

СЕЗОННИ ВАРИАЦИИ В НИВОТО НА 25-ХИДРОКСИ ВИТАМИН Д ПРИ БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТИ С БЪБРЕЧНА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ

Ж. Филипов¹, Б. Златков¹, Е. Паскалев¹, Н. Хубанов² и Д. Свинаров³

¹Клиника по нефрология и трансплантация, УМБАЛ „Александровска“ – София

²Отделение за спешен прием, УМБАЛ „Александровска“ – София

³Лаборатория по лекарствен и терапевтичен мониторинг, УМБАЛ „Александровска“ – София

SEASONAL VARIATIONS OF 25-HYDROXYVITAMIN D IN BULGARIAN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS

J. Filipov¹, B. Zlatkov¹, E. Paskalev¹, N. Houbanov² and D. Svinarov³

¹Department of Nephrology and Transplantation, University Hospital "Alexandrovska" – Sofia

²Emergency Unit, University Hospital "Alexandrovska" – Sofia

³Laboratory of Therapeutic Drug Management & Clinical Pharmacology, University Hospital "Alexandrovska" – Sofia

Резюме:

90% от 25-хидроксивитамин Д (25ВД) в тялото се синтезира под въздействието на слънчевата светлина, което обуславя силно изразена сезонна вариабилност в образуването му. ВД недостатъчност обаче се среща и в т.нар. слънчеви региони на света поради редица фактори – културни особености, стил на обличане и др. Целта на нашето проучване бе да се изследват сезонните промени на 25ВД при пациенти с бъбречна трансплантация (БТ). 25ВД беше изследван в два периода – май 2012-ноември 2012 и януари 2013-април 2013 г. Селектирани бяха пациенти с давност на БТ над 6 месеца и стабилна функция. Болни с парциална паратиреоидектомия, съвместен прием на калциневринови инхибитори и mTOR инхибитори, както и с напреднала чернодробна болест, ВД суплементация не бяха включени в проучването. Болните с промени в бъбречната функция, имunosупресивната и ВД терапия не бяха включени. Бяха използвани следните статистически инструменти – дескриптивен анализ, Т-тест за чифтни променливи, при приета значимост $p < 0.05$ (програма SPSS 11.5). Измерването на нивото на 25Д се осъществяваше по LC-MS/MS валидизиран метод. Бяха селектирани 232 пациенти – 153 мъже, 79 жени. Средното ниво на 25ВД за периода май 2010-ноември 2012 г. беше 61.06 ± 22.31 nmol/L, за периода януари 2013-април 2013 г. – 39.19 ± 18.89 , $p < 0.001$. Статистически значимите фактори, влияещи на сезонния спад на 25ВД бяха сезонност (тестване в месеците юли, август, септември, март, април), мъжки пол и индекс на телесна маса (ИТМ). Налице е изразена сезонност в нивото на 25ВД при пациенти с БТ. Промените в 25ВД при тези болни се определят не само от сезонния фактор, но и от допълнителни фактори (пол и ИТМ).

Ключови думи:

сезонност, 25-хидроксивитамин Д, бъбречна трансплантация

Адрес за кореспонденция:

Д-р Ж. Филипов, Клиника по нефрология и трансплантация,
УМБАЛ „Александровска“, ул. „Св. Г. Софийски“ № 1, 1431 София

Summary:

Almost 90% of total body vitamin D (VD) is synthesized in the skin after exposure to direct sunlight. This explains the marked seasonal variations of VD. VD insufficiency however is frequently detected in the so called “sunny” regions of the world due to different factors – style of clothing, cultural characteristics, etc. The aim of our study was to assess the seasonal changes in 25-hydroxyvitamin D (25VD) in kidney transplant recipients, followed-up in our transplant center. The patients were tested for 25VD during two intervals May – November 2012 and January – April 2013. Patients within 6 months of transplantation, performed parathyroidectomy, unstable kidney function, concomitant intake of calcineurin inhibitors (CNI) and mTOR inhibitors, advanced liver disease and VD supple-

