

Клиническое значение и особенности лабораторного определения витамина D

А. Б. Дрыгина, д.б.н., проф., в.н.с. НИО организации научной деятельности

ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, г. Санкт-Петербург

Clinical significance and features of laboratory determination of vitamin D

L. B. Drygina

All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a. A. M. Nikiforov, Saint Petersburg, Russia

Резюме

Классическая функция витамина D заключается в регуляции обмена кальция. Однако в настоящее время получены убедительные данные о взаимосвязи дефицита витамина D с развитием целого ряда заболеваний. В статье дается анализ результатов исследований последних лет, в которых представлены эффекты витамина D в отношении иммунной, сердечно-сосудистой систем и болезней печени. Рассматриваются механизмы поступления витамина D в организм, представлены новые данные о регуляции уровня активной формы витамина D фосфотонинами (FGF23, MEPE, sFRP-4) и белком Klotho. Представлена характеристика методов определения витамина D в сыворотке крови. Отдельно рассматриваются биологические факторы, которые влияют на результаты количественного определения витамина D разными методами.

Ключевые слова: витамин D, дефицит витамина D, методы количественного определения.

Summary

The classic function of vitamin D is to regulate calcium metabolism. Currently, however, convincing data have been obtained on the relationship of vitamin D deficiency with the development of a number of diseases. The article analyzes the results of recent studies that present the effects of vitamin D on the immune system, cardiovascular system and liver diseases. Discusses the mechanisms of admission of vitamin D in the body, presents new data on the regulation of levels of active form of vitamin D phosphatonins (FGF23, MEPE, sFRP-4) and protein Klotho. The characteristic of methods of determination of vitamin D in blood serum is presented. Biological factors that influence the results of quantitative determination of vitamin D with different methods are considered separately.

Key words: vitamin D, vitamin D deficiency, methods of quantitative determination.

Классическая, наиболее известная, функция витамина D заключается в регуляции кальциевого гомеостаза преимущественно за счет образования и резорбции костной ткани либо взаимодействия с парашитовидной железой, почками, кишечником. Витамин D поддерживает необходимые уровни кальция и фосфора для минерализации костной ткани. Он необходим для нормального функционирования остеобластов и остеокластов в процессе роста костей и их ремоделирования.

За последние годы представления о роли витамина D для организма человека существенно расширились. Более 80 тысяч публикаций на электронном ресурсе PubMed подтверждают связь дефицита витамина D не только с заболеваниями костной системы, но и с инсулинорезистентностью, сахарным диабетом второго типа, увеличением массы тела, сердечно-сосудистыми заболеваниями, репродуктивным здоровьем, иммунитетом и воспалением. Физиологические уровни витамина D необходимо поддерживать для предупреждения развития заболеваний, ассоциированных со старением человека.

В настоящее время имеются убедительные данные о недостаточности витамина D во всех возрастных группах населения Российской Федерации и многих стран мира. Однако широкий популяционный скрининг витамина D проводить не рекомендуется, так как пока не установлены высокие критерии доказательности взаимосвязи дефицита витамина D и развития внекостной патологии.

Согласно клиническим рекомендациям Ассоциации клинических эндокринологов (2015), определение запасов витамина D актуально для пациентов с факторами риска развития его дефицита [1]. К таким группам относятся лица с заболеваниями костей, пожилые с переломами и падениями в анамнезе, пациенты с ожирением (ИМТ более 30 кг/м²), с синдромом мальабсорбции, пациенты, длительно принимающие глюкокортикоиды и некоторые другие лекарственные препараты. Передозировка витамина D развивается довольно редко и только при длительном ежедневном приеме в дозе 50000 Ед. При передозировке витамина D происходит интенсивное всасывание кальция, поступающего

с пищей, он откладывается в мягких тканях, артериях, роговице, мышцах и особенно в почках в виде кальцификатов, что также является крайне опасным для организма состоянием. Таким образом, как недостаток, так и избыток витамина D могут приводить к развитию патологических состояний.

Витамин D – это общее название группы биологически активных соединений с одинаковыми биологическими функциями, но которые различаются по своей биологической активности и способам получения. Известны не менее шести форм витамина D, например D₁ был впервые выделен в 1924 году из растительных масел, а D₂ и D₃ – в 1931-м. Наиболее активными являются две формы D₂ и D₃, они обеспечивают биологические эффекты на уровне организма человека.

Основная часть витамина D (90%) образуется в коже в виде витамина D₃ под воздействием УФ-лучей, и только 10% поступает в организм с пищей в виде провитамина D₂. Под термином «витамин D» принято понимать общую концентрацию форм D₂ и D₃ [7].

