

## ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА/НЕДОСТАТОЧНОСТИ ВИТАМИНА D НА ЦИРКАДИАНЫЙ РИТМ КАЛЬЦИЯ КРОВИ



© Е.В. Ковалева\*, А.Р. Айнетдинова, А.К. Еремкина, Н.Г. Мокрышева

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

**Обоснование.** Мягкая гипокальциемия является довольно частой лабораторной находкой, которая не сопровождается развитием яркой клинической симптоматики. К наиболее распространенным причинам гипокальциемии относятся недостаточное потребление кальцийсодержащих продуктов и дефицит витамина D. Учитывая широкую распространенность недостаточного уровня витамина D в общей популяции, актуальным представляется определение суточной вариабельности кальциемии до и после компенсации этого состояния.

**Цель.** Оценить суточный профиль кальциемии и кальциурии в зависимости от уровня 25(OH) витамина D сыворотки крови.

**Методы.** Проведено интервенционное, проспективное, сравнительное исследование с участием 10 здоровых добровольцев. Продолжительность исследования составила 8 месяцев и включала в себя 2 последовательные госпитализации для проведения суточного профиля кальциемии и кальциурии. Анализ данных выполнен в августе 2020 г. Количественные признаки представлены медианой (Me) и квартилями (Q1; Q3), а также средними и минимальными, максимальными значениями M (min; max); описательная статистика качественных признаков - абсолютными и относительными частотами.

**Результаты.** При проведении сравнительного анализа  $Ca_{\text{общ}}$  и  $Ca_{\text{скорр}}$  сыворотки крови и суточной кальциурии различий до и после достижения целевых уровней 25(OH)D выявлено не было. Тем не менее, было отмечено увеличение количества референсных показателей кальциемии по мере достижения оптимальных уровней 25(OH)D ( $>30$  нг/мл) – от 90,8% до 100% для  $Ca_{\text{общ}}$  и от 94,2% до 97,5% для  $Ca_{\text{скорр}}$ . Для пациентов с низкими уровнями витамина D отмечены эпизоды гипокальциемии: в 3,33% случаев по  $Ca_{\text{общ}}$  и в 5,8% по  $Ca_{\text{скорр}}$ . По мере достижения компенсации частота выявляемых отклонений от нормальных значений нивелируется для  $Ca_{\text{общ}}$  (0) и уменьшается для  $Ca_{\text{скорр}}$  (2,5% гипокальциемий). Анализ разброса показателей по  $Ca_{\text{общ}}$  и  $Ca_{\text{скорр}}$  выявил снижение вариабельности профиля кальциемии в течение суток на фоне компенсации дефицита/недостаточности витамина D. В настоящем исследовании отмечена циркадианность суточного профиля кальциемии с наличием максимальных (09:40–17:40) и минимальных (23:40–07:40) значений в течение суток.

**Заключение.** Установлено улучшение суточного профиля кальциемии на фоне компенсации имеющихся дефицита/недостаточности витамина D с увеличением числа референсных показателей кальция, снижением вариабельности показателей в течение суток и уменьшением частоты гипокальциемий.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** гипокальциемия; витамин D; циркадианный ритм; суточный профиль кальция.

## INFLUENCE OF DEFICIENCY OR INSUFFICIENCY OF VITAMIN D ON THE CIRCADIAN RHYTHM OF SERUM CALCIUM LEVEL

© Elena V. Kovaleva\*, Alina R. Ajnetdinova, Anna K. Eremkina, Natalia G. Mokrysheva

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

**BACKGROUND:** mild hypocalcemia is a common laboratory finding that is not accompanied by the clinical symptoms. The most common causes of hypocalcemia are inadequate calcium intake and vitamin D deficiency. Given the high prevalence of vitamin D deficiency (insufficiency), it seems relevant to determine the daily variability of serum calcium levels before and after its supplementation.

**AIMS:** to assess the effect of 25(OH) vitamin D level on the daily profile of serum calcium and 24-hour urinary calcium levels.

**MATERIALS AND METHODS:** the interventional, prospective, comparative study of 10 healthy volunteers (women/men - 9/1) was performed. We have analyzed the daily profiles of serum calcium and 24-hour urinary calcium levels. Summary duration of this study was 8 months and consisted two hospitalizations. Statistical analysis was done on August 2020. The descriptive statistics are represented by medians and the first and third quartiles in Me (Q1; Q3), average, maximum, and minimum values M (min; max) and by absolute and relative frequencies.