<p>Key words:</p> <p>Address for correspondence:</p>	<p>mentation were excluded from the study. Statistical analysis included descriptive statistics, univariate and multivariate loglinear regression, paired samples T-test (SPSS 11.5, adopted level of significance $p < 0.05$). Determination of total 25 VD was performed by a validated LC-MS/MS method. A total of 232 patients were selected according to the above-mentioned criteria. Statistically significant difference in mean 25VD was detected for May-November 2012 and January-April 2013 (61.06 ± 22.31 nmol/L vs. 39.19 ± 18.89 nmol/L, respectively, $p < 0.001$). Seasonal drop of 25VD was influenced by VD testing in July, August, September, March, April, as well as male gender and body mass index. A marked seasonal variation in 25VD was detected in our cohort of patients. The changes were linked not only to seasonal factors, but also male gender and body mass index.</p> <p>seasonal variations, 25-hydroxyvitamin D, kidney transplantation</p> <p><i>J. Filipov, M. D., Clinic of Nephrology and Haemodialysis, University Hospital "Aleksandrovska", 1, Sv. G. Sofijski St., Bg – 1431 Sofia</i></p>
--	---

Увод

Витамин Д (ВД) и неговите метаболити представляват хормони и хормонни прекурсори, които се синтезират ендогенно – в кожата, или се приемат от околната среда. Под влияние на ултравиолетовите лъчи от слънцето 7-дехидроксихолестерол (известен още като провитамин Д) се трансформира в дермиса до превитамин Д, който под влияние на телесната температура изомеризира до витамин Д₃ (холекалциферол). Освен синтез в кожата, витамин Д се набавя и с храненето, като хранителният прием отговаря само за около 10% от общото количество ВД в организма [31]. Екзогенният внос на витамин Д се осъществява основно чрез ергокалциферол (витамин Д₂) и холекалциферол (витамин Д₃). Метаболитите витамин Д₂ и витамин Д₃ са с еквивалентна биологична активност и ефективност [44]. Кожният синтез на ВД зависи от броя фотони в спектъра на ултравиолетовите лъчи тип В, достигащи повърхността на земята в зенита на слънцето. С оглед на доминиращия му процент за определяне на ВД статуса е обяснима и сезонната вариация в нивото на 25-хидрокси витамин Д (25ВД) [3]. Редица несезонни фактори повлияват кожния синтез на ВД – расови особености (меланиново съдържание на кожата), възраст, замърсеност на въздуха в градовете, физическа активност на открито, културни особености [1, 2, 5-10]. Тези фактори обясняват наличието на ВД недостатъчност в т.нар. слънчеви региони на планетата.

При пациентите с органна трансплантация ВД статусът е повлиян на редица нива, като от особено значение е засягането синтеза на ВД в кожата. С оглед на високата честота на кожни неоплазии се избягва излагането на директна слънчева светлина и се използват слънцезащитни средства с висок слънцезащитен фактор

(SPF) [11]. Доказано е, че средства със SPF 8 намаляват продукцията на ВД в кожата с 95%, докато при SPF 15 намалението е с 99% [12, 13]. Цел на нашето проучване беше да се демонстрират сезонните промени във ВД статуса при пациенти с бъбречна трансплантация (БТ), проследявани в диспансера по БТ към УМБАЛ „Александровска“, и да се установят факторите, влияещи на промените в нивото на ВД. Маркер за ВД статуса бе избран общият 25ВД (25ВД₂ + 25ВД₃) според препоръките на KDIGO [14].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Подбор на пациентите

Пациентите бяха тествани за ниво на 25ВД по време на техните редовни прегледи към диспансера по бъбречни трансплантации (ДБТ) в периода май-ноември 2012 г. и януари-април 2013 г. Селектирани бяха трансплантираните с давност на БТ над 6 месеца, стабилна бъбречна функция, без оперативни интервенции на парацитовидните жлези в миналото. Изключени бяха болните със съвместен прием на калциневринови инхибитори и mTOR инхибитори, напреднало чернодробно заболяване (над клас А по Child-Pugh), както и пациенти с ВД суплементация и екстремни стойности за ПТХ, ИТМ, 25ВД. При второто тестване за 25ВД болните бяха допълнително селектирани, като не бяха включени тези с промяна в бъбречната функция, имunosупресивната терапия и въведена ВД суплементация.