В печени витамин D от обоих источников превращается в 25-ги-

дроксивитамин D (кальцидиол или [25(OH)D]). Именно эта форма витамина циркулирует в крови в связанном с транспортным витамин-D-связывающим белком состоянии. [25(OH)D] имеет продолжительный период полураспада около 15 дней и по этой причине используется для оценки уровня или статуса витамина D в организме.

Дефицит витамина D у жителей Российской Федерации считается при уровне [25(OH)D] в сыворотке крови менее 20 нг/мл (50 нмоль/л), недостаток – 20–30 нг/мл (50–75 нмоль/л), адекватный уровень – 75 нмоль/л, рекомендуемые целевые значения при коррекции дефицита витамина D – 30–60 нг/мл (75–150 нмоль/л) [1]. Принятые нормы отличаются от значений, установленных в других странах, например США.

Кальцидиол – это биологически инертная форма, для ее активации требуется повторное гидроксирование в почках с образованием 1,25-дигидроксивитамина D (кальцитриола или [1,25(OH)₂D]). Только биологически активный кальцитриол может связываться со специфическими рецепторами.

Многие клетки имеют рецептор витамина D (RVD), либо в тканях присутствует 1 α -гидроксилаза, за счет которой они сами могут вырабатывать [1,25(OH)₂D]. В таких ситуациях наблюдаются высокие внутриклеточные концентрации [1,25(OH)₂D] без увеличения концентрации витамина D в общем кровотоке.

RVD относятся к суперсемейству, в которое включены рецепторы стероидных и тиреоидных гормонов и все рецепторы ретиноевой кислоты [21]. Наблюдается структурная и функциональная гомология этих рецепторов.

RVD обнаружены в 35 органах и тканях, в том числе у большинства клеток иммунной системы [16]. RVD экспрессируются в тонком кишечнике. Экспериментальные исследования на крысах показали, что 88% RVD экспрессируется в подвздошной кишке, 4% – в тощей кишке и 8% – в двенадцатиперстной кишке [18]. При многих состояниях важно определять не только статус витамина D, но и уровень экспрессии RVD. Например, при про-

грессировании остеопороза костной ткани важное значение имеют факторы, связанные не только с нарушением метаболизма витамина D, но и с дефицитом RVD, при котором возникает толерантность к витамину D. В кишечнике витамин D способствует усилению экспрессии кальциевого канала клеток эпителия, кальцийсвязывающего белка и других белков, участвующих в транспорте ионов кальция из просвета кишечника в кровяной ток. Витамин D увеличивает активность поглощения кальция и кишечный транспорт ионов кальция. Витамин D классически регулирует транспорт ионов кальция в организме, отсюда его название «кальциферол», что в переводе означает «несущий кальций». Нарушение кальциевого обмена имеет большое клиническое значение [2].

1,25-дигидроксивитамин D поступает внутрь клетки, связывается с рецептором клеточных ядер и активизирует гены, контролируемые синтез функциональных транспортных белков для ионов кальция. 1,25-дигидроксивитамин D также взаимодействует с RVD на поверхности остеобластов и стимулирует экспрессию RANKL (активатора рецептора лиганда транскрипционного фактора каппа-B). Это приводит к каскадному эффекту, усиливающему созревание остеокластов из их предшественников, что в свою очередь приводит к выходу запасов ионов кальция из костной ткани для поддержания кальциевого гомеостаза.

Активность 1 α -гидроксилазы (CYP27B 1) обнаружена, помимо почек, во многих органах и клетках, например в паращитовидной железе, кератиноцитах, остеокластах, макрофагах, эпителиоцитах толстой кишки, головном мозге, простате, молочных железах, легких, β -клетках поджелудочной железы [16, 17]. В этих клетках также происходит образование кальцитриола, оказывающего аутокринные и паракринные эффекты на близлежащие клетки.

Кальцитриол способен регулировать активность более 200 генов, связанных с процессами пролиферации и дифференцировки клеток. Роль кальцитриола состоит в торможении размножения клеток и стимуляции их конечной дифференцировки.

Локальный синтез кальцитриола играет важную роль в регуляции кальциевого обмена, формируя ряд отрицательных обратных связей. Так, местное образование кальцитриола в тканях паращитовидной железы приводит к подавлению синтеза паратиреоидного гормона (ПТГ). Повышение уровня кальцидиола в результате введения препарата витамина D закономерно приводит к снижению уровня ПТГ, но не сопровождается существенным повышением уровня кальцитриола и кальция в системном кровотоке [12].

