

УДК 577.161.22

О.А. ГРОМОВА¹, И.Ю. ТОРШИН², И.К. ТОМИЛОВА¹, А.В. ГИЛЕЛЬС¹¹Ивановская государственная медицинская академия МЗ РФ, г. Иваново²Московский физико-технический институт (государственный университет), г. Москва

Метаболиты витамина D: роль в диагностике и терапии витамин D-зависимой патологии

Контактная информация:

Громова Ольга Алексеевна — доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии Ивановской государственной медицинской академии, 153000, г. Иваново, Шереметевский пр., 8, тел. (4932) 41–65–25, e-mail: unesco.gromova@gmail.com

В большинстве исследований по анализу взаимосвязи между витамином D и заболеваниями изучаются ассоциации только одного из метаболитов витамина D — 25-гидроксивитамина D3 (25(OH)D3). При этом потенциальные эффекты уровней других метаболитов витамина D остаются вне внимания большинства исследователей. В настоящей работе рассмотрены биотрансформации холекальциферола, возможные ошибки в оценке дефицита D (связанные со свойствами тех или иных метаболитов витамина D3), фундаментальная биологическая роль метаболитов витамина D3 и перспективы использования оценок уровня метаболитов витамина D3 для клинической диагностики.

Ключевые слова: метаболиты витамина D, диагностика гиповитаминоза D, «Аквадетрим».

O.A. GROMOVA¹, I.Yu. TORSHIN², I.K. TOMILOVA¹, A.V. GILELS¹¹Ivanovo State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo²Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Moscow

Vitamin D metabolites: their role in the diagnosis and therapy of vitamin D-dependent pathology

For correspondence:

Gromova O.A. — D. Med. Sc., Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of Ivanovo State Medical Academy, 8 Sheremetevskiy prospekt, Ivanovo, Russian Federation, 153000, tel. (4932) 41–65–25, e-mail: unesco.gromova@gmail.com

In most studies on the relationship between vitamin D and diseases, only one of the metabolites of vitamin D—25-hydroxyvitamin D3 (25(OH)D3) is studied. In this case, the potential effects of levels of other metabolites of vitamin D remain outside the attention of most researchers. In the present work, biotransformation of cholecalciferol, possible errors in estimation of deficiency D (associated with the properties of various metabolites of vitamin D3), the fundamental biological role of vitamin D3 metabolites and prospects for using vitamin D3 metabolite levels for clinical diagnosis are considered.

Key words: metabolites of vitamin D, diagnosis of hypovitaminosis D, Aquadetrim.

За последнее десятилетие было показано, что достаточная обеспеченность организма витамином D, помимо поддержания здоровья костной и мышечной ткани, также необходима и для профилактики множества других заболеваний [1]. В результате отмечается резкое возрастание количества анализов крови на содержание витамина D. Как правило, для оценки статуса пациента по витамину D измеряются концентрации 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови.

К настоящему времени установлено существование более 50 метаболитов витамина D. Однако только два метаболита витамина D3 — 25-гидроксивитамин D3 («25(OH)D3» или просто «25(OH)D») и 1,25-дигидроксивитамин D3 («1,25(OH)2D3» или «1,25(OH)2D») — получили наибольшее внимание исследователей [2]. Более того, подавляющее большинство эпидемиологических и клинических исследований ограничиваются измерениями только одного метаболита — 25(OH)D. Поэтому весьма интересные и важные ассоциации показателей здоровья с концентрациями других метаболитов витамина D упускаются [3].

Традиция исследования только одного метаболита, 25(OH)D, связана с тем, что именно этот метаболит наиболее отчетливо ассоциирован с показателями здоровья костной ткани. Например, анализ ассоциаций уровней метаболитов витамина D в сыворотке крови с минеральной плотностью кости (МПК) показал, что только 25(OH)D был ассоциирован с более высокой МПК ($P=0.054$, $n=1773$, 18–50 лет). Данный показатель весьма информативен: разница в МПК между подгруппами пациентов с 25(OH)

$D < 20$ нг/мл и $25(OH)D \geq 30$ нг/мл составила -8.1 г/см³ (95% ДИ -15.1 – -1.4) [4].

Другой причиной использования концентраций 25(OH)D, как единственного биохимического маркера статуса витамина D, является то, что прием препаратов витамина D в большей степени повышает именно уровни 25(OH)D. Например, дозозависимые эффекты приема препаратов на основе различных метаболитов витамина D на метаболизм витамина D метаболитов и абсорбцию кальция были исследованы в группе детей ($n=323$). Группа была рандомизирована на плацебо или прием 400, 1000, 2000 и 4000 МЕ/сут витамина D в течение 12 недель. Во всех группах, принимавших витамин D, отмечено выраженное увеличение концентрации 25(OH)D (например, $+76$ нмоль/л для 4000 МЕ/сут), в то время как изменения, например, концентрации 1,25(OH)2D3 в крови не были достоверными ($P > 0.05$) [5].

Тем не менее информация об уровнях других метаболитов имеет и фундаментальное, и клиническое значение. В частности, такие метаболиты витамина D, как 1,24R,25(OH)3D3, 1,25S,26(OH)3D3, 1,25(OH)3D3 стимулируют адсорбцию кальция костной тканью и характеризуются синергидным противорахитическим эффектом [6]. Подчеркнем, что всасыванию кальция способствуют именно метаболиты холекальциферола, а не сам витамин D3. Достоверный эффект на повышение всасывания кальция, например от кальцитриола, 1,25(OH)2D, наблюдался даже при самой низкой дозе (0.5 мкг/сут), в то время как эффект от приема витамина D3 отмечен только при самой

высокой дозе (50000 МЕ/сут) и был опосредован биотрансформацией D3 в 25(OH)D3 [7]. Соотношение концентраций различных метаболитов витамина D является весьма перспективным диагностическим инструментом [3].

Настоящая работа представляет результаты систематического анализа фундаментальных и клинических исследований метаболитов витамина D. Последовательно рассматриваются биотрансформации холекальциферола, приводящие к образованию метаболитов витамина D, взаимосвязь уровней различных метаболитов витамина D3 и ошибок в оценке дефицита витамина D. Рассмотрены также фундаментальная биологическая роль метаболитов витамина D и предпосылки к использованию измеренных уровней метаболитов витамина D3 как вспомогательного диагностического инструмента.

О биотрансформациях и фармакокинетике холескальциферола

Основные пути метаболизма производных витамина D3 приведены на рис. 1. Каскад биотрансформаций метаболитов витамина D достаточно сложен. Например, фермент CYP11A1 может гидроксигилировать (т. е. присоединять OH группу) холекальциферол к атому углерода в позициях 17, 20, 22 и 23 стероидного ядра с получением более чем 10 метаболитов, в т. ч. 20(OH)D3, 20,23(OH)2D3, 20,22(OH)2D3, 17,20(OH)2D3 и др. Получаемые при этом метаболиты (в частности, 20(OH)D3) оказывают противовоспалительный эффект за счет ингибирования синтеза и секреции ФНО и IL-6, также повышая уровни противовоспалительного цитокина IL-10. В то же время CYP11A1 не действует на 25(OH)D3 — основную форму витамина в крови [8].