**RESULTS:** Me serum calcium levels ( $Ca_{\text{total}}$  and  $Ca_{\text{corr}}$ ) and 24-hour urinary calcium levels did not differ before and after vitamin D supplementation. However, the number of reference calcium values increased as 25 (OH) vitamin D level was reached more than 30 ng/ml from 90.8% to 100% for  $Ca_{\text{total}}$  and from 94.2% to 97.5% for  $Ca_{\text{corr}}$ . Episodes of hypocalcemia were registered in patients with low vitamin D levels: in 3.33% of cases according to  $Ca_{\text{total}}$  and 5.8% for  $Ca_{\text{corr}}$ . The frequency of hypocalcemia decreased for  $Ca_{\text{total}}$  (to 0%) and for  $Ca_{\text{corr}}$  (to 2.5%) after treatment with cholecalciferol. Analysis of  $Ca_{\text{total}}$  and  $Ca_{\text{corr}}$  deviations during the day showed a less variability of the calcium profile after treatment, This study also revealed circadian character of daily serum calcium profile with the presence of maximum (09:40–17:40) and minimum (23:40–07:40) values during the day.

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



**CONCLUSIONS:** Our study demonstrated the improvement of daily serum calcium profile after vitamin D supplementation. We confirmed the increased number of reference calcium values, decreased variability of serum calcium levels during the day and decreased frequency of hypocalcemia.