В коже кальцитриол вызывает усиление формирования меланоцитов, что приводит к значительному уменьшению воздействия УФ-излучения на кератиноциты, а следовательно, к уменьшению образования витамина D₃ и формированию кальцидиола [12]. В результате местный синтез кальцитриола в коже также формирует отрицательную обратную связь, препятствуя чрезмерному повышению концентрации кальцидиола при интенсивной инсоляции. Уровень витамина D₃ у темнокожих ниже, чем у светлокочих людей.

В пожилом возрасте нарушаются процессы образования активных форм метаболитов витамина D и их рецепции в органах-мишенях. С возрастом уменьшается способность кожи продуцировать витамин D₃, и первостепенное значение для поддержания статуса витамина D приобретает поступление провитамина D₂ с пищевыми продуктами или биодобавками. С возрастом при усилении пигментации кожи выработка витамина D также снижается. Под воздействием УФ-лучей в коже 70-летнего человека образуется в четыре раза меньше витамина D₃, чем у 20-летнего.

Способностью тормозить образование кальцитриола и реабсорбцию фосфора в почках обладают фосфотины (FGF23, MEPE, sFRP-4) и белок Klotho. Взаимодействие фактора роста фибробластов 23 (FGF23) с рецептором требует присутствия кофактора – белка Klotho. Нарушение синтеза любого из этих белков в эксперименте приводит к тяжелой фосфатемии, гиперпаратиреозу, массивной внескостной кальцификации.

У человека FGF23 постоянно циркулирует в крови [20]. FGF23, секретируемый остеоцитами костной ткани, способствует активации 24-гидроксилазы (CYP24A1) в ответ на высокие концентрации кальцитриола и повышению концентрации фосфора в крови. Под действием 24-гидроксилазы высокие концентрации кальцитриола переводятся в неактивную форму – кальцитроевую кислоту, которая выводится из организма с желчью.

Прием препаратов витамина D в высоких дозах (300 000 МЕ в сутки) увеличивает концентрацию $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$ и FGF-23 [28]. Выявлены положительная корреляция между концентрацией в крови FGF-23 и сывороточными фосфатом ($r = 0,36$; $p = 0,024$) и кальцием ($r = 0,532$; $p < 0,001$) и отрицательная корреляция между $1,25(\text{OH})_2$ -витамином D и FGF-23 ($r = -0,32$; $p = 0,036$). FGF-23 ингибирует *in vivo* и *in vitro* эффект высоких концентраций витамина D.

Белок Klotho выполняет роль не только кофактора фосфотонинов. Этот белок секретируется паращитовидными железами при значительном падении уровня кальция в крови. Он вызывает усиление высвобождения ПТГ, активирует кальциевые каналы. Гормональные эффекты белка Klotho приводят к снижению концентрации фосфора и повышению концентрации кальция в результате прямого стимулирования его всасывания в кишечнике и реабсорбции в почках [20, 27].

Гипокальциемия с низким уровнем фосфора обычно связана с остеопорозом, обусловленной дефицитом витамина D или нарушением действия его метаболитов. В этом случае нарушается всасывание кальция в кишечнике и реабсорбция в почках.

Дефицит витамина D часто наблюдается вследствие мутации активности α -гидроксилазы и снижения синтеза $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$ (витамин D – зависимость I типа), так и мутации гена рецептора витамина D (витамин D – зависимость II типа), в результате чего развивается резистентность тканей к действию $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$. Концентрация кальцитриола в сыворотке крови обычно не снижается до тех пор, пока дефицит витамина D не достигнет критических значений.

Дефицит витамина D становится все более острой проблемой во всем мире. Большое число эпидемиологических исследований показали недостаточность витамина D среди разных популяций и географических регионов: до 30–42 % жителей планеты имеют уровень витамина D менее 50 нмоль/л.

Для жителей Российской Федерации дефицит витамина D связан в основном с небольшим количеством солнечных дней в регионах и тем обстоятельством, что с ноября по март из-за более острого угла падения солнечных лучей кожа человека практически не вырабатывает витамин D. Недостаточность витамина D в экваториальных странах с достаточной инсоляцией связана в основном с темным цветом кожи у населения, особенностями ношения национальной одежды, продолжительным временем работы в помещениях, использованием солнцезащитных кремов. Кроме того, на дефиците витамина D может сказываться недостаточно активное всасывание витамина D из желудочно-кишечного тракта, а у лиц с избыточной массой тела дефицит витамина D увеличивается из-за его депонирования в подкожно-жировой клетчатке.

