

ГЛАВА 1

ЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ D

ДЛЯ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ

ТА ЙОГО МЕТАБОЛІЗМ

Вітамін D (кальциферол) — це група біологічно активних жиророзчинних сполук, що включає понад 50 метаболітів, які утворюються зі стеринів під впливом ультрафіолетового опромінення в тканинах тварин і рослин [Zerwekh J.E., 2008]. Вважається, що вітамін D продукувався фітопланктоном, ранньою формою життя на Землі, ще понад 750 млн років тому для забезпечення захисту різних макромолекул (білки, ДНК, РНК) живих організмів від ультрафіолетового випромінювання [Holick M., 2008]. У ссавців вітамін D набув функцію гормону з різноманітними біологічними механізмами дії, одним з основних є його участь у забезпеченні кальцієм процесів кісткоутворення і розвитку скелета [Holick M., 2011]. З точки зору еволюції вітамін D вважається найбільш давнім із нині відомих гормонів, а важливе значення його для організму людини обумовлене його численними ефектами на різні органи й системи організму за допомогою регуляції близько 2000 генів [Wacker M., 2013].

Кальциферол традиційно зараховують до групи жиророзчинних вітамінів. Однак на відміну від усіх інших вітамінів сам по собі він є біологічно неактивним, а внаслідок двоступеневої метаболізації в організмі перетворюється на активну — гормональну форму. Остання взаємодіє з рецепторами гена вітаміну D (VDR), що локалізуються в ядрах клітин багатьох тканин і органів. Хоча вищенаведений спосіб реалізації біологічної активності характерний для гормонів, дотримуючись історичної традиції, у науковій літературі кальциферол продовжують називати саме вітаміном D [Шварц Г.Я., 2005; Thacher T.D., 2011].

Ергокальциферол є найбільш поширеною природною формою вітаміну D, що утворюється в рослинах з ергостеролу під дією сонячного світла. В організм людини ергокальциферол надходить у відносно невеликих кількостях — не більше 20–30 % від потреб. Основними джерелами його поповнення є продукти зі злакових рослин. Вітамін D₂ перетворюється з утворенням похідних, що мають дію, подібну до дії метаболітів вітаміну D₃ [Holick M.F., 1992; Tangpricha V., 2003].

Вітамін D₃ (холекальциферол) утворюється в організмі хребетних тварин, у тому числі амфібій, рептилій, птахів і ссавців. У зв'язку з цим він відіграє вагомішу роль у процесах життєдіяльності людини, ніж вітамін D₂, що надходить із їжею. Вітамін D₃ утворюється в дермальному шарі шкіри з попередника провітаміну D₃ — 7-дегідрохолестеролу під впливом короткохвильового ультрафіолетового опромінення спектра В (УФ-В) (довжина хвилі 290–315 нм) у результаті фотохімічної реакції розкриття кільця стероїдного ядра і термоізомеризації, характерної для секостероїдів. Саме холекальциферол розглядають як справжній, або істинний, вітамін D, тоді як інші представники цієї групи вважаються модифікованими похідними вітаміну D [Holick M.F., 2006; Holick M.F., 2004; Bikle D.D., 2005].

Вітамін D, що надходить із їжею або утворюється в організмі у процесі ендогенного синтезу, у результаті двох послідовних реакцій гідроксилювання біологічно малоактивних прегормональних форм піддається перетворенню в активні гормональні види: найбільш важливий, якісно і кількісно значущий — 1,25-дигідроксивітамін D (1,25(OH)₂D), так званий D-гормон (кальцитріол), і мінорний — 24,25(OH)₂D [Holick M. F., 2006; Bikle D.D., 2012]. Рівень утворення D-гормону в організмі дорослої здорової людини становить близько 0,3–1,0 мкг/добу. Перша реакція гідроксилювання здійснюється переважно в печінці (до 90 %) за участю мікросомального ферменту 25-гідроксилази з утворенням проміжної біологічно малоактивної транспортної форми — 25(OH) вітаміну D, або кальцидіолу [Prosser D.E., 2004; Gascon-Barre M., 2005].