**KEYWORDS:** hypocalcemia; vitamin D; circadian rhythm; daily serum calcium profile.

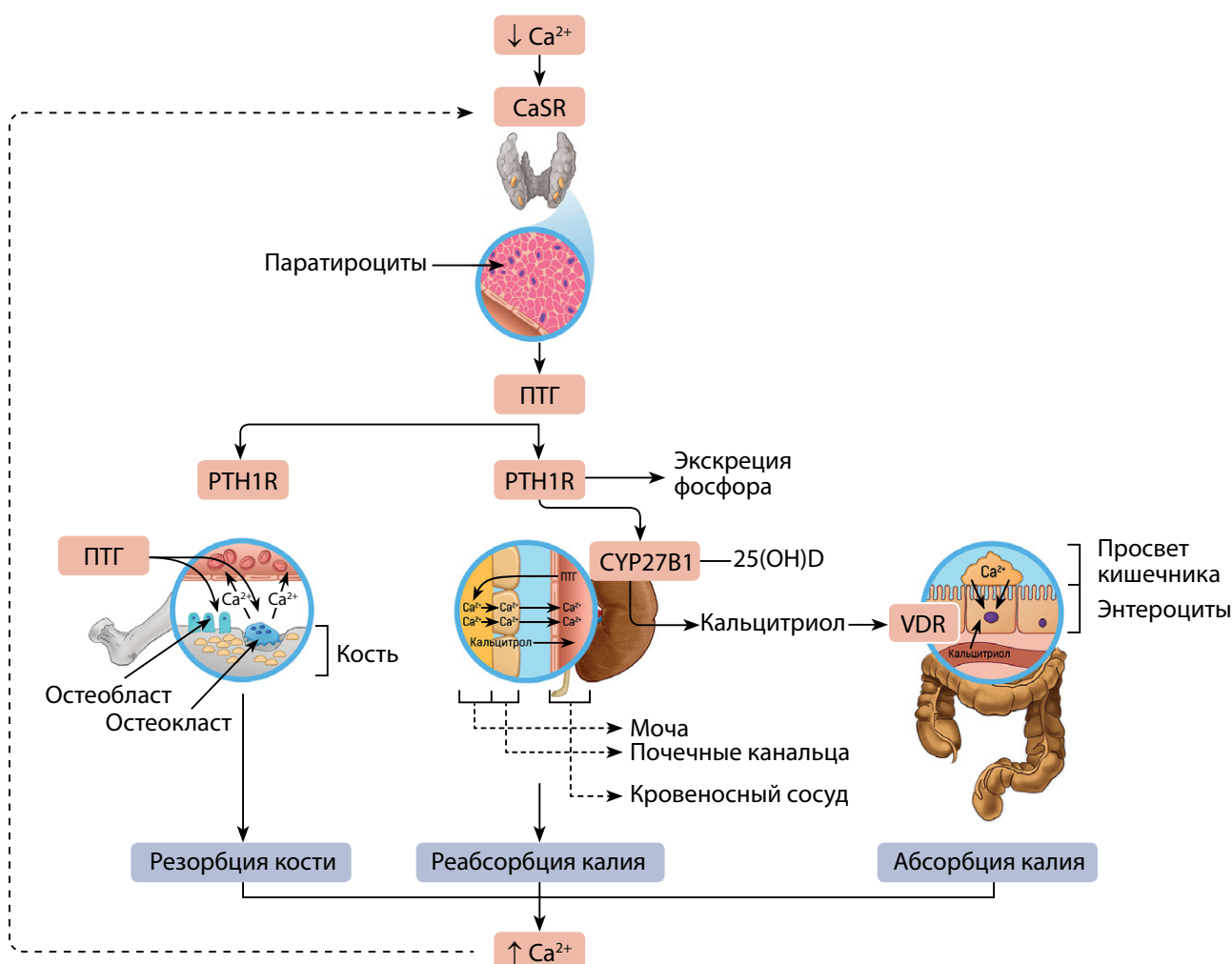
## ОБОСНОВАНИЕ

Кальций – один из важнейших микроэлементов, участвующих в жизнедеятельности человеческого организма. Кальций играет ключевую роль в регуляции проницаемости клеточных мембран, в построении скелета, а также в функционировании нервно-мышечной системы. Уровень кальция сыворотки крови должен поддерживаться в строгом узком диапазоне, иначе происходит активация компенсаторных механизмов. К ключевым гормонам, поддерживающими нормокальциемию, относятся паратиреоидный гормон (ПТГ), витамин D и кальцитонин (рис.1). Эффекты гормонов реализуются за счет связывания со специфическими рецепторами – трансмембранным рецептором PTH1R, кальций-чувствительным рецептором (CaSR) и витамин D чувствительным рецептором (VDR), расположенными в органах мишенях [1, 2].

В клинической практике чаще определяется уровень общего кальция, колебания которого в норме не превышают 3% и составляют около 2,1–2,6 ммоль/л (8,6–10,4 мг/дл). Некоторая вариабельность референсного диапазона может зависеть от диагностического набора, используемого в локальной лаборатории. Около половины кальция сыворотки крови находится в связанном с альбумином состоянии, только свободная ионизированная фракция кальция ( $\text{Ca}^{++}$ ) является биологически активной. Различные факторы могут изменять концентрацию общего кальция ( $\text{Ca}_{\text{общ}}$ ), наиболее важным является уровень сывороточного альбумина. Концентрация  $\text{Ca}_{\text{общ}}$  сыворотки крови должна быть скорректирована при уровне альбумина менее 40 г/л и более 45 г/л [3].

Уровень кальция крови непостоянен в течение суток и имеет периоды максимальных и минимальных значений, что связано с наличием циркадианности и двухфазности секреции ПТГ. Так, уровень кальция сыворотки

Рисунок 1. Гомеостаз кальция в организме человека



**Примечание.** CaSR – кальций-чувствительный рецептор (calcium-sensing receptor), CYP27B1 – фермент 1 $\alpha$ -гидроксилаза, PTH1R – рецептор к паратиреоидному гормону 1 типа (parathyroid hormone 1 receptor), VDR – рецептор к витамину D (vitamin D receptor).

крови достигает максимального значения к 20:00 и минимален в ночные часы (02:00–04:00) [4], что согласуется с фазами секреции ПТГ. Как правило, 1 фаза секреции отмечается после полудня и в ранние вечерние часы, когда уровень ПТГ крови повышается и снижается. Пик секреции ПТГ, более выраженный и продолжительный, наблюдается во 2 фазу – поздним вечером и ранним утром, достигая максимума в середине утра [5].

Мягкая гипокальциемия является распространенной лабораторной находкой, часто не имеющей клинических проявлений. Одной из распространенных причин гипокальциемии является наличие дефицита или недостаточности витамина D. Витамин D – жирорастворимый витамин, в основном, синтезируемый в коже под действием ультрафиолетового облучения, – так организм получает от 50 до 90% витамина D. Остальное его количество поступает с пищей. Несмотря на то, что для синтеза оптимального количества витамина D требуется всего 20 минут солнечного света в день (при условии попадания солнечных лучей на не менее 40% открытых участков кожи), недостаточная инсоляция одна из самых распространенных причин данного состояния [6]. К другим относятся, например, синдром мальабсорбции, а также хронические печеночная или почечная недостаточность. Дефицит витамина D приводит к снижению абсорбции кальция в желудочно-кишечном тракте, приводя к хронической гипокальциемии с риском развития вторичного гиперпаратиреоза, остеомалации и остеопороза [7].

Сывороточная концентрация 25(ОН)витамина D (25(ОН)D) является лучшим показателем статуса витамина D, поскольку отражает суммарное количество витамина D, производимого в коже и получаемого из пищевых продук-

тов и пищевых добавок, и имеет довольно продолжительный период полураспада в крови (порядка 14–21 дня) [8].

По данным многочисленных исследований, распространенность дефицита/недостаточности витамина D очень широка [9] – около 40% по данным исследования в США [10], 69% в Германии [11], 56% в странах Африки [12] и до 82% в Арабских эмиратах [13]. В Российской Федерации распространенность дефицита/недостаточности витамина D в различных регионах составляет от 74% [14] до 94% [15]. Кроме того, по результатам пилотных исследований в Российской Федерации также высока распространенность гипокальциемии и достигает 16,5% среди относительно здоровых лиц в возрасте младше 50 лет [16]. Такое большое количество пациентов с гипокальциемией, по мнению авторов, может быть ассоциировано с широкой распространенностью дефицита витамина D.