Наиболее изученным и принципиально важным маршрутом биотрансформаций поступающего с пищей холекальциферола является последовательное преобразование витамина D3 в 25(OH)D3 и затем в «биологически активный» кальцитриол 1,25(OH)2D3 (рис. 2). В основе этого процесса фермент CYP2R1 в печени преобразует витамин D3 в 25(OH)D3, который переносится током крови в почки, где фермент CYP27B1 трансформирует 25(OH)D3 в 1,25(OH)2D3.

Кальцитриол (1,25-дигидроксивитамин D), активная форма витамина D, является одним из высокоактивных стероидных гормонов и после того или иного биологического воздействия подвергается деградации. Ген CYP24A1 индуцируется уровнями 1,25(OH)₂D₃ и синтезируемый при активации гена одноименный фермент осуществляет цепь реакций для получения наименее активной формы витамина, кальцитроевой кислоты (рис. 3). Схожий набор реакций происходит и при биодеградации 25(OH)₂D₃ под контролем фермента CYP24A1 с образованием 24,25-дигидроксивитамина; 24,25(OH)₂D₃ образуется из 25(OH)₂D₃ под контролем фермента P450cs24 (25-гидроксивитамин-D3-24-гидроксилазы) [9].

Несмотря на то, что такие метаболиты, как 25(OH) D3, 1,24R,25(OH)3D3, 1,23S,25(OH)3D3, характеризуют-

ся сниженным (по сравнению с $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) сродством к рецептору витамина D (VDR), они все же дозозависимо активируют VDR. Данный эффект наблюдается даже для «неактивной» кальцитроевой кислоты [10]. Кальцитроевая кислота (которая хоть и считается «неактивным» метаболитом и продуктом окончательной деградации витамина D) в достаточно высоких концентрациях ($\text{IC}_{50} 2.3 \pm 0.4 \text{ мкм/л}$) может активировать VDR-опосредованную транскрипцию. Кроме того, кальцитроевая кислота может быть одной из молекул-посредников, обеспечивающих защитные свойства витамина D против рака толстой кишки [11].

Поэтому, в соответствии с современными научными данными, даже кальцитроевую кислоту не следует именовать «неактивным» метаболитом витамина D. Этот вывод применим ко всем метаболитам витамина D. Различные метаболиты витамина D и их химические модификации отличаются по своим фармакологическим эффектам [12].

- холекальциферол, или кальцитриол, применяется у пациентов с нормальной функцией почек для коррекции дефицита витамина D;
- кальцитриол (1,25(OH)2D3) обладает самым мощным гиперкальциемическим эффектом, в т. ч. у пациентов с почечной недостаточностью, и существенно ингибирует активность паращитовидных желез (секреция ПТГ);
- 3-эпи-кальцитриол (3-эпи-1,25(OH)2D3) — сильный ингибитор секреции ПТГ с ослабленным гиперкальциемическим эффектом;
- альфакальцидол (1-(OH)D3) назначают для лечения остеопороза и пациентам с дисфункцией почек для лечения гиперпаратиреоза.

Заметим, что стереотип именованная кальцитриола как единственной «активной» формы витамина D сложился в первой половине XX века и подразумевает под «активностью» исключительно гиперкальциемический эффект витамина D. Действительно, 1,25-дигидроксивитамин D3, по сравнению с другими эндогенными метаболитами витамина D, наиболее полно активирует рецепторы витамин D [13]. Тем не менее уровни 1,25(OH)2D3 в крови являются в каком-то смысле «низкоинформативными» маркерами дефицита витамина D3, т. к., по данным многочисленных клинико-эпидемиологических исследований, более низкие уровни 25(OH)D3 не коррелируют с более низкими уровнями 1,25(OH)2D3 и с проявлениями дефицита витамина D (n=3661) [14].

Рисунок 2. Основной маршрут гомеостаза витамина D3

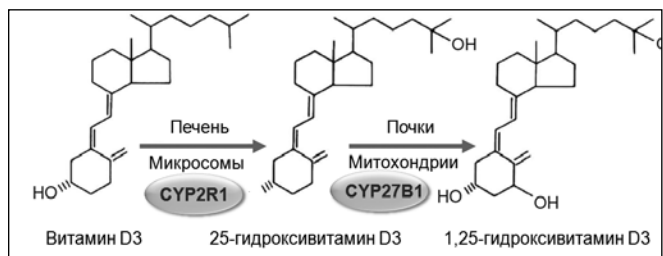


Рисунок 3. Деградація 1,25(OH)2D3

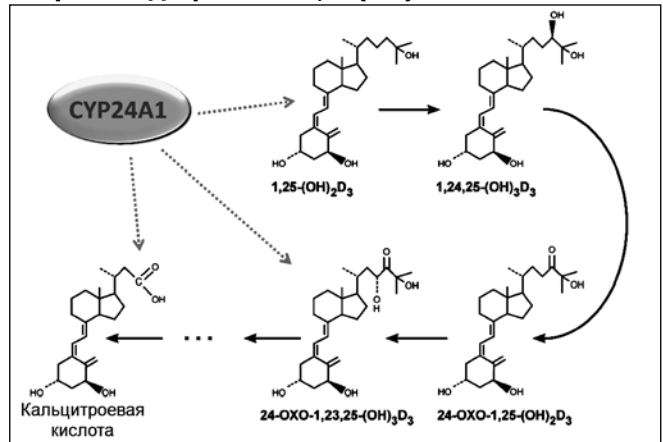


Рисунок 1. Основные пути метаболизма витамина D3 с участием ферментов-цитохромов CYP11A1, CYP27A1, CYP27B1 и CYP24A1

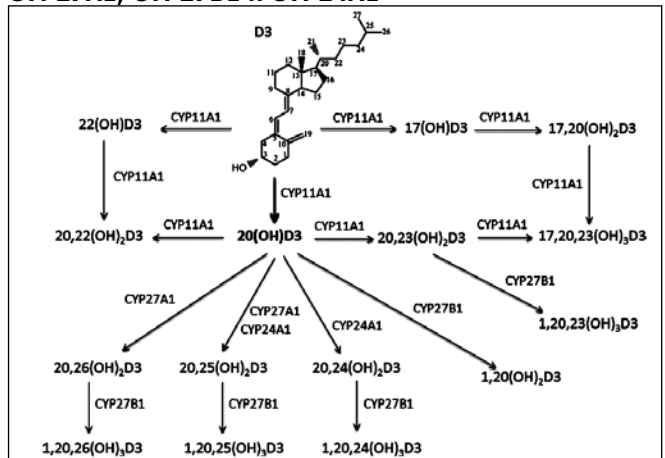


Рисунок 4. Распределения уровней нескольких метаболитов витамина D в начале и в конце исследования. Представлены распределения частот значений концентраций метаболитов на день 0 и на день 180 для (а) холекальциферола, (б) 25(OH)D и (в) 24,25(OH)2D. Примечание: светло-серый цвет указывает на перекрытие данных на день 0 и 180