Изследване за 25ВД

Определянето на 25ВД се извърши с валидиран LC-MS/MS метод след екстракция с хексан, използване на d325D₃ за вътрешен стандарт, C18 аналитична колона, положителна електроспрей-йонизация и проследяване на йонната реакция

при следните m/z преходи: 401 \rightarrow 383 за 25D₃, 413 \rightarrow 395 за 25D₂ и 404 \rightarrow 386 за d325D₃. Методът беше валидиран съгласно критериите на FDA и DEQAS сертифициран, с документиран селективност и ефект на матрицата, точност и възпроизводимост 7.5%; екстрационен добив 57-73%; линейна област 3.0-300.0 pmol/L, $R^2 > 0.99$, стабилност при замразяване и размразяване за три цикъла от 24 ч, постпрепаративна стабилност 96 часа на 10° C, краткосрочна стабилност 24 часа на тъмно и 2 ч на светло; стабилност в разтвор и в плазма 5 дни на температура в диапазона 4-8° C, и 99 дни при температура -20° C. ВД достатъчност е дефинирана като серумно ниво на ВД над 80 pmol/L, стойности на 25ВД между 50 и 79 pmol/L се дефинираха като лека недостатъчност. За тежка недостатъчност се прие серумен 25ВД между 25 и 49 pmol/L, а ВД дефицит – серумен 25ВД под 25 pmol/L.

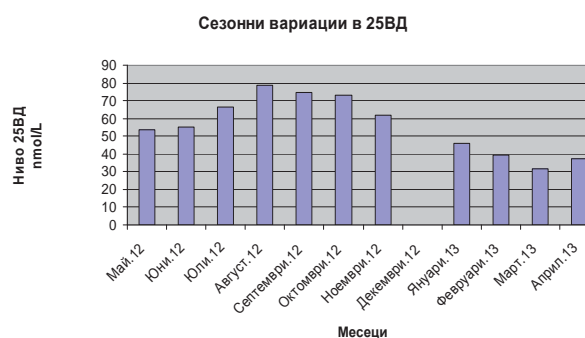
Статистически анализ

Използвани са дескриптивен анализ, еднофакторен и многофакторен логлинеен регресионен анализ, както и Т-тест за сравняване на двойки от величини при сравняване стойностите на 25ВД за двата периода. Използва се статистическият пакет SPSS 11.5, прието ниво на значимост $p < 0.05$. За да се избегне получаването на подвеждащи резултати, данните бяха проверени за екстремни стойности (англ. outliers) чрез метода Z-score. Като данни, които рязко се отличават от останалите, бяха дефинирани такива със стойност на Z-score над +3.29 и под -3.29. С оглед наличието на хетероскедастичност бе използван естествен логаритъм от количествените данни за ИТМ, ПТХ, АФ и 25ВД.

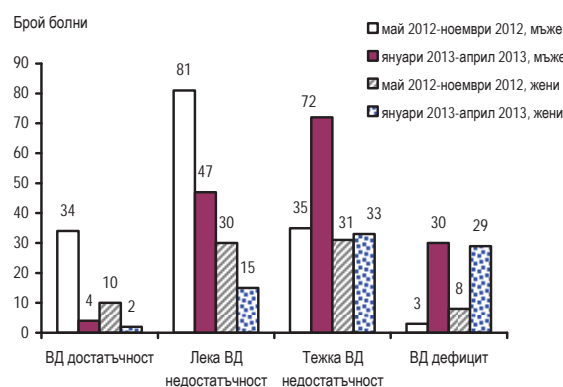
РЕЗУЛТАТИ

Бяха селектирани 232 пациенти, отговарящи на описаните по-горе условия. От тях преобладаваха тези от мъжки пол ($n = 153$). Най-високи стойности на 25ВД се установиха за месеците август, септември, октомври, като най-висока стойност е за август (78.83 pmol/L). Най-ниските стойности за 25ВД се отчитат в месеците февруари, март, април, като най-ниско ниво се установява през март – 32.22 pmol/L. Месечните промени в нивото на 25ВД са показани на фиг. 1.

Установи се влошаване на ВД статуса при пациентите през януари април 2013 спрямо май-ноември 2012 г. Налице е увеличаване дела на пациентите с ВД дефицит и силно намаляване на тези с ВД достатъчност. Промяната е поизразена при болните от мъжки пол (фиг. 2).



Фиг. 1. Месечни вариации на 25ВД при пациенти с БТ, $n = 232$



Фиг. 2. Промени във ВД статуса при мъже и жени

Средните стойности на 25ВД за периода май-ноември 2012 г. бяха 61.06 ± 22.31 pmol/L, а за януари-април 2013 г. – 39.19 ± 18.89 pmol/L, което беше статистически значима разлика в двата периода ($p < 0.001$).

За оценка на факторите, влияещи на сезонния спад на ВД, селектирахме само болните с намаляване на 25ВД в двата периода ($n = 206$). Проведе се едно- и многофакторен регресионен анализ, оценяващ факторите, влияещи на разликата в 25ВД в двата периода, резултатите от които са представени в табл. 1.