Таким образом, актуальным представляется изучение взаимосвязи между вариабельностью кальциевого обмена и обеспеченностью витамином D.

## ЦЕЛЬ

Оценить суточный профиль кальциемии и кальциурии в зависимости от уровня 25(ОН)D сыворотки крови.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Место и время проведения исследования

*Место проведения.* Исследование проведено на базе отделения патологии околощитовидных желез ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (рис.2).

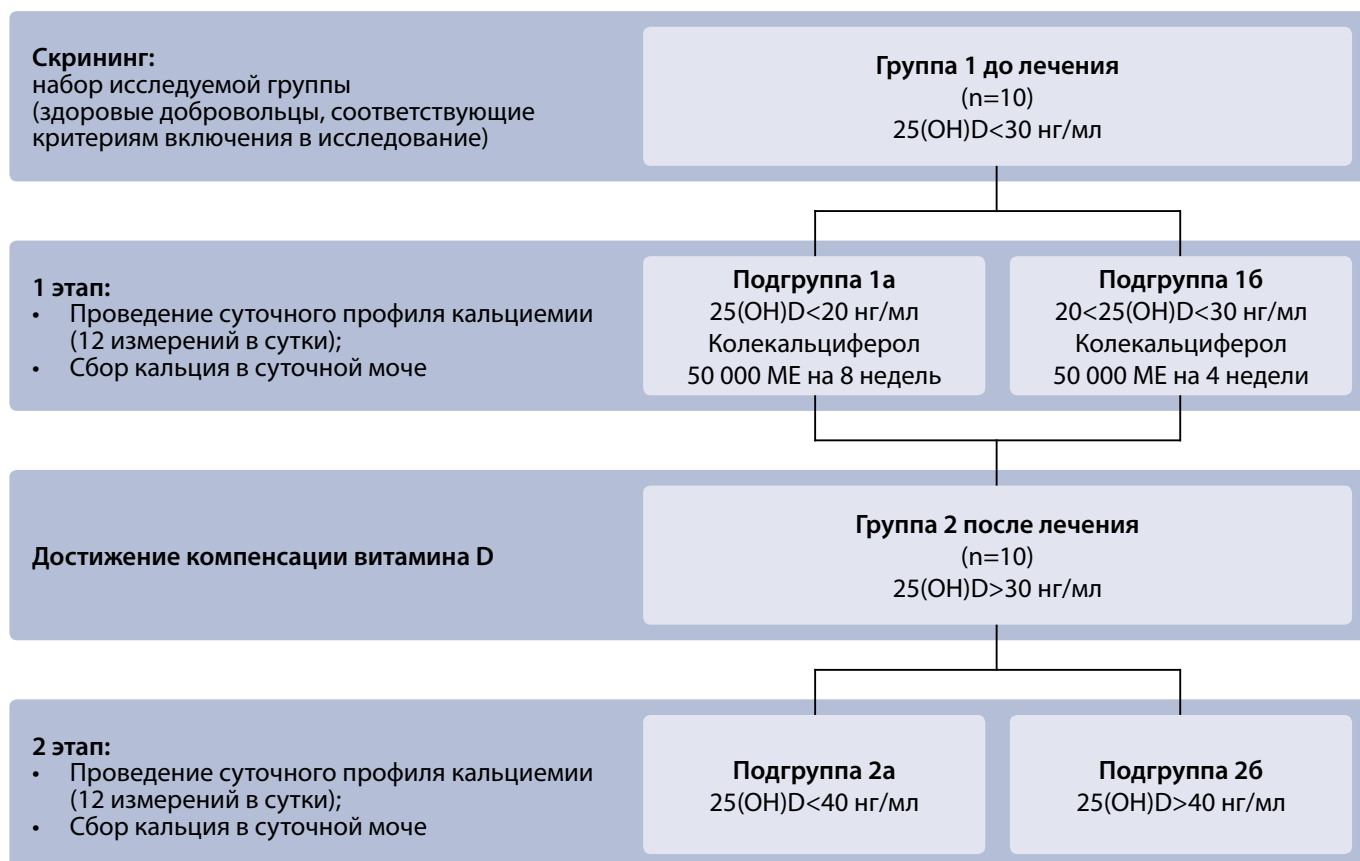


Рисунок 2. Схема настоящего исследования.