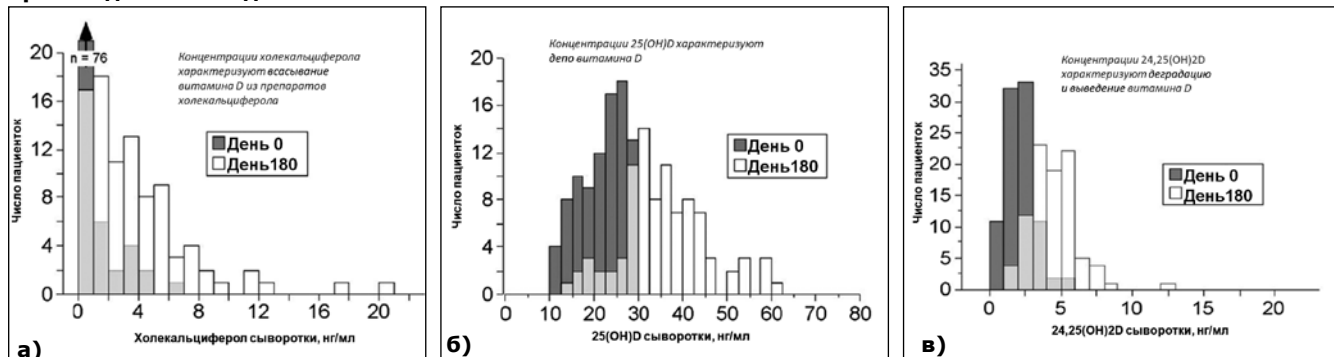
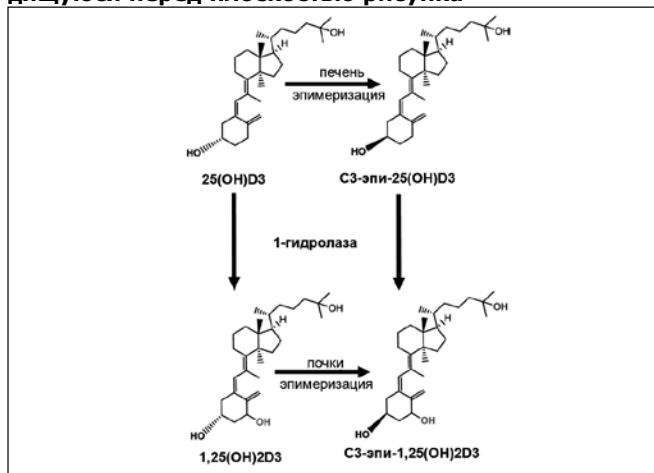


Рисунок 5. Реакции эпимеризации метаболитов витамина D с образованием соответствующих стереоизомеров. Пунктирный треугольник к группе «ОН» обозначает химическую связь, находящуюся за плоскостью рисунка. Сплошной треугольник к группе «ОН» обозначает химическую связь, находящуюся перед плоскостью рисунка



Отсутствие корреляции обусловлено фундаментальными физиологическими причинами. Во-первых, концентрации 25(OH)D3 на несколько порядков выше, чем концентрации 1,25(OH)2D3. Поэтому даже при очень низких уровнях 25(OH)D3 в крови, имеющееся количество 25(OH)D3 позволяет поддерживать концентрации 1,25(OH)2D3 на требуемом уровне.

Во-вторых, 1,25(OH)2D3 является высокоактивным стероидным гормоном и его уровни жестко регулируются посредством физиологических систем организма. В частности, как было отмечено выше, при избытке 1,25(OH)2D3 активируется экспрессия гена 24-гидроксилазы CYP24A1, что приводит к деградации молекулы 1,25(OH)2D3.

Жесткая регуляция уровней 1,25(OH)2D3 является характерной физиологической особенностью данного метаболита, как у человека, так и у животных, проживающих в весьма различных географических зонах, вне зависимости от инсоляции. Например, концентрации более 10 различных молекул метаболита в сыворотке крови (в т. ч. метаболитов витамина D), были измерены у 12 диких видов кошачьих, включая степную рысь (*Felis caracal*), гепарда (*Acinonyx jubatus*), пуму (*Felis concolor*), котарыболова (*Felis viverrinus*), леопарда (*Panthera pardus*), льва (*Panthera leo*), оцелота (*Felis pardalis*), манула (*Felis manul*), барханного кота (*Felis margarita*), сервала (*Felis serval*), снежного барса (*Panthera uncia*) и тигра (*Panthera tigris*). Анализ проб крови на содержание общего холестерина, триацилглицеридов, ЛПВП- и ЛПНП-холестерина, 25(OH)D и 1,25(OH)2D, ретиноидов, токоферолов и каротиноидов указал на достоверные межвидовые раз-

личия в уровнях всех метаболитов, кроме 1,25(OH)2D [15]. Заметим, что установленные в данном исследовании уровни кальцитриола у кошачьих (30–130 пмоль/л) вполне соответствуют нормам кальцитриола для человека (42–169 пмоль/л).

Хроническая почечная недостаточность характеризуется существенным снижением биосинтеза кальцитриола 1,25(OH)2D3 из 25(OH)D3. Однако известно, что биологическая активность кальцитриола снижается при уремии, как за счет снижения экспрессии рецепторов витамина D, так и вследствие нарушения взаимодействия рецепторов витамина D с ДНК из-за избытка мочевины и мочевой кислоты при уремии [16]. Поэтому состояние здоровья почек у конкретного пациента является одним из важнейших факторов, определяющий отклик пациентов на терапию препаратами холекальциферола.

У разных пациентов прием витамина D приводит к разной величине отклика уровней 25(OH)D в сыворотке крови. Эта изменчивость отражает, помимо состояния почек, различия в интенсивности процессов всасывания витамина D (уровни холекальциферола) и деградации витамина D (уровни 24,25(OH)2D, кальцитроевой кислоты и др.). Несмотря на эти очевидные различия в фармакокинетическом отклике на препараты витамина D, практически все клинические исследования и рекомендации экспертов подразумевают назначение фиксированных доз витамина D для всех пациентов [17].

Также важно отметить, что определение уровней различных метаболитов витамина D позволяют выяснить различные аспекты фармакокинетического отклика организма на прием витамина. Например, в группе женщин с маргинальным дефицитом витамина D ($n=91$, 25(OH)D < 30 нг/мл) участницы получали витамин D₃ (2500 МЕ/сут) в течение 6 месяцев [17]. Отмечено достоверное увеличение концентраций всех метаболитов витамина D (рис. 4).

Тем не менее значимость этих изменений уровней метаболитов была различной. Так, динамика уровней холекальциферола показывает, что пациентки, обследованные в работе [17], не принимали препаратов витамина D до начала исследования, а содержание холекальциферола в их рационе было минимальным.

Возрастание уровней 25(OH)D в динамике обсуждаемого исследования указывает на то, что нижняя граница нормы 25(OH)D (30 нг/мл) у значительной части пациентов была достигнута только через 6 месяцев терапии. У пациентов с 25(OH)D < 30 нг/мл даже после 6-месячного курса терапии можно предположить наличие нарушений функции печени, в которой собственно и происходит биосинтез 25(OH)D.

Возрастание уровней 24,25(OH)2D в динамике исследования указывает на возрастание общей интенсивности гомеостаза витамина D. Оценка уровней 24,25(OH)2D, наряду с уровнями холекальциферола и 25(OH)D, может являться эффективным способом подбора дозы витамина D у индивидуальных пациентов.