Гідроксилювання вітаміну D у печінці здійснюється без будь-яких позапечінкових регуляторних впливів і є повністю субстрат-залежним процесом. Реакція 25-гідроксилювання перебігає досить швидко і веде до підвищення рівня 25(OH)вітаміну D (25(OH)D) у сироватці крові. Його рівень відображає як утворення вітаміну D у шкірі, так і надходження з їжею, у зв'язку з чим він використову-

ється як маркер вмісту вітаміну D у сироватці крові [Hewison M., 2007; Holick M.F., 2011]. Частково транспортна форма 25(OH)D, що надходить у жирову і м'язову тканини, може створювати тканинні депо з невизначеним терміном існування (рис. 1.1).

Подальша реакція 1 α -гідроксилювання 25(OH)D перебігає переважно в клітинах проксимальних відділів каналців кори нирок за участю ферменту 1 α -гідроксилази (25-гідроксिवітамін-D-1 α -гідроксилаза, CYP27B1). У значно меншому, ніж у нирках, обсязі 1 α -гідроксилювання здійснюється і клітинами лімфогемопетичної системи, у кістковій тканині і, як встановлено останнім часом, клітинами деяких інших тканин, що містять як 25(OH)D, так і 1 α -гідроксилазу. CYP27B1 та її інші ізоформи, а також і 1 α -гідроксилаза є класичними мітохондріальними і мікросомальними оксидазами зі змішаними функціями, що беруть участь у перенесенні електронів від НАДФ через флавопротеїни і феродоксин у цитохром P450 [Wimalawansa S.J., 2012] (рис. 1.1).

В ентероцитах активація VDR супроводжується анаболічним ефектом — підвищенням синтезу кальбіндину 9K, кальційзв'язуючого білка, що секретується у просвіт кишки, зв'язує Ca²⁺ і транспортує його через кишкову стінку в лімфатичні судини, а потім у судинну систему [Bringham T.R., 2003; Hewison M., 2007; Holick M.F., 2011]. Про ефективність даного механізму свідчить той факт, що лише 10–15 % кальцію і 60 % фосфору абсорбуються в кишечнику без участі вітаміну D. Взаємодія між 1,25(OH)₂D та VDR підвищує ефективність кишкової абсорбції Ca²⁺ до 30–40 %, а фосфору — до 80 % [Heaney R.P., 2004; Christakos S., 2003]. Подібні механізми дії D-гормону лежать в основі реабсорбції Ca²⁺ у нирках [Dusso A.S., 2005]. Поряд із вищевказаними механізмами 1,25(OH)₂D має здатність посилювати абсорбцію Ca⁺⁺ у кишечнику і через негеномний механізм дії, що розвивається протягом декількох хвилин і при цьому, ймовірно, відбувається без потенціювання транскрипції генів TRPV6 і кальбіндину D9k [Fleet J.C., 2010].

Низький рівень іонізованого кальцію посилює секрецію паратиреоїдного гормону (ПТГ) прищитоподібними залозами. У свою чергу, ПТГ збільшує синтез 1,25(OH)₂D, стимулює абсорбцію кальцію з кишечника, а також мобілізує кальцій із кісткового депо.

1,25(OH)₂D взаємодіє з VDR в остеобластах, стимулюючи експресію ліганду рецептора-активатора ядерного фактора κ B, що, у

свою чергу, взаємодіє з рецептором-активатором ядерного фактора κB , індукуючи трансформацію незрілих моноцитів у зрілі остеокласти, які розчиняють матрикс і мобілізують кальцій та інші мінерали з кісткової тканини [Holick M.F., 2011].

Утворення в нирках $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ регулюється низкою ендогенних і екзогенних чинників. Зокрема, регуляція синтезу $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ у нирках є безпосередньою функцією ПТГ, на вміст якого в крові, у свою чергу, за механізмом оберненого зв'язку впливають як рі-