За последние годы сложилось представление о витамине D как универсальном медиаторе различных физиологических процессов в организме человека [18]. В клинических рекомендациях (2015) обобщены установленные в настоящее время функции витамина D [1]. Так, витамин D представляет собой мощный эндокринный регулятор экспрессии ренина, а дефицит витамина D – это новый фактор риска прогрессирования болезни почек. Витамин D проявляет мощный протективный эффект в развитии злокачественных образований, прежде всего рака толстого кишечника. У мужчин применение витамина D связано с повышением уровня тестостерона в крови, хотя механизмы этого процесса не установлены. В результате того, что RVD и CYP27B1 широко распространены во всех отделах головного мозга, витамин D способствует фагоцитозу амилоидных бляшек, а дефицит витамина D связан с высоким риском снижения когнитивной функции.

В обзоре [6] обобщены патогенетические механизмы вовлеченности биологически активной формы витамина D $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$ во многие биологические процессы, включая модуляцию иммунной системы. Кроме того, присутствие рецептора витамина D было обнаружено почти во всех иммунных клетках, и некоторые из его полиморфизмов были связаны с увеличением частоты аутоиммунных заболеваний. Это открытие привело к предположительной связи между дефицитом витамина D и аутоиммунными заболеваниями. Выявлено, что у пациентов с различными аутоиммунными заболеваниями уровень витамина D был значительно ниже, чем у здоровых людей [6]. Однако пока неясно, является ли дефицит витамина D причиной или скорее следствием заболевания. Ограничения проведенных исследований, такие как небольшое число пациентов, гетерогенность выбранных групп, условия окружающей среды, методы измерения концентрации витамина D в сыворотке крови и другие факторы, пока не позволяют прийти к однозначным результатам, подтверждающим взаимосвязь между низким уровнем витамина D и развитием аутоиммунного заболевания.

Витамин D, связываясь с RVD, запускает каскад реакций синтеза катионных белков кателицидина и β -дефенсинов, оказывающих мощное защитное действие против микобактерий туберкулеза [22]. Снижение сывороточного уровня витамина D наблюдалось у больных активными формами туберкулеза по сравнению со здоровыми. Установлено, что уровни мРНК RVD достоверно ниже у больных активными формами туберкулеза по сравнению с постоянно контактирующими с ними лицами и здоровым контролем, а уровни кателицидина выше. Требуются дальнейшие исследования для определения роли добавок витамина D в профилактике и лечении туберкулеза.

По результатам 20-летнего когортного исследования (обследовано 3946 жителей Австралии в возрасте от 25 до 84 лет) была установлена высокая взаимосвязь уровня 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови и смертности от сердечно-сосудистых

заболеваний (ССЗ) [30]. Показано, что уровни витамина D в крови ниже 55–65 нмоль/л являются предикторами смертности от ССЗ, в том числе сердечной недостаточности. Однако прием препаратов витамина D не всегда оказывает положительный эффект на снижение смертности от ССЗ. Так, результаты некоторых когортных исследований, представленные в обзоре [31], свидетельствуют о негативном влиянии на исходы ССЗ приема препаратов витамина D в высоких дозах, особенно если уровень $[25(\text{OH})\text{D}]$ в сыворотке крови пациентов превышает 100 нмоль/л. В исследовании принимали участие пациенты с дефицитом 25-гидроксивитамина D (то есть с концентрацией в сыворотке крови менее 30 нмоль/л согласно нормам США), авторы сделали заключение, что важное значение имеет лабораторное мониторирование уровня 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови и нельзя допускать превышения концентрации более 100 нмоль/л.

Потенциальными факторами риска ССЗ являются не только повышенные концентрации гомоцистеина в сыворотке крови, но и дефицит витамина D. Повышенный уровень гомоцистеина считается при концентрации более 13 мкмоль/л. Проанализированы данные 4475 участников профилактической программы здоровья [23]. Пациенты принимали препараты витамина D, а затем проводилось повторное определение в сыворотке крови $[25(\text{OH})\text{D}]$ и гомоцистеина. Наблюдения показали, что временное улучшение статуса витамина D достоверно снижает концентрацию гомоцистеина в сыворотке крови и, следовательно, потенциально может способствовать первичной профилактике ССЗ.