**Время исследования.** Период включения пациентов в исследование – с декабря 2019 года по июль 2020 года.

#### Исследуемые популяции (одна или несколько)

**Критерии включения:** уровень 25(OH)D <30 нг/мл; лица старше 18 лет до 60 лет включительно.

**Критерии исключения:**

- беременность и период лактации;
- прием препаратов, влияющих на фосфорно-кальциевый обмен и метаболизм витамина D (глюкокортикоиды, антиретровирусные препараты, противогрибковые препараты, холестирамин, орлистат, противозипелептические препараты, антидепрессанты (флуоксетин), статины (аторвастатин), диуретики (спиронолактон, гидрохлоротиазид), противомикробные средства (макролиды, тетрациклины, изониазид, рифампин, примакхин), антигипертензивные средства (блокаторы медленных кальциевых каналов), химиотерапия (циклофосфамид, тамоксифен, паклитаксел, ифосфамид, иринотекан, этопозид, цисплатин), иммуносупрессанты (циклоспорин А, такролимус, сиролимус), антагониста гистаминовых рецепторов; антирезорбтивных препаратов (бисфосфонатов, деносумаба), препаратов рекомбинантного паратиреоидного гормона (терипаратид);
- наличие гранулематозных заболеваний (саркоидоз, туберкулез, гистоплазмоз, бериллиоз);
- наличие ожирения (ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup>);
- наличие заболеваний или состояний, приведших к синдрому мальабсорбции;
- снижение СКФ менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>;
- иммобилизация, миеломная болезнь;
- аллергия на препараты витамина D.

#### Способ формирования выборки из изучаемой популяции (или нескольких выборок из нескольких изучаемых популяций)

Набор участников исследования проводился методом случайного отбора.

#### Дизайн исследования

Проведено одноцентровое, интервенционное, динамическое, проспективное, сравнительное исследование (рис. 2).

Продолжительность исследования составила 8 месяцев и включала в себя 2 последовательные госпитализации для проведения суточного профиля кальциемии и кальциурии. Каждый стационарный эпизод включал в себя 1 койко/день в течение которого выполнялось исследование суточного профиля кальциемии и кальциурии. Интервал между двумя последовательными госпитализациями составлял от 4 до 8 недель в зависимости от исходного уровня 25(OH)D.

#### Условия проведения

Каких-либо специфических факторов, способных повлиять на внешнюю обобщенность выводов исследования, не выявлено.

#### Описание медицинского вмешательства

Исследование 25(OH)D (референсный интервал (РИ) 30–100 нг/мл) выполнено на анализаторе Liaison XL

(DiaSorin, Италия) в ранние утренние часы (08–09:00). Измерение уровня Ca<sub>общ</sub> (РИ 2,1–2,55 ммоль/л) проводилось каждые 2 часа в течение суток, альбумина (РИ 34–48 г/л) – однократно в ранние утренние часы; исследование проводилось на биохимическом анализаторе ARCHITECT с8000 (Abbott, США). Образцы сыворотки крови были получены из периферического внутривенного доступа: в дневное время анализировались сразу после их забора, в ночное время – центрифугировались (3500 оборотов, 15 мин), хранились в холодильной камере при температуре от +2°C до +8°C и анализировались на следующее утро. Для исключения ложно заниженных и ложно завышенных показателей кальция крови производился перерасчет его концентрации с поправкой на уровень альбумина крови (Ca<sub>корр.</sub>) по формуле: общий кальций плазмы (ммоль/л) = измеренный уровень кальция плазмы (ммоль/л) + 0.02 x (40 – измеренный уровень альбумина плазмы (г/л)). В исследовании проводился сбор суточной мочи для определения экскреции кальция (Ca<sub>сут.</sub>, РИ 2,5–8 ммоль/сут).

Всем участникам исследования было выполнено двукратное исследование суточного профиля кальциемии и кальциурии с интервалом в 4 недели при исходно выявленной недостаточности витамина D и в 8 недель при его дефиците. Продолжительность приема насыщающей дозы колекальциферола определялась в соответствии с Клиническими рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов [17] – все пациенты получали колекальциферол по 50 000 МЕ еженедельно в течение 4 недель для коррекции недостаточности витамина D и в течение 8 недель для коррекции его дефицита соответственно.

Для исключения влияния режима питания на профиль кальциемии, все пациенты получали одинаковый стол (№15) с сопоставимым содержанием кальцийсодержащих продуктов. Дополнительные приемы пищи исключались.

#### Анализ в подгруппах

В исследовании были выделены 2 группы:

- 1 группа – 10 человек с недостаточностью/дефицитом витамина D;
- 2 группа – те же 10 человек после лечения колекальциферолом и достижения компенсации 25(OH)D (>30 нг/мл).