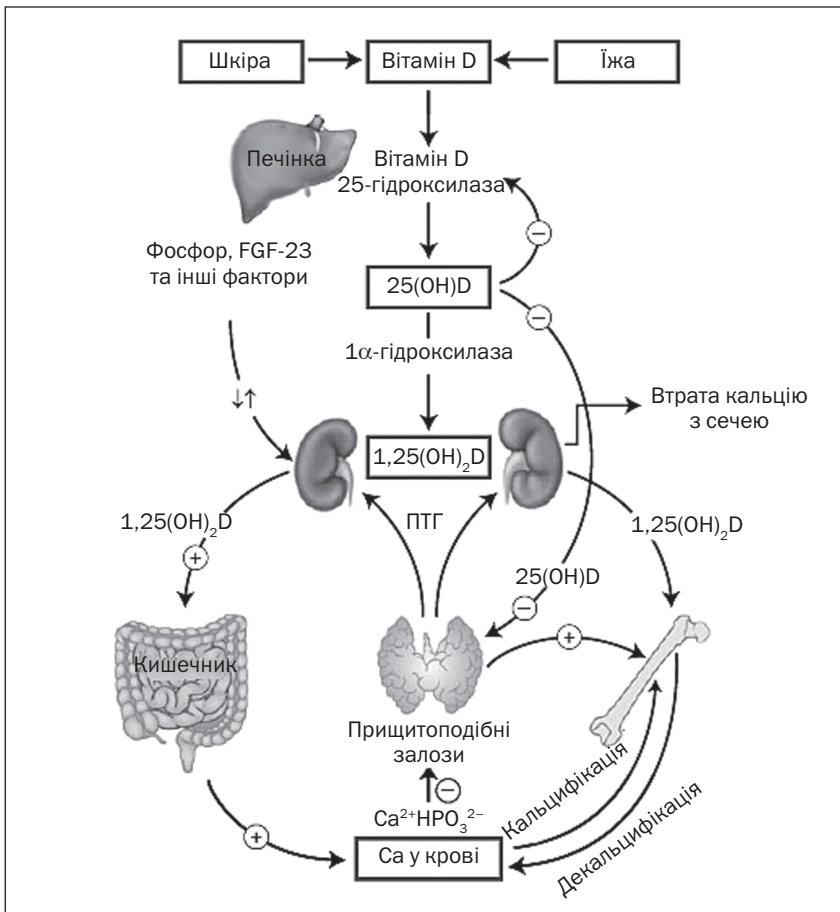


Рисунок 1.1. Схема гідроксилювання вітаміну D та його вплив на кальцій-фосфорний гомеостаз (адаптовано за Wimalawansa S.J., 2012)

вень найбільш активного метаболіту вітаміну D, так і концентрація кальцію й фосфору в плазмі крові. Крім того, активуючий вплив на 1α -гідроксилазу і процес 1α -гідроксилювання мають і інші чинники, зокрема статеві гормони (естрогени та андрогени), кальцитонін, пролактин, гормон росту (через інсуліноподібний фактор росту 1) та інші. Інгібіторами 1α -гідроксилази є $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ і низка його синтетичних аналогів, зокрема, глюкокортикостероїди, фактор росту фібробластів (FGF23), що секретується в клітинах кісткової тканини та викликає утворення натрій-фосфат-котранспортера, який діє в клітинах нирок і тонкої кишки та має гальмівний вплив на синтез $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Також на метаболізм вітаміну D впливають деякі лікарські засоби (наприклад, протиепілептичні препарати, глюкокортикоїди та інші) [Heaney R.P., 2004; Wimalawansa S.J., 2012].

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ підвищує експресію 25-гідроксивітаміну-D-24-гідроксилази (CYP24R) — ферменту, який каталізує його подальше перетворення, що приводить до утворення водорозчинної біологічно неактивної кальцитрієнової кислоти, що виділяється з жовчю.

Усі перераховані компоненти метаболізму вітаміну D та VDR об'єднують в ендокринну систему вітаміну D, функції якої полягають у здатності генерувати біологічні реакції більше ніж у 40 тканинах-мішенях за рахунок регуляції VDR транскрипції генів (геномний механізм) і швидких позагеномних реакцій, що здійснюються при взаємодії з VDR, які локалізуються на поверхні низки клітин. За рахунок геномних і позагеномних механізмів D-ендокринна система бере участь у регуляції мінерального гомеостазу (насамперед у рамках кальцій-фосфорного обміну), концентрації електролітів та обміну енергії, пригнічує клітинну проліферацію та індукцію кінцевого диференціювання, інгібує ангиогенез, стимулює синтез інсуліну, пригнічує секрецію реніну та підвищує синтез кателіцидину в макрофагах [Dusso A.S., 2005; Bikle D.D., 2010].