Ключевую роль в выявлении пациентов с повышенным риском ухудшения прогноза развития сердечной недостаточности и сокращения продолжительности жизни играет определение витамина D и основного маркера кальцификации сосудов остеопротегерина (ОПГ) [9]. Авторы исследования показали, что уровень 25-гидроксивитамина D_3 был достоверно ниже у пациентов с сердечной недостаточностью ($20,49 \pm 7,31$ против $37,09 \pm 4,59$ нг/мл в контрольной

группе; $p < 0,001$). Значения ОПГ были достоверно выше у пациентов с сердечной недостаточностью (CH) по сравнению с контрольной группой ($4,7 \pm 0,25$ против $1,3 \pm 0,67$ нг/мл; $p < 0,001$). Значения ОПГ достоверно коррелировали с конечно-диастолическим объемом левого желудочка LVEDV ($r = 0,862$; $p < 0,001$), функцией выброса левого желудочка LVEF ($r = -0,832$; $p < 0,001$) и скоростью каротидно-бедренной пульсовой волны C-f PWV ($r = 0,833$; $p < 0,001$), а также с концентрацией $[25(\text{OH})\text{D}_3]$ в сыворотке крови ($r = -0,636$; $p < 0,001$).

Гиповитаминоз D, как показали эпидемиологические исследования [24], связан с факторами (воспаление, инсулинорезистентность, окислительный стресс, ожирение и дислипидемия), вызывающими неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП), которая в настоящее время имеет глобальное распространение. Установлено, что уровень дефицита витамина D напрямую связан с тяжестью НАЖБП. Предполагается, что витамин D может помочь в лечении НАЖБП путем положительного влияния на факторы риска. Однако данное предположение требует дополнительных исследований.

В последние годы значительное число исследований было посвящено изучению профилактической роли витамина D в ряде различных новообразований, однако их результаты крайне противоречивы. Н. Wei и соавт. показали, что применение высоких доз препаратов витамина D не обеспечивает защиту от канцерогенеза рака легких. Так, увеличение приема витамина D на 100 МЕ в сутки снижало риск рака легких всего на 2,4% [29]. Авторами был сделан вывод, что уровень витамина D не связан с риском рака легких. В последнее время была выдвинута гипотеза о том, что гиперфосфатемия может быть промежуточным фактором в ассоциации пониженного уровня витамина D и повышенного риска развития опухолевого процесса [8].

Впервые были проанализированы различные компоненты сигнальных путей витамина D при агрессивной меланоме, включая анализ экспрессии RVD, активирующих и инактивирующих гидроксилаз CYP27B1

и CYP24A1 соответственно, в этой опухоли [19]. Показано, что уровень меланина агрессивной меланомы обратно коррелировал с экспрессией VDR, также установлено, что витамин D метаболизируется при меланоме. Результаты исследований могут способствовать разработке новых методов диагностики и лечения меланомы.

В настоящее время витамин D входит в четверку наиболее назначаемых лабораторных тестов. Специфических клинических симптомов низкого уровня витамина D нет, поэтому необходимо определять его уровень в крови надежными методами. В основном для его определения в биологических пробах применяются методы связывания, такие как иммуоферментный анализ, хемилюминесцентный анализ и другие, иммунохимические методы анализа. Эти методы легко автоматизируются, с их помощью можно проводить анализ одновременно большого количества проб, и они широко распространены в клинической практике. Однако эти методы анализа имеют свои недостатки, они не совсем пригодны для определения стероидных гормонов (тестостерон, эстрадиол), к числу стероидов относится и витамин D. Стандартом определения общего витамина D в сыворотке крови служит метод тандем-масс-спектрометрии LC/MS/MS [13].

Тандемная масс-спектрометрия – это метод идентификации, обнаружения и количественного определения вещества в биологическом образце, основанный на отношении массы к заряду ионов, которое это вещество может образовывать под влиянием ионизирующих факторов. Тандемная масс-спектрометрия имеет ряд преимуществ перед иммунохимическими методами анализа. Детекция вещества в биологической пробе методом селекции массы позволяет добиться более надежных и достоверных результатов, в то время как для методов иммунохимического анализа характерно кросс-наложение, искажающее конечный результат. Из недостатков тандемной масс-спектрометрии следует отметить длительную пробоподготовку, которая проводится вручную и включает целый ряд последователь-

ных процедур. Кроме этого, постоянный контакт с анализируемым образцом при пробоподготовке увеличивает потенциальный риск контаминации проб и риск инфицирования персонала. Для решения перечисленных проблем предназначены автоматизированные станции пробоподготовки, например CLAM-2000 (Shimadzu) [4].

Совсем недавно разработано новое поколение методов иммуноанализа на платформе iSYS для определения витамина D. Получено полное соответствие результатов iSYS и LC/MS/MS, что дает возможность измерения уровней $25(\text{OH})\text{D}$ в клинических лабораториях на экспертном уровне [10].