Достаточно интересной подгруппой метаболитов витамина D, возникающих в результате биотрансформаций, являются так называемые эпимеры витамина D. Эпимерами на-

зываются стереоизомеры, то есть молекулы с одинаковой структурой химических связей, но с различной стереохимической конфигурацией (лево- и правовращающей). Например, C3-эпимеры витамина D отличаются от известных метаболитов витамина D только конфигурацией гидроксильной группы у 3-го атома углерода стероидного ядра. Так, метаболиту 25(OH)D3 соответствует C-3-эпимер 25(OH)D3 (3-эпи-25-(OH)D3). Молекула 3-эпи-25-(OH)D3 также может подвергаться 1-гидроксилированию с образованием 3-эпи-1,25(OH)2D3, который в свою очередь связывается с рецептором витамина D (VDR). Хотя связывание 3-эпи-1,25(OH)2D3 VDR рецептором происходит с меньшим сродством по сравнению с 1,25(OH)2D3, данный C3-эпимер кальцитриола все равно активирует транскрипцию витамин-D-зависимых генов [18].

Многие из эпимеров витамина D, во-первых, являются эндогенными (т. е. синтезируются в организме), и, во-вторых, могут характеризоваться существенно различными биологическими свойствами. Например, 3-эпи-1,25(OH)2D3, обнаруживаемый в концентрациях более 2.0 нг/мл у 41% здоровых добровольцев, характеризуется столь же сильным эффектом в подавлении секреции ПТГ, как и 1,25(OH)2D3. Однако 3-эпи-1,25(OH)2D3 характеризуется гораздо более слабыми кальциемическими эффектами, чем сам кальцитриол [19] (рис. 5). Поэтому существование эпимеров несколько усложняет точное измерение концентраций метаболитов витамина D и приводит к завышенным оценкам уровней метаболитов.

Такие метаболиты витамина D, как холекальциферол, 25(OH)D3 и 1,25(OH)2D3, характеризуются существенно различными фармакокинетическими свойствами. Воздействие приема препаратов холекальциферола, 25(OH)D3 и 1,25(OH)2D3 на уровни метаболитов витамина D в крови было изучено у здоровых добровольцев (n=116, 28±4 лет, потребление молока <500 мл/сут, 25(OH)D 67±25 нмоль/л). Участники были рандомизированы на получение D3 (25, 250 или 1250 мкг/сут, 8 нед.), 25(OH)D3 (10, 20 или 50 мкг/сут, 4 нед.) и 1,25(OH)2D3 (0.5, 1.0 или 1.0 мкг/сут, 2 нед.).

При приеме холекальциферола у пациентов повышались уровни холекальциферола и 25(OH)D, но не уровни кальцитриола (1,25(OH)2D3). При приеме 25(OH)D3 повышались только уровни 25(OH)D3, а при приеме 1,25(OH)2D3 — только уровни 1,25(OH)2D [20]. Были получены следующие оценки средних эффектов лечения здоровых взрослых (70 кг) для типично используемых дозировок этих метаболитов витамина D:

- 8-недельный курс витамина D3 10 мкг/день (400 МЕ/сут) повышает концентрацию холекальциферола в сыворотке крови на 4 нг/мл, а концентрацию 25(OH)D — на +4.4 нг/мл;
- 4-недельный курс 25(OH)D3 (20 мкг/сут) повышает уровень 25(OH)D на +38 нг/мл;
- 2-недельный курс 1,25(OH)2D3 (0.5 мкг/сут) повышает уровень 1,25(OH)2D на +17 нмоль/л [20].

Метаболиты витамина D3 и возможные ошибки при оценке дефицита D

Для определения уровня витамина D чаще всего используется хемилюминесцентный иммуноанализ, в котором для распознавания молекул используются моноклональные антитела. Поэтому на точность измерения уровней 25(OH)D3 могут существенно влиять и другие метаболиты витамина D, весьма схожие с 25(OH)D3 по химической структуре и ошибочно распознаваемые «моноклональным» антителом как 25(OH)D3.

Например, при обследовании группы пациентов установлены следующие диапазоны значений концентраций различных метаболитов: 25(OH)D3 — 7-60 нг/мл, 1,25(OH)2D3 10-100 пг/мл; 3-эпи-25(OH)D3 — 0.1-4.5 нг/мл [21]. Заметим, что при использовании стандартных тестов невозможно отличить молекулы 25(OH)D3 и 3-эпи-25(OH)D3 в крови. Поэтому получаемые значения 25(OH)D3 могут быть завышены на 0.1-4.5 нг/мл за счет 3-эпи-25(OH)D3.

Более детальное исследование взаимосвязей концентраций различных метаболитов D3 подтверждает этот вывод. Оценка точности определения 25-гидроксивитамина D в крупномасштабном клинико-эпидемиологическом ис-

следовании (n=1100) показала, что концентрации 3-эпи-25-(OH)D3 и 24,25(OH)2D3 в высокой степени коррелируют с концентрацией 25(OH)D3 в крови (r=+0.95). При этом концентрации каждого из этих метаболитов составляют 8...11 % от концентрации 25(OH)D3 [22]. Таким образом, измеряемые концентрации 25(OH)D3 могут быть завышены на 16...22 % (что составляет, в среднем 5-8 нг/мл). У детей до 6 месяцев метаболиты могут составлять большую часть и завышать уровень 25(OH)D3 до 60 %.

Биологическая роль метаболитов витамина D3 и данные фундаментальных исследований. Даже в случае наиболее исследованного эффекта витамина D (а именно воздействие на гомеостаз костной ткани) биологически активным оказывается не только кальцитриол. Например, метаболиты витамина D3 стимулируют остеогенную дифференцировку клеток пульпы зуба человека и клеток зубного фолликула. Установлено, что 1,25(OH)2D3 (в концентрациях 10...100 нМ) и 25(OH)D3 (500 нМ) могут быть использованы в качестве индукторов остеогенеза зубов [23]. Применение метаболитов витамина D3 способствовало активации процесса биоминерализации (рис. 6).

Метаболиты витамина D, гидроксилированные по 24-му атому углерода стероидного ядра (такие как 24,25(OH)2D3), играют важную роль в заживлении переломов. В эксперименте дефицит активности цитохрома Cyp24a1, гидроксилирующего метаболиты витамина D по атому C-24, задерживает заживление перелома. Делеция гена CYP24A1 приводит к существенной задержке минерализации хрящевой матрицы и сопровождается снижением экспрессии генов-маркеров хондроцитов [24].

В росте хряща принимают участие различные метаболиты витамина D3. Уровни интерлейкина-1 в ростовой пластине хряща регулируются 1,25(OH)2D3 и 24,25(OH)2D3 [25]. Эпифизарные хондробласты содержат специфические рецепторы для 24R,25(OH)2D3, в то время как диафизарные остеобласты содержат специфические рецепторы для 1,25(OH)2D3. Во время эмбриогенеза и на ранних этапах постнатального развития почки реагируют сначала на 24,25(OH)2D3, а затем на 24,25(OH)2D3 и на 1,25(OH)2D3. Почки взрослого человека реагируют только на 1,25(OH)2D3. Эпифизарные и диафизарные хондробласты на любой стадии развития реагируют на 24,25(OH)2D3, тогда как остеобласты реагируют только на 1,25(OH)2D3. Таким образом, например, метаболит 24,25(OH)2D3 является одним из центральных факторов созревания хряща, особенно в период раннего постнатального развития [26].