У результаті дефіциту вітаміну D (ДВД) знижується всмоктування кальцію та фосфору в кишечнику, внаслідок чого підвищується рівень ПТГ, виникає вторинний гіперпаратиреоз, при якому загальний рівень кальцію в сироватці крові знаходиться в межах норми за рахунок мобілізації останнього з кісткової тканини та підвищеного виведення фосфору нирками [Holick M.F., 2005; Holick M.F., 2007]. Опосередковане ПТГ підвищення активності остеокластів викликає зниження загальної мінеральної щільності

кісткової тканини (МЩКТ), внаслідок чого розвиваються остеопенія й остеопороз [Lips P., 2006]. Фосфатурія, зумовлена вторинним гіперпаратиреозом, призводить до зниження рівня фосфору в сироватці крові, який знаходиться на нижній межі норми або й нижче. Наслідком цього є порушення співвідношення кальцію й фосфору, що викликає дефекти мінералізації скелета [Aaron J.E., 1974]. У дітей грудного та переддошкільного віку внаслідок ДВД розвивається рахіт, що характеризується множинними деформаціями кісток. У дорослих зони росту кісток вже закриті, а тому в кістках скелета міститься достатньо мікроелементів для запобігання деформацій, унаслідок цього дефект мінералізації, відомий як остеомаліяція, часто не діагностується [Holick M.F., 2011].

ДВД також призводить до м'язової слабкості. У дітей м'язова гіпотонія викликає труднощі при стоянні й ходьбі, у людей похилого віку погіршується рівновага тіла та виникають падіння, що підвищує у них ризик переломів, особливо на тлі зниженої МЩКТ у цієї популяції [Gordon C.M., 2008].

Остеомаліяція супроводжується локалізованими або генералізованими болями в кістках і м'язах. При остеомаліяції спочатку болять кістки між суглобами, що відрізняє їх від артралгій (при артриті біль виникає всередині суглоба) і фіброміалгій (біль дифузний та асоціюється з болем у м'язах та сухожилках) [Thacher T.D., 2011].

Дуже часто в пацієнтів із остеомаліяцією виникає слабкість у проксимальних м'язах кінцівок та порушення ходи. Оскільки зони росту в дорослих закриті, то рентгенологічні зміни при остеомаліяції мають характер псевдопереломів (так звані зони Лоозера або лінійні чи волосинкоподібні ділянки просвітління) тазових та метатарзальних кісток, шийки стегнової кістки, латерального кута лопатки [Родионова С.С., 1994; Wolff A.E., 2008].

Біохімічні маркери остеомаліяції є такими ж, як і при рахіті: підвищення рівня лужної фосфатази, іПТГ, зниження рівня кальцію, фосфору та 25(ОН)D у сироватці крові. Проте необхідно зауважити, що гістологічно підтверджений діагноз остеомаліяції частіше реєструється при рівні 25(ОН)D нижче 25 нг/мл, однак Priemel M. та співавтори [Priemel M. et al., 2010] відмітили, що не у всіх пацієнтів із ДВД гістологічно реєструється остеомаліяція.

Таким чином, на сьогодні знання про роль вітаміну D в організмі людини значно розширилися. Вже добре досліджено основні шляхи впливу вітаміну D на метаболізм кісткової тканини як че-

рез механізми стимулювання абсорбції кальцію із кишечника, так і безпосередньо на остеокласти та остеобласти. Встановлено, що інтенсивність синтезу гормональної форми вітаміну D залежить від низки чинників, до яких зараховують транспортні білки (DBP, альбумін), ферменти (25-гідроксилаза, 24-гідроксилаза, 1-альфа-гідроксилаза), VDR, FGF23, деякі гормони (статеві гормони, кальцитонін, пролактин, гормон росту) та деякі медикаменти.

Останніми роками інтенсивно вивчається плеiotропний механізм дії вітаміну D, функції якого полягають у здатності за рахунок геномних і позагеномних механізмів брати участь у регуляції мінерального гомеостазу та обміну енергії, пригнічувати клітинну проліферацію та індукцію кінцевого диференціювання, інгібувати ангиогенез, стимулювати синтез інсуліну, пригнічувати секрецію реніну та підвищувати синтез кателіцидину в макрофагах. Плеiotропна дія вітаміну D більш детально описана у главі 5 «Позаскелетні ефекти вітаміну D».