Производители иммунохимических анализаторов пытаются совершенствовать процедуру определения витамина D. Проведено сравнение трех автоматизированных методов хемилюминесцентного определения общего 25-гидроксивитамина D с определением 25-гидроксивитамина D_3 и 25-гидроксивитамина D_2 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-детекцией (Agilent 1200) [14]. Хемилюминесцентные исследования проводили с использованием анализатора Abbott Architect i4000SR (Abbott Laboratories, Германия), ADVIA Centaur (Siemens, США) и Liaison XL (DiaSorin Inc, США). Все методы показали достоверные отличия по сравнению с иммунохимическим методом DiaSorin ($p < 0,001$ для Abbott, $p < 0,05$ для Siemens и $p < 0,0001$ для ВЭЖХ). Сравнение иммунохимического метода Siemens с ВЭЖХ также было достоверным; $p < 0,05$. Средняя величина DiaSorin была на 38 % ниже, чем среднее значение измерений методом ВЭЖХ. Незначительную разницу показало сравнение Abbott с ВЭЖХ, а также Abbott с Siemens. Результаты измерения общего 25-гидроксивитамина D были следующими: Abbott Laboratories – $70,2 \pm 24,2$ нмоль/л; Siemens – $67,6 \pm 27,9$ нмоль/л, DiaSorin – $53,5 \pm 17,1$ нмоль/л и ВЭЖХ – $82,4 \pm 40,0$ нмоль/л. Сравнение методики DiaSorin иммунохимического анализа с другими методами показало наибольшее отклонение результата определения 25-гидроксивитамина D. Средняя величина DiaSorin была на 38 % ниже,

чем среднее значение измерений методом ВЭЖХ. По результатам метода DiaSorin у большинства пациентов, получавших витамин D, не был достигнут необходимый оптимальный уровень 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови, и это может негативно повлиять на клиническое решение.

Внедрение в лабораторную практику только стандартизированных методов определения витамина D является проблемой настоящего времени [5]. Основные причины расхождения результатов определения витамина D следующие. Не все методы иммунохимического анализа определяют формы D_2 и D_3 в эквивалентных концентрациях [7]. Кроме того, витамин D в крови находится в связанном с белком состоянии, и для определения витамина D сначала необходимо разорвать связь с транспортным белком и провести экстракцию свободного витамина D. Для этого используются различные органические растворители, в частности в методиках LC/MS/MS или в радиоиммунном анализе. Однако в методиках иммунохимического анализа органические растворители использовать невозможно. Для высвобождения витамина D из комплекса с транспортными белками производители реагентов для иммунохимического анализа разрабатывают так называемые неорганические высвобождающие агенты, у каждого производителя наборов реагентов они свои. Эти особенности анализа существенно сказываются на результатах определения витамина D, полученных разными диагностическими методами. Однако каждый производитель оборудования и реагентов для иммунохимического анализа стремится приблизить результат определения витамина D к референтному методу LC/MS/MS или ВЭЖХ. В сравнении двух методов определение концентрации витамина D новым методом усиленной хемилюминесценции и референтным ВЭЖХ показало хорошее совпадение результатов в диапазоне низких и высоких значений. Общая корреляция результатов измерения составила 0,77 [4].

В 2010 году была разработана Международная программа стандартизации результатов определения витамина D (VDSP). Почти все

опубликованные до этого времени исследования витамина D основаны на нестандартизированных лабораторных измерениях $25(\text{OH})\text{D}$ [25]. Программа VDSP предполагает стандартизировать ранние клинические исследования определения витамина D на основе эталонной процедуры измерения внутреннего стандарта NIST (Гентский университет) и протоколов внешней оценки качества (DEQAS) [11]. Проблема стандартизации особенно актуальна для исследований, в которых был выявлен дефицит витамина D, так как это может существенно повлиять на правильный выбор дозы препарата витамина D для профилактического применения.

Заключение

Связь между статусом витамина D в организме и соматической патологией убедительно доказана целым рядом эпидемиологических исследований. Представлены данные о влиянии витамина D на инфекционные процессы и рост злокачественных опухолей. Количественное определение витамина D надежными методами анализа имеет важное клиническое значение, и такие методы сегодня имеются в арсенале современных лабораторий.