Таблица 1. Фактори, повлияващи сезонния спад на 25ВД, $n = 206$

	β	SE	p
Свободна константа α	63.877	17.271	< 0.001
Мъжки пол	5.789	1.994	0.004
Юли	8.763	3.296	0.003
Август	22.187	3.012	< 0.001
Септември	20.589	3.161	< 0.001
Март	8.530	2.291	< 0.001
Април	8.441	3.535	0.018
ln ИТМ	-37.194	12.497	0.003

SE – стандартна грешка, ln ИТМ – Индекс на телесна маса (естествен логаритъм)

Водещо влияние имат сезонните фактори (тестване за 25ВД през юли, август, септември, март, април). При мъже се отчита значимо поизразено намаление на 25ВД. Отчита се още обратна връзка между промяната в 25ВД и ИТМ.

ОБСЪЖДАНЕ

Дефицитът на ВД се свързва с увеличена загуба на костно вещество, но също така и с увеличена честота на неоплазии, повишена активност на ренин-ангиотензин-алдостероновата система и други т.нар. плейотропни ефекти. При пациентите с БТ и лош ВД статус е налице лоша преживяемост на графта и пациента [13].

Нашето проучване показва висока честота на субоптимални нива на ВД в периода май-ноември 2012 г., който включва концентрационния пик на ВД. Само 44 пациенти бяха с ВД достатъчност (18.97%). През периода на 25ВД надир ВД статуса на селектираните болни се влошава драстично – процентът на ВД достатъчност спада до 2.56%, а като цяло преобладават тежките отклонения във ВД статуса – тежка недостатъчност и ВД дефицит. С оглед на препоръчаното от някои автори минимално ниво на 25ВД 75 nmol/L за профилактиране загубата на костно вещество и неопластични заболявания [15, 16, 17, 18, 19] огромен процент от пациентите с БТ целогодишно са с висок риск от развитие на тези усложнения.

В допълнение трябва да се отбележи, че нашето проучване установява статистически значимо влияние на мъжки пол и нисък ИТМ. върху сезонния спад на 25ВД, заедно със сезонността. Високият ИТМ се асоциира с по-лош ВД статус поради секвестрация на 25ВД в мастната тъкан [20, 21]. При жени отново се отчитат по-ниски нива на 25ВД, вероятно поради по-високия процент на мастна тъкан в тялото, а също така при бременност и кърмене [22, 23, 24]. Нашите резултати показват по-изразено сезонно намаление на 25ВД при групи с по-добър ВД статус (мъже и ниска ИТМ). Вероятно това се дължи на значимо по-високата изходна стойност на 25ВД при тези пациенти в периода май-ноември 2012. Резултатите ни показват нуждата от адекватна ВД суплементация при пациентите с висок риск за ВД недостатъчност, включително и в подгрупи болни с по-добър ВД статус. До тези изводи достигат и други автори, но за други рискови болни [25].

В заключение, нашето проучване доказва целогодишно висок процент на субоптимални ВД нива, с изразено влошаване на ВД статуса при

пациенти с БТ в зимно-пролетните месеци. Влошаването е по-изразено при групи с по-висок 25ВД (мъже, нисък ИТМ), което налага адекватна ВД суплементация при болните с БТ, особено в зимните и пролетни месеци.