ГЛАВА 2

ДІАГНОСТИКА ДЕФІЦИТУ

ТА НЕДОСТАТНОСТІ ВІТАМІНУ D

25(OH)D є основною циркулюючою формою вітаміну D з періодом напіввиведення із кровотоку 2–3 тижні та вважається найкращим індикатором для моніторингу статусу вітаміну D [Thacher T.D., 2011; De Luca H., 2004; Holick M.F., 2009; Bischoff-Ferrari H.A. et al., 2010]. Період напіввиведення 1,25(OH)₂D із кровотоку становить приблизно 4 години, а його концентрація у 1000 разів нижча від рівня 25(OH)D. Окрім цього, вміст 1,25(OH)₂D у сироватці крові чітко регулюється рівнями ПТГ, кальцію і фосфору, тому в пацієнтів із вторинним гіперпаратиреозом рівень 1,25(OH)₂D часто знаходиться в межах норми або навіть підвищений.

Отже, показник 1,25(OH)₂D не відображає рівня вітаміну D в організмі людини і тому не є ефективним для моніторингу пацієнтів із дефіцитом вітаміну D [Dusso A.S., 2005; Holick M.F., 2011; Gordon C.M. et al., 2008]. **Вимірювання 1,25(OH)₂D корисне лише при вроджених та набутих порушеннях метаболізму фосфору та 25(OH)D, у тому числі при хронічній хворобі нирок, спадкових захворюваннях, що супроводжуються підвищеним виведенням фосфору, онкогенній остеомалачії, вітамін-D-резистентному рахіті, а також при хронічних захворюваннях, що супроводжуються утворенням гранулом, таких як саркоїдоз та деякі лімфоми [Holick M.F., 2005; Drezner M.K., 2005].**

Для дослідження оптимального рівня 25(OH)D у сироватці крові було проведено декілька широкомасштабних досліджень.

Так, Pietras S.M. та співавт. [Pietras S.M. et al., 2009] дослідили, що лише в пацієнтів із початковим рівнем 25(OH)D нижче 20 нг/мл спостерігалось статистично суттєве зниження вмісту ПТГ на тлі терапії вітаміном D (учасники дослідження приймали 50 000 МО

ергокальциферолу один раз на тиждень протягом 2 місяців при одночасному прийомі препаратів кальцію).

Чаруу М.С. та співавт. [Чаруу М.С. et al., 1996], Holick M.F. [Holick M.F., 2005], Thomas M.K. та співавт. [Thomas M.K. et al., 1998] повідомили про існування вірогідного оберненого зв'язку між рівнями ПТГ і 25(ОН)D. Також вони довели, що рівень ПТГ починає знижуватися та досягає плато у пацієнтів із вмістом 25(ОН)D у сироватці крові між 30 і 40 нг/мл. Ці результати також узгоджуються з пороговим рівнем 25(ОН)D для профілактики неverteбральних переломів та переломів стегнової кістки, який отримали при проведенні нещодавнього метааналізу подвійних сліпих рандомізованих контрольованих досліджень вітаміну D для перорального прийому [Bischoff-Ferrari H.A. et al., 2010]. Heaney R.P. [Heaney R.P. et al., 2003] довів, що у жінок у постменопаузальному періоді при підвищенні середнього рівня 25(ОН)D у сироватці крові із 20 до 32 нг/мл збільшувалася абсорбція кальцію в кишечнику на 45–65 %.

Дискусії щодо оптимального рівня 25(ОН)D у сироватці крові велися декілька років, а референтні величини цього метаболіту змінювались ледь не щорічно. Lips P. пропонував за оптимальний рівень 25(ОН)D в сироватці крові взяти 50–75 нмоль/л, оскільки за такого показника пригнічується синтез ПТГ [Lips P., 2004]. У свою чергу, Heaney R.P. [Heaney R.P., 2003] для оптимізації абсорбції кальцію в кишечнику обґрунтував вищі рівні — 85 нмоль/л. Bischoff-Ferrari H.A. [Bischoff-Ferrari H.A., 2004] підкреслювала, що нервово-м'язова активність у людей літнього віку є вищою зі збільшенням рівня 25(ОН)D у сироватці крові та досягає свого піку при його концентрації близько 95 нмоль/л. Garland C.F. [Garland C.F., 2007] для досягнення максимальної протективної дії щодо виникнення певних ракових захворювань обґрунтував рівень 25(ОН)D понад 100 нмоль/л як належний.