Список литературы

1. Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение, применение. Клинические рекомендации. – М., 2015. – 75 с.
2. Жилев Е. В. Клиническое значение нарушения кальциевого обмена / Е. В. Жилев, А. В. Глазунов, П. А. Глазунов // *Клин. медицина*. – 2011. – № 4. – С. 13–17.
3. Снопов С. А. Механизмы действия витамина D на иммунную систему / *Медицинская иммунология*. – 2014. – Т. 16, № 6. – С. 499–530.
4. Abdel-Wareth L. Total vitamin D assay comparison of the Roche Diagnostics "Vitamin D total" electrochemiluminescence protein binding assay with the Chromsystems HPLC method in a population with both D_2 and D_3 forms of vitamin D / L. Abdel-Wareth, A. Haq, A. Turner, S. Khan, A. Salem, F. Mustafa, N. Hussein, F. Pallinalakam, L. Grundy, G. Patras, J. Rajah // *Nutrients*. – 2013. – Vol. 22, T. 5. – N3. – P. 971–980; DOI: 10.3390/nu5030971.
5. Atef S. H. Vitamin D assays in clinical laboratory: Past, present and future challenges / S. H. Atef // *www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28242262*–2018. – Т. 175, P. 136–137; DOI: 10.1016/j.jsmb.2017.02.011.
6. Bizzaro G. Vitamin D and autoimmune Diseases: is vitamin D receptor (VDR) polymorphism the culprit? / G. Bizzaro, A. Antico, A. Fortunato, N. Bizzaro // *Isr. Med. Assoc. J.* – 2017. – Vol. 19, N7. – P. 438–443.
7. Bouillon R. Is Vitamin D2 Really Bioequivalent to Vitamin D3? / R. Bouillon, L. Verlinden, A. Verstuyf // *Endocrinology*. – 2016. – Vol. 157, N9. – P. 3384–3387; DOI: 10.1210/en.2016–1528.
8. Brown R. B. Vitamin D, cancer, and Dysregulated phosphate metabolism / R. B. Brown // *Endocrine*. – 2019. Jun 23. DOI: 10.1007/s12020–019–01985-y. [Epub ahead of print]