Библиография

1. Борисова, А.-М., А. Шинков, Й. Влахов, Л. Даковска, Т. Тодоров, Д. Свиначков и Л. Касабова. Сравнителен анализ на разпространението на дефицит и недостатъчност на витамин Д в различен тип населени места в България. – *Ендокринология*, **17**, 2012, № 3, 143-155.
2. Борисова, А.-М., А. Шинков, Й. Влахов, Л. Даковска, Т. Тодоров, Д. Свиначков и Л. Касабова. Честота на дефицит, недостатъчност и достатъчност в българската популация > 20-80 години. – *Ендокринология*, **17**, 2012, № 3, 122-134.
3. Holick, M. F. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. – *Mayo Clin. Proc.*, **81**, 2006, № 3, 353-373.
4. Holick, M. F. et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. – *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **93**, 2007, № 3, 677-681.
5. Clemens, T. L. et al. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. – *Lancet*, 1982, № 8263, 74-76.
6. Holick, M. F., L. Y. Matsuoka et J. Wortsman. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. – *Lancet*, **334**, 1989, № 8671, 1104-1105.
7. MacLaughlin, J. et M. F. Holick. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. – *J. Clin. Invest.*, **76**, 1985, 1536-1538.
8. Nesby-O'Dell, S. et al. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. – *Am. J. Clin. Nutr.*, **76**, 2002, № 1, 187-192.
9. Taha, S. A., S. M. Dost et S. H. Sedrani. 25-Hydroxyvitamin D and total calcium: extraordinarily low plasma concentrations in Saudi mothers and their neonates. – *Pediatr. Res.*, **18**, 1984, 739-741.
10. Sullivan, S. S. et al. Adolescent girls in Maine at risk for vitamin D insufficiency. – *J. Am. Diet. Assoc.*, **105**, 2005, 971-974.
11. Quering, K. et al. 25-hydroxyvitamin D deficiency in renal transplant recipients. – *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **91**, 2006, № 2, 526-529.
12. Holick, M. F. Vitamin D deficiency. – *N. Engl. J. Med.*, **357**, 2007, № 3, 266-181.
13. Falkiewicz, K. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D deficiency predicts poorer outcome after renal transplantation. – *Transplant. Proc.*, **41**, 2009, 3002-3005.
14. Moore, S. M. et al. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). – *Kidney Int.*, **76**, 2009, Suppl. 113, S1-130.
15. Platz, E. A. et al. Plasma 1,25-dihydroxy- and 25-hydroxyvitamin D and adenomatous polyps of the distal colorectum. – *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **9**, 2000, № 10, 1059-1065.

16. Gra u, M. V. et al. Vitamin D, calcium supplementation, and colorectal adenomas: results of a randomized trial. – J. Natl. Cancer Inst., 95, 2003, № 23, 1765-1771.
17. H a r r i s, S. S. et al. Vitamin D insufficiency and hyperparathyroidism in a low income, multiracial, elderly population. – J. Clin. Endocrinol. Metab., 85, 2000, № 11, 4125-4130.
18. M a l a b a n a n, A., I. E. Veronikis et M. F. Holick. Redefining vitamin D insufficiency. – Lancet, 351, 1998, № 9105, 805-806.
19. M i l l e r, P. D. et E. Shane. Management of Transplantation Renal Bone Disease: Interplay of Bone Mineral Density and Decisions Regarding Bisphosphonate Use. – In: Medical Management of Kidney Transplantation. M. R. Weir. (Ed.). Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, 2005, 359-373.
20. S n i j d e r, M. B. et al. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. – J. Clin. Endocrinol. Metab., 90, 2005, 4119-4123.
21. W o r t s m a n, J. et al. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity [published correction appears]. – Am. J. Clin. Nutr., 72, 2000, 690-693; Am. J. Clin. Nutr., 77, 2003, 1342.
22. V a n D a m, R. M. et al. Potentially modifiable determinants of vitamin D status in an older population in the Netherlands: the Hoorn Study. – Am. J. Clin. Nutr., 85, 2007, 755-761.
23. L o o k e r, A. C. et al. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. – Bone, 30, 2002, 771-777.
24. V a n d e r M e e r, I. M. et al. High prevalence of vitamin D deficiency in pregnant non-Western women in The Hague, Netherlands. – Am. J. Clin. Nutr., 84, 2006, 350-353.
25. T h e E n d o c r i n e S o c i e t y. Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine society practice guideline. – J. Clin. Endocrinol. Metab., 96, 2011, № 7, 1911-1930.

Постъпила за печат на 17 март 2014 г.



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
ЦЕНТРАЛНА МЕДИЦИНСКА БИБЛИОТЕКА

ул. "Св. Г. Софийски" № 1, 1431 София

(02) 952-23-93, (02) 952-16-45, (02) 952-05-09, (02) 952-59-20, <http://www.mu-sofia.bg>

АБОНАМЕНТЕН СПИСЪК – 2014

Заглавие	Периодичност	Годишен абонамент в лв.
Acta Medica Bulgarica (на англ. език)	2	20
Акупунктура	2	14
Български медицински журнал	3	30
Детски и инфекциозни болести	2	16
Ендокринни заболявания	3	21
Медицински мениджмънт и здравна политика	4	28
Медицински преглед	6	48
Неврология и психиатрия	2	14
Обща медицина	4	32
Сестринско дело	3	24
Съвременна стоматология	3	30
Сърдечно-съдови заболявания	3	30