У 2003 році були затверджені перші методичні рекомендації «Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease», що розрізняли три ступені недостатності та дефіциту вітаміну D:

— тяжкий дефіцит: рівень 25(ОН)D у сироватці крові знаходиться нижче 5 нг/мл (12 нмоль/л);

— помірний дефіцит вітаміну D — рівень 25(ОН)D у сироватці крові знаходиться в межах 5–15 нг/мл (12–37 нмоль/л);

— недостатність вітаміну D — рівень 25(OH)D у сироватці крові знаходиться в межах 16–30 нг/мл (40–75 нмоль/л).

У 2008 р. Stroud M.L. та співавт. [Stroud M.L., 2008] запропонували іншу класифікацію ДВД:

— недостатність вітаміну D: рівень 25(OH)D у сироватці крові в межах 50–100 нмоль/л;

— нерізко виражений ДВД: рівень 25(OH)D у сироватці крові в межах 25–50 нмоль/л;

— помірний ДВД: рівень 25(OH)D у сироватці крові в межах 12,5–25 нмоль/л;

— тяжкий ДВД: рівень 25(OH)D у сироватці крові нижче 12,5 нмоль/л.

Таким чином, з огляду на вищенаведені результати досліджень та дискусії Інститут медицини (Institute of Medicine) та Комітет ендокринологів зі створення настанов із клінічної практики (Endocrine Practice Guidelines Committee) у 2011 році постановили, що **дефіцит вітаміну D у дітей та дорослих — це клінічний синдром, зумовлений низьким рівнем 25(OH)D у сироватці крові (нижче 20 нг/мл, або 50 нмоль/л). Рівень 25(OH)D у сироватці крові від 21 до 29 нг/мл (тобто від 50,1 до 74,9 нмоль/л) слід розглядати як недостатність вітаміну D. Достатнім рівнем вітаміну D вважати показник 25(OH)D у сироватці крові понад 30 нг/мл (75 нмоль/л). Інтотоксикація вітаміном D спостерігається при рівні 25(OH)D у сироватці крові понад 150 нг/мл (375 нмоль/л) [Holick M.F., 2011].**

У Варшаві в жовтні 2012 р. відбулося засідання експертів із країн Центральної Європи, які у 2013 році видали методичні рекомендації **«Practical guidelines for supplementation of vitamin D and treatment of deficits in Central Europe: Recommended vitamin D intakes in general population and groups being at risk of vitamin D deficiency»** та затвердили такі граничні діагностичні величини рівня 25(OH)D у сироватці крові:

— рівень 25(OH)D у сироватці крові нижчий за 20 нг/мл (50 нмоль/л) вказує на **дефіцит вітаміну D** та вимагає медикаментозної терапії;

— рівень від 20 нг/мл (50 нмоль/л) до 30 нг/мл (75 нмоль/л) свідчить про **субоптимальний статус вітаміну D**, який вимагає помірного збільшення добової дози вітаміну D;

— рівень від 30 нг/мл (75 нмоль/л) до 50 нг/мл (125 нмоль/л) відображає **оптимальний (цільовий) статус вітаміну D**; схеми призначення й дози препаратів вітаміну D слід зберегти незмінними;

— рівень вищий за 50 нг/мл (125 нмоль/л) і до 100 нг/мл (250 нмоль/л) вказує на **високий вміст вітаміну D**; дози препаратів можна не змінювати при нижньому рівні та помірно знизити при верхній вказаній межі;

— рівень вищий за 100 нг/мл (250 нмоль/л) є **небезпечним** для загального стану здоров'я та вимагає зниження/припинення додаткового прийому вітаміну D до того часу, поки 25(OH)D у сироватці крові не знизиться до цільового рівня;

— рівень вищий за 200 нг/мл (500 нмоль/л) вважається **токсичним** і вимагає припинення прийому препаратів вітаміну D до досягнення цільового рівня 25(OH)D у сироватці крові. Пацієнти можуть потребувати медичного втручання, корекції токсичного ефекту.

Групи ризику щодо розвитку дефіциту вітаміну D, причини його виникнення

Основним джерелом поповнення вітаміном D організму дітей і дорослих є інсоляція. Небагато харчових продуктів містять вітамін D або збагачені ним [Heaney R.P., et al., 2003; Maeda S.S., 2007; Brot C., 2001]. Тому основною причиною дефіциту вітаміну D є недостатнє перебування людини на сонці.