Внутри каждой группы выделено по 2 подгруппы: 1 группа включала подгруппу 1а (n=6) с дефицитом витамина D (25(OH)D<20 нг/мл) и подгруппу 1б (n=4) с недостаточностью витамина D (20<25(OH)D<30 нг/мл); 2 группа – подгруппы 2а (n=5) с уровнем 30<25(OH)D<40 нг/мл, и 2б (n=5) с уровнем 25(OH)D >40 нг/мл (рис.2).

#### Этическая экспертиза

Локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу №13 Заседания Комитета от 04.09.2019 г., постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе отделения патологии околощитовидных желез ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Пациенты подписывали информированное согласие на добровольное участие в исследовании.

### Статистический анализ

**Принципы расчета размера выборки:** расчёт размера выборки не требовался.

**Методы статистического анализа данных:** статистический анализ проводился в программных пакетах Statistica 13.0 (StatSoft, США) и SPSS (IBM, США). Описательная статистика количественных признаков представлена медианами и квантилями (в формате Me [Q1; Q3]), а также средними, минимальными и максимальными значениями M (min; max). Для сравнения двух независимых групп по количественным признакам использовали критерий Манна-Уитни (U-тест), для сравнения двух зависимых групп – критерий Вилкоксона. Частоты бинарных признаков сравнивались между собой с помощью критерия Хи-квадрат ( $\chi^2$ ) для независимых групп и с помощью критерия Мак-Немара для зависимых. ДИ для частот рассчитывались методом Клоппера–Пирсона. Для оценки варибельности профиля кальциемии в течение суток производился анализ разброса показателей по  $Ca_{общ.}$  и  $Ca_{скорр.}$  до и на фоне терапии колекальциферолом с использованием стандартного отклонения (SD) и коэффициента вариации.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

#### Объекты (участники) исследования

В исследуемую группу вошли 10 здоровых добровольцев (женщины/мужчины – 9/1). Средний возраст составил 39,8 лет (min 26; max 61).

На момент включения Me уровня 25(OH)D в общей группе составила 19,2 нг/мл [16,4; 23,6]: у лиц с дефицитом витамина D – 16,9 нг/мл [15,88; 18,34]; с недостаточностью – 25,25 нг/мл [22,9; 27,38].

На фоне недостаточности/дефицита витамина D уровень  $Ca_{общ.}$  в пределах референсного интервала отмечен в 90,8% случаев, 95% ДИ [84,2%; 95,3%]. Мягкая, гипокальциемия обнаружена в 3,33% [0,9%; 8,3%], М минимальных значений  $Ca_{общ.}$  составило 2,05 ммоль/л (min 2,02; max 2,09). Гиперкальциемия по уровню  $Ca_{общ.}$  определялась в 5,8% случаев [2,4%; 11,7%], М максимальных значений – 2,59 ммоль/л (min 2,56; max 2,64). При расчете  $Ca_{скорр.}$  – показатели в пределах референсного интервала зафиксированы в 94,2% случаев, 95% ДИ [88,4%; 97,6%], гипокальциемия – в 5,8% [2,4%; 11,7%] (7). При этом гипокальциемия не регистрировалась.

Me суточной кальциурии на момент включения в исследование составила 2,45 ммоль/сут [1,54; 3,32], что соответствует снижению экскреции микроэлемента: у лиц с дефицитом витамина D – 2,018 ммоль/сут [1,359; 2,95]. У лиц с недостаточностью витамина D медиана возрастала до 3,6 ммоль/сут [2,4; 5,325] (табл. 1).

После применения насыщающих доз колекальциферола  $Ca_{общ.}$  в пределах референсного интервала отмечен в 100% случаев, 95% ДИ [97%; 100%]; при пересчете на  $Ca_{скорр.}$  нормокальциемия фиксировалась в 97,5% [93%; 99%], а гипокальциемия в 2,5% случаев (3) (рис.3, 4). Me кальция в суточной моче составила 3,84 ммоль/сут [1,61; 4,91].