9. Buleu F.N. Correlations between vascular stiffness indicators, OPG, and 25-OH Vitamin D3 status in heart failure patients / F.N. Buleu, C.T. Luca, A. Tudor, M. Badalica-Petrescu, A. Caraba, A. Pah, D. Georgescu, R. Christodorescu, S. Dragan // *Medicina (Kaunas)*. – 2019. – Vol. 25, T. 55. – N6. – E309; DOI: 10.3390/medicina55060309.
10. Denimal D. Evaluation of the new restandardized 25-hydroxyvitamin D assay on the iSYS platform / D. Denimal, S. Roux, L. Duvillard // *Clin Biochem*. – 2018. – T. 52. – P. 156–160; DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2017.11.011.
11. Durazo-Arzu R.A. The Vitamin D Standardization Program (VDSP) Manual for Retrospective Laboratory Standardization of Serum 25-Hydroxyvitamin D Data / R.A. Durazo-Arzu, L. Tian, S.P.J. Brooks, K. Sarafin, K.D. Cashman, M. Kiely, J. Merkel, G.L. Myers, P.M. Coates, C.T. Sempos // *JAOAC*. – 2017. – Vol. 1, T. 100. – N5. – P. 1234–1243; DOI: 10.5740/jaoacint.17-0196.
12. Hillman L.S. Percent true calcium absorption, mineral metabolism, and bone mass in children with arthritis effect of supplementation with vitamin D3 and calcium / L.S. Hillman et al. // *Arthritis Rheum.* – 2008. – Vol. 58. – P. 3255–3263.
13. Huang M. Mechanism of error caused by isotope-labeled internal standard: accurate method for simultaneous measurement of vitamin D and pre-vitamin D by liquid chromatography/tandem mass spectrometry / M. Huang, A.B. Cadwallader, R. Heltsley // *Rapid Commun Mass Spectrom*. – 2014. – Vol. 15, T. 8. – N 19. – P. 2101–2110; DOI: 10.1002/rcm.6987.
14. Klapkova E. A comparison of four methods (Immunochemistry and HPLC) for Determination of 25-(OH)-Vitamin D in postmenopausal women. / E. Klapkova, J. Cepova, M. Pechova, K. Dunovska, K. Kotaska, R. Prusa // *Clin Lab*. – 2017. – Vol. 1, T. 63. – N2. – P. 385–388; DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160509.
15. Kudlacek S. Assessment of vitamin D and calcium status in healthy adult Austrian / S. Kudlacek, et al. // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 33. – P. 323–331.
16. Kulie T., Groff A., Redmer J. Vitamin D // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2005. – Vol. 289. – F8–28;
17. Marino R. Extra-Skeletal Effects of Vitamin D / R. Marino, M. Misra // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 27, T. 11. – N7. – E 1460; DOI: 10.3390/nu11071460.
18. Markiewicz A. Vitamin D Receptors (VDR), hydroxylases CYP27B1 and CYP24A1 and retinoid-related orphan receptors (ROR) level in human uveal tract and ocular melanoma with Different melanization levels. / A. Markiewicz, A.A. Brożyna, E. Podgórska, M. Elas, K. Urbańska, A.M. Jettten, A.T. Słominski, W. Józwicki, J. Orłowska-Heitzman, G. Dyduch, B. Romanowska-Dixon // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. T.9. – N1. – P. 9142; DOI: 10.1038/s41598-019-45161-8.
19. Nabeshima Y. Discovery of a-Klotho unveiled new insights into calcium and phosphate homeostasis / Y. Nabeshima // *Proc. Jpn. Acad., Ser. B.* – 2009. – Vol. 85. – N3. – P. 125–141.
20. Norman A.W. Minireview: vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor / A.W. Norman // *Endocrinology*. – 2006. – Vol. 414, N 12. – P. 5542–5548.
21. Panda S. Status of vitamin D and the associated host factors in pulmonary tuberculosis patients and their household contacts: a cross sectional study / S. Panda, A. Tiwari, K. Luthra, S.K. Sharma, A. Singh // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2019. – Vol. 27. – P. 105419; DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.105419.
22. Pham T.M. The Effect of Serum 25-Hydroxyvitamin D on Elevated Homocysteine Concentrations in Participants of a Preventive Health Program / T.M. Pham, J.P. Ekwari, S.S. Mastroeni, M.F. Mastroeni, S.A. Loehr, P.J. Veugeler // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 22. – T. 11, N8. – e0161368; DOI: 10.1371/journal.pone.0161368. eCollection 2016.
23. Sangouni A.A. A narrative review on effects of vitamin D on main risk factors and severity of non-alcoholic fatty liver Disease / A.A. Sangouni, S. Ghavamzadeh, A. Jamalzehi // *Diabetes Metab Syndr*. – 2019. – Vol. 13, T. 3. – P. 2260–2265; DOI: 10.1016/j.dsx.2019.05.013.
24. Sempos C.T. Developing vitamin D Dietary guidelines and the lack of 25-hydroxyvitamin D assay standardization: The ever-present past / C.T. Sempos, R.A. Durazo-Arzu, N. Binkley, J. Jones, J.M. Merkel, G.D. Carter // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2016. – Vol. 164. P. 115–119; DOI: 10.1016/j.jsbmb.2015.08.027.
25. T. Kulie Vitamin D / Kulie T., Groff A., Redmer J. // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2005. – Vol. 289. – F8–28;
26. Torres P.U., Klotho gene, phosphocalcic metabolism, and survival in Dialysis. / P. U. Torres // *J. Ren. Nutr.* – 2009. – Vol. 19. – P. 50–56.
27. Turner C. Effect of a 300000 IU loading Dose of ergocalciferol (Vitamin D2) on circulating 1,25(OH)2-vitamin D and fibroblast growth factor-23 (FGF-23) in vitamin D insufficiency / C. Turner, N. Dalton, R. Inaoui, I. Fogelman, W.D. Fraser, G. Hampson // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2013. – Vol. 98, T. 2. – P. 550–556; DOI: 10.1210/jc.2012-2790. Epub 2013 Jan 2.
28. Wei H. Associations of the risk of lung cancer with serum 25-hydroxyvitamin D level and Dietary vitamin D intake: A Dose-response PRISMA meta-analysis / H. Wei, H. Jing, Q. G. Wei, Z. Heng // *Medicine (Baltimore)*. – 2018. – Vol. 97, N 37. – P. 12282; DOI: 10.1097/MD.00000000000012282.
29. Zhu K. Serum 25-hydroxyvitamin D as a predictor of mortality and cardiovascular events: A 20-year study of a community-based cohort / K. Zhu, M. Knuiman, Divitini M., Hung J., Lim E.M., Cooke B.R., Walsh J.P. // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2018. – Vol. 88, N1. – P. 154–163; DOI: 10.1111/cen.13485.
30. Zittermann A. Vitamin D status, supplementation and cardiovascular Disease / A. Zittermann // *Anticancer Res.* – 2018. – Vol. 38, N2. – P. 1179–1186.

Для цитирования: Дрыгина Л.Б. Клиническое значение и особенности лабораторного определения витамина D. Медицинский алфавит. 2020;(5):40–45. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-40-45>

For citation: Drygina L.B. Clinical significance and features of laboratory determination of vitamin D. Medical alphabet. 2020;(5):40–45. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-40-45>



5

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ + АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ (ФАКТ PLUS 2020)

19–21 марта 2020 года, Москва



ФАКТ plus 2020

#СПЕШУНАФАКТ

#ТАЛАНТЫФАКТ

#ФАКТplus2020

#ФАКТplus2020

www.anticoagulants.ru