В эксперименте метаболиты витамина D ингибируют вирус гепатита C — холекальциферол (D3), 25(OH)D3 и 1,25(OH)2D3 проявляли антивирусную активность в ми-

Рисунок 6. Биоминерализация клеток зубного фолликула (КЗФ) при воздействии метаболитов витамина D3. Окрашивание клеток, в которых был стимулирован остеогенез, производилось ализариновым красным. Проведено сравнение с дексаметазоном (глюкокортикостероид, наиболее часто используемый для индукции остеогенеза)

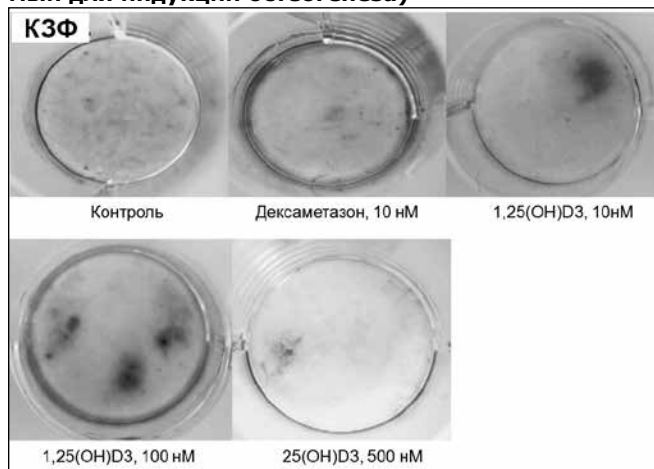


Рисунок 7. Холекальциферол (D3) стабилизирует межклеточные контакты. Эндотелиальные монослои клеток были подвержены действию провоспалительных IL-1бета и ФНО-альфа в присутствии контроля (DMSO, диметилсульфоксид; 7-DHC, 7-дигидрохолестерин) или D3. Клетки фиксировали и VE-кадгерин визуализировали с помощью иммунофлуоресцентной маркировки с последующим автоматизированным сканером и количественным анализом получаемых изображений. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, * $p<0.001$**

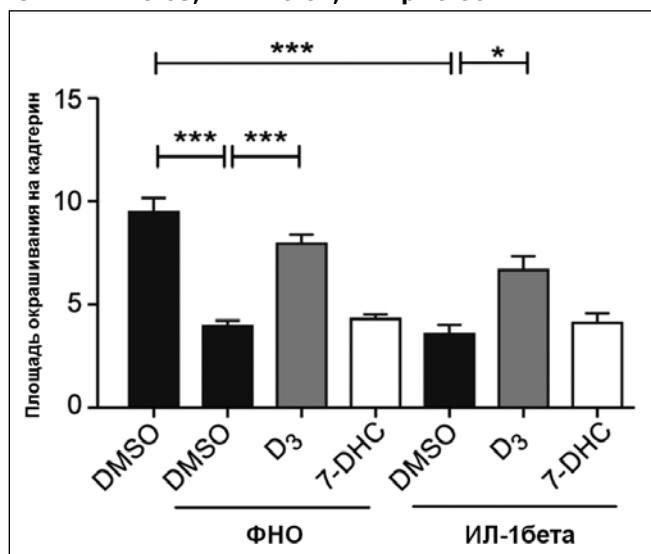
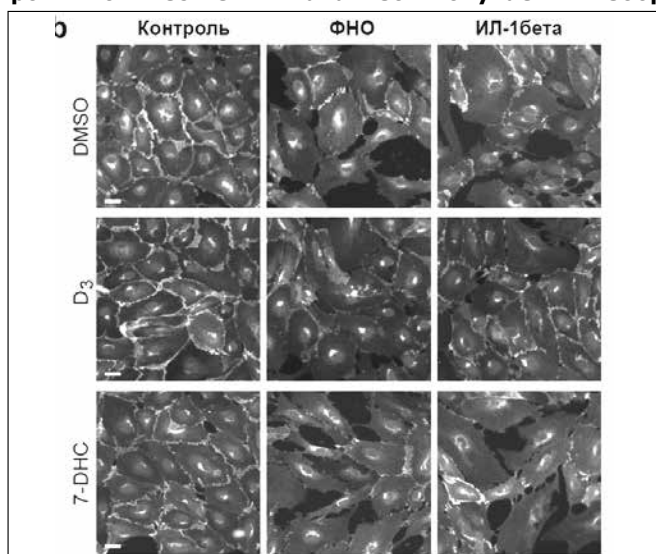


Рисунок 8. Частота уровней 25(ОН)D<30 нмоль/л у пациентов с различными подтипами анемии (в %). ** $P<0.01$; * $p<0.001$ в сравнении с группой без анемии**

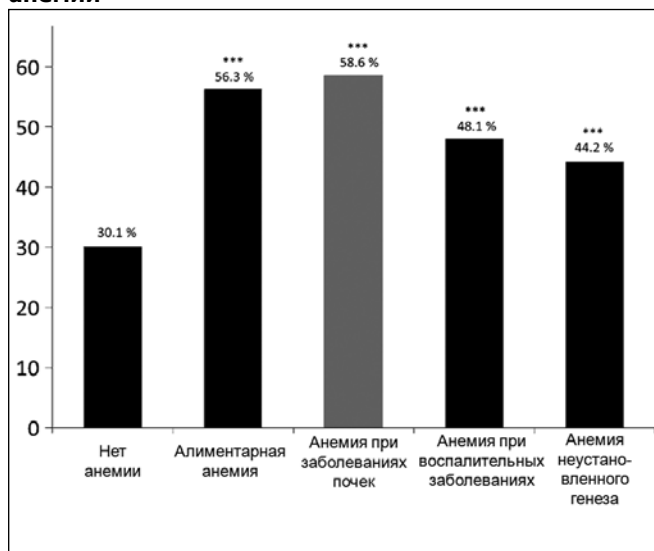
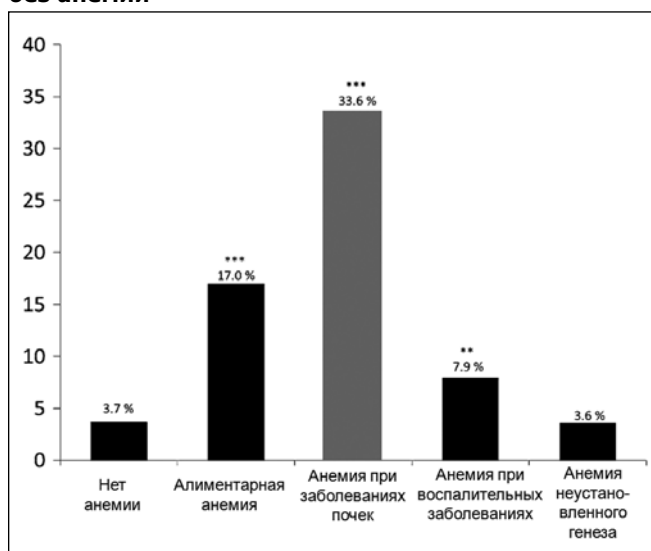


Рисунок 9. Частота уровней 1,25(ОН)2D<40 пмоль/л у пациентов с различными подтипами анемии (в %). ** $P<0.01$; * $p<0.001$ в сравнении с участниками без анемии**



кромольарном диапазоне концентраций. Сниженные концентрации 25(ОН)D3 ассоциированы с уменьшением ответной реакции организма на терапию интерфероном и рибавирином [27].