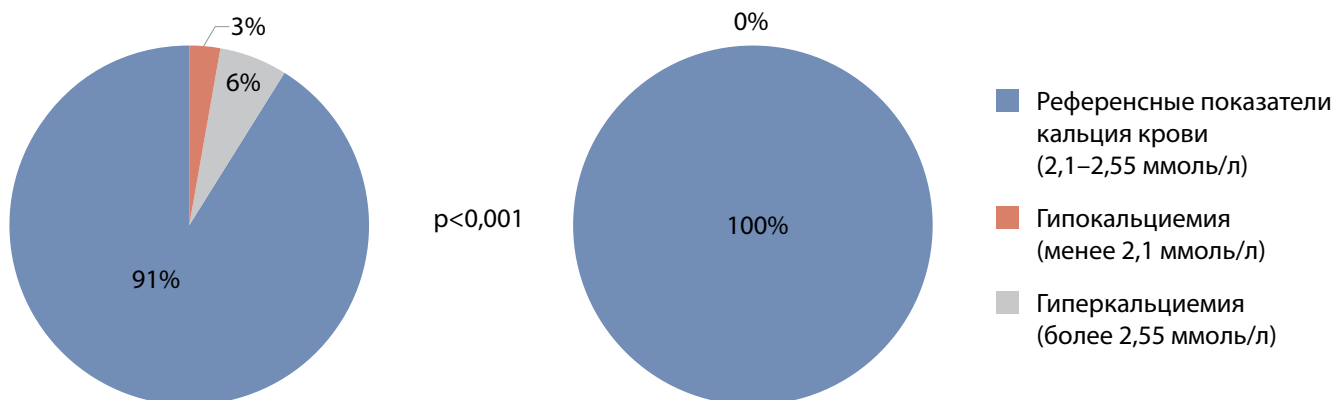


Рисунок 3. Характеристика показателей до и на фоне компенсации недостаточности/дефицита витамина D по  $Ca_{общ.}$ .

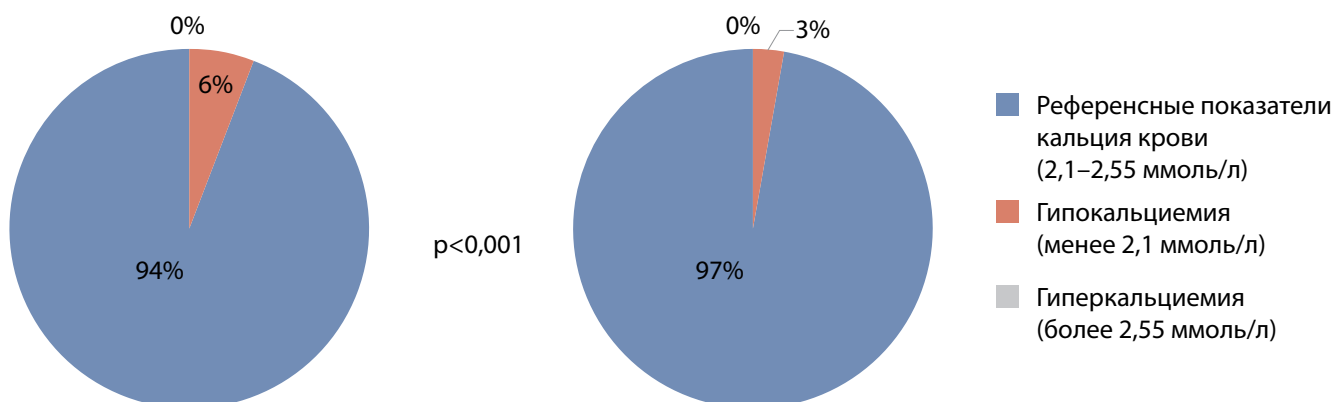


Рисунок 4. Характеристика показателей до и на фоне компенсации недостаточности/дефицита витамина D по  $Ca_{скорр.}$ .

**Таблица 1.** Сравнительная характеристика лабораторных показателей до и на фоне компенсации недостаточности/дефицита витамина D в исследуемой группе.

Параметры	Me [Q1; Q3] 25(OH)D<30 нг/мл	Me [Q1; Q3] 25(OH)D>30 нг/мл	P, критерий Вилкоксона (значимо p<0,05)
25(OH) витамин D, нг/мл	19,2 [16,4; 23,6]	40,85 [33,9; 45,5]	p=0,005
Ca <sub>общ.</sub> , ммоль/л	2,39 [2,33; 2,45]	2,35 [2,30; 2,39]	p=0,126
Ca <sub>скорр.</sub> , ммоль/л	2,30 [2,21; 2,37]	2,26 [2,20; 2,31]	p=0,221
Кальций в суточной моче, ммоль/сут	2,45 [1,54; 3,32]	3,84 [1,61; 4,91]	p=0,508