Кут, під яким промені Сонця досягають поверхні Землі, визначає кількість фотонів УФ-В, які може отримати певна територіальна одиниця нашої планети. Цей факт зумовлює низький або неможливий синтез вітаміну D у шкірі взимку, у ранковий чи у вечірній час доби [Thacher T.D., 2006; Holick M.F., 2003].

Меланін особливо ефективний в абсорбції ультрафіолету, тому пігментація шкіри суттєво пригнічує синтез вітаміну D [Holick M.F., 2007]. Аналогічно застосування сонцезахисних засобів із фактором захисту SPF 15 зменшує синтез вітаміну D у шкірі більше ніж на 95 % [Holick M.F., 2003]. Цим фактом також можна пояснити те, що афроамериканці, які проживають біля екватора (найбільш сонячна частина Землі), мають ДВД, оскільки здатність їх шкіри синтезувати холекальциферол є дуже низькою. Тому люди, у яких від природи темна шкіра, забезпечені природним захистом від сонця і для синтезу однакової кількості вітаміну D повинні перебувати на сонці принаймні у 3–5 разів довше, ніж особи зі світлою шкірою [Hintzpeteter B., 2008].

Із віком зменшується кількість 7-дегідрохолестеролу в дермальному шарі шкіри. Люди старше 70 років мають приблизно 25 % 7-дегідрохолестеролу від загальної кількості у молодих, тому в осіб літнього віку спостерігається зниження синтезу холекальциферолу на 75 % [Holik M.F., 1989].

Існує обернений зв'язок між рівнем 25(OH)D у сироватці крові та індексом маси тіла понад 30 кг/м², і, таким чином, ожиріння асоціюється з DBD [Wortsman J. et al., 2000].

Пацієнти із синдромом мальабсорбції жирів та хворі, які перенесли бариатричні операції (хірургічна корекція ожиріння), часто не здатні всмоктувати жиророзчинний вітамін D [Looker A.C. et al., 2008].

Також групою ризику з огляду на можливість розвитку DBD є пацієнти з нефротичним синдромом (у них 25(OH)D виводиться із сечею вітамін-D-зв'язаним білком [Holick M.F., 2007]) та пацієнти, які приймають низку лікарських засобів, зокрема протисудомні, глюкокортикоїди, препарати для лікування ВІЛ/СНІДу, оскільки останні посилюють катаболізм 25(OH)D і 1,25(OH)₂D [Zhou C. et al., 2008].

Особи із хронічними захворюваннями, що супроводжуються утворенням гранульом, пацієнти з деякими лімфомами та хворі на первинний гіперпаратиреоз також належать до групи підвищеного ризику дефіциту вітаміну D, оскільки в них відзначається підвищений рівень метаболізму 25(OH)D до 1,25(OH)₂D [Adams J.S., 2006; Grey A., 2005].

Детальний перелік станів, захворювань та категорій пацієнтів, у яких підвищується ризик розвитку DBD, наведено нижче.

Стани, захворювання та особливі категорії пацієнтів, у яких потрібно проводити дослідження рівня 25(OH)D у сироватці крові [Holik M.F. et al., 2011]

Рахіт.

Остеомаляція.

Остеопороз.

Хронічні захворювання нирок.

Печінкова недостатність.

Синдром мальабсорбції:

— муковісцидоз;

— запальні захворювання кишечника;

— хвороба Крона;

— перенесена бариатрична операція;

— радіаційний ентерит.

Гіперпаратиреоз.

Вживання медикаментів:

— протисудомні препарати;

— глюкокортикоїди;

— ліки для лікування СНІДу;

— протигрибкові, наприклад кетоконазол;

— холестирамін.

Хронічні захворювання що супроводжуються утворенням гранульом:

— саркоїдоз;

— туберкульоз;

— гістоплазмоз;

— кокцидіомікоз;

— бериліоз.

Деякі лімфоми.

Групи ризику із розвитку ДВД:

— люди зі смуглою шкірою;

— афроамериканці;

— вагітні та жінки, які годують груддю;

— літні люди, які часто падають;

— літні люди з низькоенергетичними переломами;

— діти та дорослі з ожирінням ($IMT > 30 \text{ кг/м}^2$).