Тучные клетки преобразуют 25(ОН)D3 в 1,25(ОН)2D3 посредством цитохрома CYP27B1 и оба этих метаболита витамина D подавляют индуцируемые IgE провоспалительные реакции тучных клеток [28].

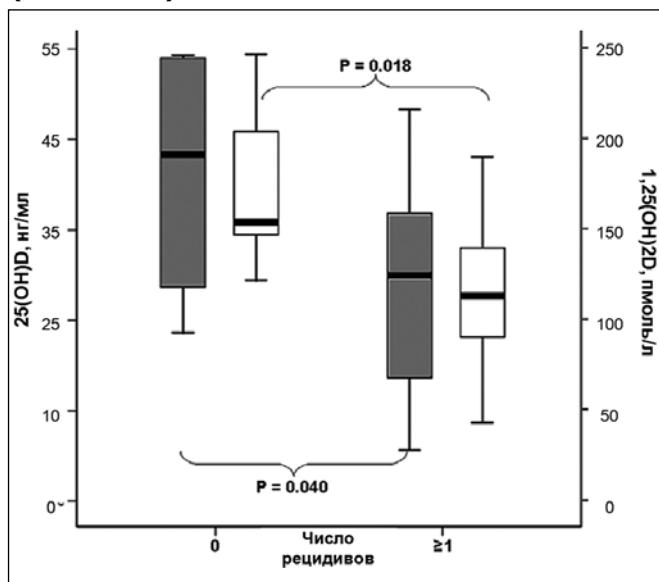
Метаболиты D3, 25(ОН)D3 и 1,25(ОН)2D3 стабилизируют структуру эндотелия сосудов при физиологически значимых концентрациях. При этом эффекты метаболитов не зависят от «канонической» экспрессии генов, происходящей при активации рецептора витамина D (VDR) [29]. Холекальциферол (D3) усиливал целостность межклеточных соединений, измеренных с помощью иммуноцитохимического окрашивания белка межклеточного взаимодействия кадгерина на фоне деструктивного воздействия провоспалительных цитокинов IL-1бета и ФНО-альфа. Таким образом, D3 ингибирует дестабилизирующее воздействие провоспалительных цитокинов на межклеточные соединения в эндотелии (рис. 7.).

Витамин D и его метаболиты ингибируют пролиферацию раковых клеток ($p<0.001$) [30], чему имеются и клинические подтверждения. Так, низкие уровни 25(ОН)D (<25 нг/мл) наряду с ожирением, низкой физической активностью и курением, являются независимыми факторами риска смертельного исхода у пациентов со злокачественной аденомой простаты ($n=1822$, OR: 1.6, 95% ДИ 1.1...2.4, $P=0.006$) [31], в то время как не было установлено ассоциации с уровнем 1,25(ОН)2D.

Уровни метаболитов витамина D3 и клиническая диагностика различной патологии

Как было отмечено ранее, более правильной процедурой исследования клинических эффектов витамина D было бы одновременное определение уровней всех известных метаболитов витамина D [21]. Обоснованием этого положения являются результаты клинических исследований, которые указывают уровни тех или иных метаболитов витамина D как независимых факторов риска патологий. Например, в когорте пациентов, направленных на коронарную ангиографию ($n=3299$), установлены независимые достоверные ассоциации различных метаболитов вита-

Рисунок 10. Уровни метаболитов витамина D у пациентов с рассеянным склерозом (N=31; длительность заболевания ≤5 лет, балл EDSS≤3.5). Показаны данные для 25(OH)D3 (серый цвет) и 1,25(OH)2D3 (белый цвет)



мина D с субклинической анемией (гемоглобин <125 г/л, 16 % участников). Пациенты с 25(OH)D <12 нг/мл (34 % пациентов) имели на -6 г/л более низкие уровни гемоглобина (О.Р. 1.5, 95 % ДИ 1.2-2.0, рис. 8) [21].

В подгруппе пациентов с уровнями 1,25(OH)2D <40 пмоль/л (5.4 %), по сравнению с подгруппой пациентов с 1,25(OH)2D >70 пмоль/л, гемоглобин был на -13 г/л ниже (ОР 3.6, 95 % ДИ 2.3 -5.5). Риск анемии был выше у пациентов с сочетанным дефицитом метаболитов 25(OH)D и 1,25(OH)2D (ОР 5.1, 95 % ДИ 2.7-9.8). У пациентов с анемией на фоне хронической патологии почек отмечены самые высокие показатели распространенности дефицита метаболитов 25(OH)D и 1,25(OH)2D [21] (рис. 9).

Уровни метаболитов витамина D ассоциированы с риском анемии и у пациентов, готовящихся к аорто-коронарному шунтированию (n = 3615). Как известно, даже субклиническая форма предоперационной анемии (гемоглобин <125 г/л, встречалась у 27% пациентов) является независимым фактором риска послеоперационных осложнений. У пациентов с 25(OH)D <12 нг/мл средние концентрации гемоглобина были на 0.5 г/дл ниже, чем у пациентов с 25(OH)D >20 нг/мл (p < 0.001). Средние концентрации гемоглобина были на 12 г/л ниже у пациентов с 1,25(OH)2D <40 пмоль/л, чем у пациентов с 1,25(OH)2D >70 пмоль/л (p < 0.001). Риск анемии был наибольшим у пациентов с дефицитом как 25(OH)D, так и 1,25(OH)2D (ОР 3.6, 95 % ДИ 2.4...5.4) [32].

Концентрации 1,25(OH)2D ассоциированы с риском метаболического синдрома (n=2096). Участники с уровнями 25(OH)D более 30 нг/мл и 1,25(OH)2D более 38 пг/мл продемонстрировали значительно более низкие шансы метаболического синдрома (ОР 0.4, 95 % ДИ 0.2-0.7) по сравнению со всеми другими участниками [33].

Уровни метаболитов витамина D в сыворотке крови ассоциированы с частотой рецидивов и инвалидностью у пациентов с рассеянным склерозом (n=267). Уровни 25(OH)D3 были достоверно ниже у пациентов с прогрессирующим фенотипом заболевания по сравнению с рецидивирующим-ремитирующим фенотипом (-12 нг/мл, P=0.04). Ассоциация была достоверна и для уровней 1,25(OH)2D3 (-40 пмоль/л, P=0.018). В то же время низкие уровни 25(OH)D3 были ассоциированы высоким баллом по шкале EDSS (расширенная шкала Куртцке для оценки степени инвалидизации), в то время как уровни 1,25(OH)2D3 не были достоверно ассоциированы с баллом по шкале EDSS [34] (рис. 10).

Гипотония мышц ассоциирована с низким уровнем в сыворотке крови метаболитов витамина D. Так, уровни

25-гидроксивитамина D (r=0.24; p=0.0004) и 1,25-дигидроксивитамина D (r=0.14; p=0.045) коррелировали с показателями мышечной силы у мужчин. У женщин только 1,25-гидроксивитамина D был достоверно ассоциирован с силой мышц (r=0.22; p=0.03) [35].

Низкие уровни метаболитов витамина D3 в сыворотке крови ассоциированы с ревматоидным артритом. В группе пациенток (n=143) у 16 % отмечен глубочайший дефицит витамина D — уровни 25(OH)D менее 5 (!) нг/мл. В зимний сезон у 73 % пациенток отмечены уровни 25(OH)D менее 20 нг/мл. При этом самые низкие значения уровней метаболитов витамина D3 были обнаружены у пациенток с высокой активностью заболевания [3]. Установлено, что у пациентов с ревматоидным артритом (n=102) концентрации 25(OH)D3 и 1,25(OH)2D также были достоверно ниже (p=0.01...0.001). Показано, что более низкие уровни 25(OH)D3, 24,25(OH)2D3, 25,26(OH)2D в сыворотке крови соответствовали большей степени тяжести артрита [36].

