., Wei R., Campbell M., et al. 25-Hydroxyvitamin D3 24-Hydroxylase: A Key Regulator of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Catabolism and Calcium Homeostasis. // *Vitam Horm*. - 2016. - Vol. 100. - P. 137–150.
233. Wagner D., Hanwell H. E., Schnabl K., et al. The ratio of serum $24,25$ -dihydroxyvitamin D3 to 25-hydroxyvitamin D3 is predictive of 25-hydroxyvitamin D3 response to vitamin D3 supplementation // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. - 2011. - № 3–5. - Vol. 126. - P. 72–77.

234. Waldron J. L., Ashby H. L., Cornes M. P., et al. Vitamin D: A negative acute phase reactant // *Journal of Clinical Pathology*. - 2013. - № 7. - Vol. 66. - P. 620–622.
235. Wang H. H., Cheng B. L., Chen Q. X., et al. Time course of plasma gelsolin concentrations during severe sepsis in critically ill surgical patients // *Critical Care*. - 2008. - № 4. - Vol. 12. - P. R106.
236. Wang Z., Senn T., Kalhorn T., et al. Simultaneous measurement of plasma vitamin D3 metabolites, including 4 β ,25-dihydroxyvitamin D3, using liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Analytical Biochemistry*. - 2011. - № 1. - Vol. 418. - P. 126–133.
237. Wei S., Tanaka H., Seino Y. Local action of exogenous growth hormone and insulin-like growth factor-I on dihydroxyvitamin D production in LLC-PK1 cells // *Eur J Endocrinol*. - 1998. - № 4. - Vol. 139. - P. 454–460.
238. White H. D., Ahmad A. M., Durham B. H., et al. Effect of active acromegaly and its treatment on parathyroid circadian rhythmicity and parathyroid target-organ sensitivity // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2006. - № 3. - Vol. 91. - P. 913–919.
239. Wongsurawat N., Armbrrecht H. J., Zenser T. V., et al. Effects of hypophysectomy and growth hormone treatment on renal hydroxylation of 25-hydroxycholecalciferol in rats // *J. Endocr.* - 1984. - № 3. - Vol. 101. - P. 333–8.
240. World Health Organization Global recommendations on physical activity for health // Geneva: World Health Organization. 2010. 60 p.
241. Xie T., Tian P., Wu S., et al. Serum phosphate: Does it more closely reflect the true state of acromegaly? // *Journal of Clinical Neuroscience*. - 2020. - Vol. 71. - P. 26–31.
242. Yalin G. Y., Tanrikulu S., Gul N., et al. Utility of baseline serum phosphorus levels for predicting remission in acromegaly patients // *Journal of Endocrinological Investigation*. - 2017. - № 8. - Vol. 40. - P. 867–874.

243. Yamamoto Y., Yoshizawa T., Fukuda T., et al. Vitamin D receptor in osteoblasts is a negative regulator of bone mass control // *Endocrinology*. - 2013. - № 3. - Vol. 154. - P. 1008–1020.
244. Zayny A., Almokhtar M., Wikvall K., et al. Effects of glucocorticoids on vitamin D3-metabolizing 24-hydroxylase (CYP24A1) in Saos-2 cells and primary human osteoblasts // *Molecular and Cellular Endocrinology*. - 2019. - Vol. 496. - P. 110525.
245. Zhou C., Assem M., Tay J. C., et al. Steroid and xenobiotic receptor and vitamin D receptor crosstalk mediates CYP24 expression and drug-induced osteomalacia // *Journal of Clinical Investigation*. - 2006. - № 6. - Vol. 116. - P. 1703–1712.
246. Zhu J. G., Ochalek J. T., Kaufmann M., et al. CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 2013. - № 39. - Vol. 110. - P. 15650–15655.