Сучасні методи дослідження рівня 25(OH)D у сироватці крові

Визначення рівня 25(OH)D у сироватці є складним процесом унаслідок декількох причин:

— по-перше, висока гідрофобність 25(OH)D може привести його до взаємодії з компонентами сироватки крові (так званий ефект матриці);

— по-друге, наявність у кровеносному руслі обох похідних вітаміну D: як 25(OH)D₂, так і 25(OH)D₃;

— по-третє, присутність у сироватці крові новонароджених дітей стереоізомерів 3-епі-25(OH)D₃, що можуть зв'язуватися з білками чи антитілами та обумовлювати помилкові результати.

Всі методи дослідження 25(OH)D у сироватці крові можна розділити:

1) на безпосередні (прямі) — методи безпосереднього вимірювання субстанції. Золотим стандартом для визначення рівня 25(OH)D у сироватці крові є високоефективна рідинна хроматографія (HPLC) та мас-спектрометрія в поєднанні з рідинною хроматографією (LC-MS/MS). Ці методи дозволяють оцінювати рівні як 25(OH)D₃, так і 25(OH)D₂ у сироватці крові;

2) проміжні (непрямі) — методи дослідження проміжних речовин (субстанцій), що утворилися внаслідок зв'язування 25(OH)D із білками (CPBA — метод дослідження конкурентного зв'язування із білком), з антитілами (PIA — радіоімунологічний аналіз, IФА — імуноферментний аналіз; імуноелектрохемілюмінесцентний аналіз).

Більшість методів, що на сьогодні використовуються для дослідження рівня 25(OH)D у сироватці крові, є непрямими [Hollis B.W. et al., 2007; Binkley N. et al., 2008; Binkley N. et al., 2010].

Суттєвим прогресом у лабораторній справі стало впровадження повністю автоматизованих методів для визначення рівня 25(OH)D у сироватці крові. На імунохемілюмінесцентні методи покладають великі сподівання щодо покращення аналітичної надійності дослідження рівня 25(OH)D у сироватці крові [Wagner D. et al., 2009]. Європейська автоматизована система Roche Diagnostics до 2012 року мала здатність лише визначати рівень 25(OH)D₃ у сироватці крові. Завдяки проведеній праці спеціалістів на сьогодні розроблено тест-системи, що визначають рівень 25(OH)D total, тобто 25(OH)D₂ та 25(OH)D₃. Автоматизована система Roche Diagnostics дозволяє досліджувати невеликий об'єм проби (лише 5–50 мкл сироватки) за короткий відлік часу (18–27 хв), має широкий діапазон вимірювання (від 7,5 до 175 нмоль/л), високу точність (CV до 10 %), чутливість та специфічність (99,6 та 93,7 % відповідно). Автоматизована система LIAISON (виробництво США) визначає рівні кожного метаболіту вітаміну D — як 25(OH)D₂, так і 25(OH)D₃. Методика дозволяє досліджувати вміст 25(OH)D безпосередньо, без стадії попередньої очистки. У цьому випадку слід звернути увагу на можливість виникнення ефекту матриці.

Щоденний внутрішній лабораторний контроль є важливим елементом в оцінці якості рівня 25(OH)D у сироватці крові [Holick M.F., 2007]. Ця процедура особливо важлива при користуванні відкритими (неавтоматизованими) системами із великою аналітичною похибкою.

Автоматизовані методи мають свої власні набори контрольних зразків, що використовуються залежно від виробника і, як прави-

ло, як щоденний контроль. Для кожної нової тест-системи проводиться ще й калібрування апарата.

Результати аналізу міжнародної програми з контролю якості досліджень метаболітів вітаміну D DEQAS (The International External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites) показали, що:

1) радіорецепторні методи вдвічі перевищують дійсний рівень 25(OH)D у сироватці крові;

2) відкриті ІФА-системи мають високу похибку дослідження, результати залежать від компетентності особи, яка проводить аналіз;

3) радіоімунологічні аналізатори мають різну специфічність у дослідженні похідних вітаміну D — 25(OH)D₂ і 25(OH)D₃.

Тому рекомендується, щоб усі лабораторії, що досліджують рівень 25(OH)D у сироватці крові, брали участь у міжнародному контролі якості DEQAS, у якому отримані результати порівнюються з даними, одержаними за допомогою золотих стандартів дослідження: ALTM, HPLC і LC-MS/MS [Heaney R.P., 2011; Viljoen A., 2011; Lai J.K., 2012].