Достаточно интересным и важным вопросом, имеющим отношение к клинической диагностике с использованием определений уровней метаболитов витамина D, является соотношение концентраций различных метаболитов. Например, при умеренной почечной недостаточности у детей было показано, что уровни 1,25(OH)2D и 25(OH)D3 были нормальными, а уровни 24,25(OH)2D3 были достоверно ниже у пациентов и, что интересно, не показывали сезонных изменений. Терапия с помощью 25(OH)D3 приводила к повышению уровней 25(OH)D3 и 24,25(OH)2D3, но не 1,25(OH)2D [37]. У пациенток с беременностью на фоне диабета (n=150) уровни 25(OH)D, и 1,25(OH)2D достоверно ниже, чем в контроле (p=0.001), в то время как значения уровней 24,25(OH)2D не отличаются между группами [38]. Эти и другие данные указывают на целесообразность определения уровней различных метаболитов витамина D в крови для получения более объективной клинической картины состояния пациента.

Закключение

У педиатров анализ «на витамин D» десятилетиями считался своего рода экзотическим лабораторным тестом, позволяющим проводить дифференциальный диагноз тяжелых форм наследственно обусловленных нарушений фосфорно-кальциевого обмена, и назначался редко. У терапевтов анализ «на витамин D» назначается несколько чаще в связи с осознанием насущности проблемы остеопороза. Эти очевидные проблемы здоровья указали на необходимость определения в сыворотке крови уровней хотя бы одного метаболита витамина D — 25(OH)D3, который действительно позволяет оценить обеспеченность организма витамином D у большинства пациентов. Например, с использованием определения уровней 25(OH)D3 в крови в исследовании «Родничок» было показано, что применение водорастворимой фармацевтической формы витамина D (препарат «Аквадетрим») позволяет эффективно компенсировать дефицит витамина D у детей до 3 лет [39].

Последующие клико-эпидемиологические исследования показали, что уровни 25(OH)D3 позволяют оценить обеспеченность витамином D, 1,25(OH)2D3 — состояние биосинтеза витамина D, а уровни 24,25(OH)2D3 — биодеградации витамина D. Однако даже эта трехчастная оценка является упрощением, так как известно более 50 метаболитов витамина D. При этом пренебрежение, например, существованием эпимеров витамина D (что характерно для повсеместно используемого иммуноферментного анализа на витамин D) приводит к *завышению обеспеченности организма витамином D на 8...16 %* в среднем. Поэтому даже уровни метаболита 25(OH)D3 в сыворотке крови, равные 30 нг/мл и считающиеся «нормальными», для ряда пациента могут соответствовать умеренному гиповитаминозу D. Кроме того, существенной и специфической биологической активностью обладают и считающиеся ранее неактивными метаболиты 1,24R,25(OH)3D3, 1,23S,25(OH)3D3, 25,26(OH)2D и др.

Взаимосвязь дефицита витамина D с широчайшим кругом хронических заболеваний — сердечно-сосудистой и цереброваскулярной патологией, артериальной гипертензией, диабетом, ожирением, опухольными, инфекционными заболеваниями и

др. — указывает на необходимость определения уровней различных метаболитов витамина D для расширения диагностических возможностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Громова О.А. Витамин D — смена парадигмы / О.А. Громова, И.Ю. Топшин. — М.: ГэоратМед, 2017.
2. Zerwekh J.E. Blood biomarkers of vitamin D status / J.E. Zerwekh // Am J Clin Nutr. — 2008. — № 87(4). — 1087S-1091S.
3. Muller M.J. Mass spectrometric profiling of vitamin D metabolites beyond 25-hydroxyvitamin D. Clin Chem / M.J. Muller, D.A. Volmer. — 2015. — № 61(8). — P. 1033-48 doi.
4. van Ballegoijen A.J. Vitamin D metabolites and bone mineral density / A.J. van Ballegoijen, C. Robinson-Cohen, R. Katz et. all. // The multi-ethnic study of atherosclerosis. Bone. — 2015. — № 78. — P. 186-93 doi.
5. Lewis R.D. A randomized trial of vitamin D(3) supplementation in children: dose-response effects on vitamin D metabolites and calcium absorption / R.D. Lewis, E.M. Laing, K.M. Hill Gallant et. all. // J Clin Endocrinol Metab. — 2013. — № 98(12). — P. 4816-25 doi.
6. Rambeck W.A. Synergistic effects of vitamin D metabolites / W.A. Rambeck, H. Weiser, W. Meier, H. Zucker et. all. // Ann Nutr Metab. — 1988. — № 32(2). — P. 108-111.
7. Heaney R.P. Calcium absorptive effects of vitamin D and its major metabolites / R.P. Heaney, M.J. Barger-Lux, M.S. Dowell, T.C. Chen, M.F. Holick // J Clin Endocrinol Metab. — 1997. — № 82(12). — P. 4111-4116.
8. Slominski A.T. The role of CYP11A1 in the production of vitamin D metabolites and their role in the regulation of epidermal functions / A.T. Slominski, T.K. Kim, W. Li et. all. // J Steroid Biochem Mol Biol. — 2014. — № 144 Pt A. — P. 28-39.
9. Sornes S. Calcitriol attenuates the basal and vasoactive intestinal peptide-stimulated cAMP production in prolactin-secreting rat pituitary (GH4C1) cells / S. Sornes, T. Bjoro, J.P. Berg, P.A. Torjesen, E. Haug // Mol Cell Endocrinol. — 1994. — № 101(1-2). — P. 183-188.
10. Harant H. Natural metabolites of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D(3) retain biologic activity mediated through the vitamin D receptor / H. Harant, D. Spinner, G.S. Reddy, I.J. Lindley // J Cell Biochem. — 2000. — № 78(1). — P. 112-120.
11. Teske K.A. Synthesis and evaluation of vitamin D receptor-mediated activities of cholesterol and vitamin D metabolites / K.A. Teske, J.W. Bogart, L.M. Sanchez // Eur J Med Chem. — 2016. — № 109. — P. 238-46 doi.
12. Mazzaferro S. Vitamin D metabolites and/or analogs: which D for which patient? / S. Mazzaferro, D. Goldsmith, T.E. Larsson, Z.A. Massy, M. Cozzolino // Curr Vasc Pharmacol. — 2014. — № 12(2). — P. 339-349.
13. van Driel M. Osteoblast differentiation and control by vitamin D and vitamin D metabolites / M. van Driel, H.A. Pols, J.P. van Leeuwen // Curr Pharm Des. — 2004. — № 10(21). — P. 2535-2555.
14. Need A.G. Vitamin D metabolites and calcium absorption in severe vitamin D deficiency / A.G. Need, P.D. O'Loughlin, H.A. Morris // J Bone Miner Res. — 2008. — № 23(11). — P. 1859-63 doi.
15. Crissey S.D. Serum concentrations of lipids, vitamin D metabolites, retinol, retinyl esters, tocopherols and selected carotenoids in twelve captive wild felid species at four zoos / S.D. Crissey, K.D. Ange, K.L. Jacobsen // J Nutr. — 2003. — № 133(1). — P. 160-166.
16. Schomig M. Management of disturbed calcium metabolism in uraemic patients: 1. Use of vitamin D metabolites / M. Schomig, E. Ritz // Nephrol Dial Transplant. — 2000. — № 15 Suppl 5. — P. 18-24.
17. Binkley N. Can vitamin D metabolite measurements facilitate a «treat-to-target» paradigm to guide vitamin D supplementation? / N. Binkley, J. Lappe, R.J. Singh // Osteoporos Int. — 2015. — № 26(5). — P. 1655-60 doi.
18. Singh R.J. 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 / R.J. Singh, R.L. Taylor, G.S. Reddy, S.K. Grebe // J. Clin Endocrinol Metab. — 2006. № 91(8). — P. 3055-61.
19. Farrell C.J. Determination of vitamin D and its metabolites / C.J. Farrell, M. Herrmann // Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. — 2013. — № 27(5). — P. 675-88 doi.
20. Barger-Lux M.J. Vitamin D and its major metabolites: serum levels after graded oral dosing in healthy men / M.J. Barger-Lux, R.P. Heaney, S. Dowell, T.C. Chen, M.F. Holick // Osteoporos Int. — 1998. — № 8(3). — P. 222-230.
21. Muller M.J. Chemotyping the distribution of vitamin D metabolites in human serum / M.J. Muller, C.S. Stokes, F. Lammert, D.A. Volmer // Sci Rep. — 2016. — № 6. — P. 21080 doi.
22. Carter G.D. 25-Hydroxyvitamin D assays: Potential interference from other circulating vitamin D metabolites / G.D. Carter, J.C. Jones, J. Shannon // J. Steroid Biochem Mol Biol. — 2015. — № S0960-0760(15)3016.
23. Khanna-Jain R. Vitamin D(3) metabolites induce osteogenic differentiation in human dental pulp and human dental follicle cells / R. Khanna-Jain, A. Vuorinen, G.K. Sandor, R. Suuronen, S. Miettinen // J Steroid Biochem Mol Biol. — 2010. — № 122(4). — P. 133-41 doi.
24. St-Arnaud R. CYP24A1-deficient mice as a tool to uncover a biological activity for vitamin D metabolites hydroxylated at position 24. J Steroid Biochem Mol Biol. — 2010. — № 121(1-2). — P. 254-6 doi.
25. Dean D.D. Interleukin-1alpha and beta in growth plate cartilage are regulated by vitamin D metabolites in vivo / D.D. Dean, Z. Schwartz, O.E. Muniz // J Bone Miner Res. — 1997. — № 12(10). — P. 1560-1569.
26. Somjen D. Developmental changes in responsiveness to vitamin D metabolites / D. Somjen, Y. Earon, S. Harel // J Steroid Biochem. — 1987. — № 27(4-6). — P. 807-813.
27. Gutierrez J.A. Vitamin D Metabolites Inhibit Hepatitis C Virus and Modulate Cellular Gene Expression / J.A. Gutierrez, K.A. Jones, R. Flores // J Virol Antivir Res. — 2014. — № 3(3) Doi. — 104172/2324-104178.
28. Yip K.H. Mechanisms of vitamin D(3) metabolite repression of IgE-dependent mast cell activation / K.H. Yip, N. Kolesnikoff, C. Yu // J Allergy Clin Immunol. — 2014. — № 133(5):1356-64, 1364e. — P. 1-14.
29. Gibson C.C. Dietary Vitamin D and Its Metabolites Non-Genomically Stabilize the Endothelium / C.C. Gibson, C.T. Davis, W. Zhu, J.A. Bowman-Kirgin, A.E. Walker, Z. Tai, K.R. Thomas, A.J. Donato, L.A. Lesniewski, D.Y. Li // PLoS One. — 2015. — № 10(10):e0140370 doi.
30. Thomas M.G. Vitamin D and its metabolites inhibit cell proliferation in human rectal mucosa and a colon cancer cell line / M.G. Thomas, S. Tebbutt, R.C. Williamson // Gut. — 1992. — № 33(12). — P. 1660-1663.
31. Fang F. Prediagnostic plasma vitamin D metabolites and mortality among patients with prostate cancer / F. Fang, J.L. Kasperzyk, I. Shui // PLoS One. — 2011. — № 6(4). — P. e18625.
32. Ernst J.B. Independent association of circulating vitamin D metabolites with anemia risk in patients scheduled for cardiac surgery / J.B. Ernst, T. Becker, J. Kuhn, J.F. Gummert, A. Zittermann // PLoS One. — 2015. — № 10(4). — P. e0124751 doi.
33. Bea J.W. Concentrations of the vitamin D metabolite 1,25(OH)2D and odds of metabolic syndrome and its components / J.W. Bea, P.W. Jurutka, E.A. Hibler // Metabolism. — 2015. — № 64(3). — P. 447-59 doi.
34. Smolders J. Association of vitamin D metabolite levels with relapse rate and disability in multiple sclerosis / J. Smolders, P. Menheere, A. Kessels, J. Damoiseaux, R. Hupperts // Mult Scler. — 2008. — № 14(9). — P. 1220-4 doi.
35. Bischoff H.A. Relationship between muscle strength and vitamin D metabolites: are there therapeutic possibilities in the elderly? / H.A. Bischoff, H.B. Stahelin, A. Tyndall, R. Theiler // Z Rheumatol. — 2000. — № 59 Suppl 1. — P. 39-41.
36. Als O.S. Serum concentration of vitamin D metabolites in rheumatoid arthritis / O.S. Als, B. Riis, C. Christiansen // Clin Rheumatol. — 1987. — № 6(2). — P. 238-243.

УДК 577.161.22

Н.В. РЫЛОВА¹, С.В. МАЛЬЦЕВ¹, А.В. ЖОЛИНСКИЙ²¹Казанский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Казань²Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации ФМБА, г. Москва

Роль витамина D в регуляции иммунной системы

Контактная информация:

Рылова Наталья Викторовна — доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета МЗ РФ, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д.49, тел. (843) 237-30-37, e-mail: rilovanv@mail.ru

Многочисленные публикации указывают на ряд положительных эффектов витамина D для людей всех возрастов. До недавнего времени дефицит витамина D был связан главным образом с риском развития рахита. Последние годы в изучении роли витамина D в профилактике и течении целого ряда широко распространенных заболеваний современного человека получены исключительно важные данные. Рассматриваются особенности его метаболизма и функции, влияние на иммунную систему. Имеющиеся на сегодняшний день данные показывают, что витамин D ингибирует адаптивный иммунитет, но способствует врожденному. Он подавляет пролиферацию клеток, при этом стимулирует клеточную дифференциацию. Однако механизмы действия витамина D на иммунную систему и его терапевтический потенциал при патологии требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: витамин D и его функции, рецепторы витамина D, иммунитет.**N.V. RULOVA¹, S.V. MALTSEV¹, A.V. ZHOLINSKIY²**¹Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan²Federal Scientific and Clinical Center for Sports Medicine and Rehabilitation of Federal Medical and Biological Agency, Moscow

Role of vitamin D in regulation of the immune system

ПРИМЕНЕНИЕ ВИТАМИНА D В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