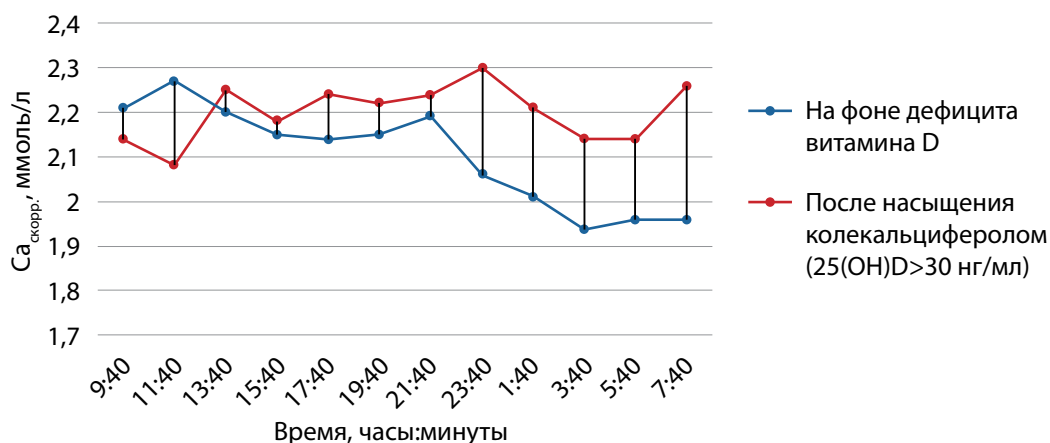
### Основные результаты исследования

Первым этапом проведен сравнительный анализ лабораторных показателей между группами до и после компенсации дефицита/недостаточности витамина D (табл. 1). При сравнении Me Ca<sub>общ.</sub> и Ca<sub>скорр.</sub> между группами до и на фоне компенсации дефицита/недостаточности витамина D, различий выявлено не было. Несмотря на увеличение Me суточной кальциурии, статистически значимых различий между группами получено не было.

Вторым этапом были проанализированы и сопоставлены максимальные и минимальные значения кальциемии в течение суток. Между группами были выявлены различия по Me максимальных уровней Ca<sub>общ.</sub> (Me Ca<sub>общ.</sub> до лечения 2,46 ммоль/л vs Me Ca<sub>общ.</sub> после лечения 2,41 ммоль/л, p=0,044, критерий Вилкоксона), Me минимальных показателей Ca<sub>общ.</sub> значимо не различались (Me Ca<sub>общ.</sub> до лечения 2,29 ммоль/л vs Me Ca<sub>общ.</sub> после лечения 2,24 ммоль/л, p=0,327, критерий Вилкоксона). По Me Ca<sub>скорр.</sub> различий получено не было (p>0,05, критерий Вилкоксона).

Третьим этапом проведен анализ вариабельности кальциемии в течение суток. Отмечено, что частоты достижения нормокальциемии (референсного диапазона) статистически значимо отличаются между группами 1 и 2 как по Ca<sub>общ.</sub> (p<0,001, критерий Мак-Немара) так и по Ca<sub>скорр.</sub> (p<0,001, критерий Мак-Немара). Также установлено, что по мере нормализации уровня витамина D происходит уменьшение разброса значений кальциемии в течение суток, что демонстрирует наличие более стабильного суточного профиля (SD Ca<sub>общ.</sub> до лечения = 0,12, SD Ca<sub>общ.</sub> после = 0,08; SD Ca<sub>скорр.</sub> до лечения = 0,12, SD Ca<sub>скорр.</sub> после = 0,08; коэффициенты вариации: Ca<sub>общ.</sub> до 4,9%, Ca<sub>общ.</sub> после 3,3%, Ca<sub>скорр.</sub> до 5,1%, Ca<sub>скорр.</sub> после 3,5%) (рис. 5).

При оценке суточного профиля кальциемии нами были выделены временные периоды с минимальными (с 23:40 до 07:40) и максимальными (09:40–17:40) значениями кальция сыворотки крови (табл. 2). Значимость различий показателей в эти временные промежутки

**Рисунок 5.** Суточный профиль кальциемии на фоне дефицита витамина D и после достижения компенсации на фоне приема колекальциферола.**Таблица 2.** Сравнительная характеристика периодов минимальных и максимальных значений кальциемии в течение суток до и на фоне компенсации недостаточности/дефицита витамина D.

Параметры	Me [Q1; Q3] 25(OH)D<30 нг/мл	Me [Q1; Q3] 25(OH)D>30 нг/мл	P, критерий Вилкоксона (значимо p<0,05)
<b>По кальцию общему, Ca<sub>общ.</sub></b>			
23:40–07:40	2,29 [2,25; 2,37]	2,24 [2,19; 2,32]	p=0,327
09:40–17:40	2,46 [2,44; 2,53]	2,41 [2,39; 2,47]	p=0,044
<b>По альбумин-скорректированному кальцию, Ca<sub>скорр.</sub></b>			
23:40–07:40	2,23 [2,11; 2,27]	2,15 [2,10; 2,22]	p=0,414
09:40–17:40	2,40 [2,28; 2,44]	2,32 [2,31; 2,38]	p=0,059

подтверждена статистически (для  $Ca_{\text{общ.}}$   $p=0,005$ , критерий Вилкоксона; для  $Ca_{\text{скорр.}}$   $p=0,005$ , критерий Вилкоксона). Сравнительный анализ  $Me Ca_{\text{общ.}}$  и  $Ca_{\text{скорр.}}$  до и после лечения во временные периоды с максимальными и минимальными значениями кальциемии представлена в таблице 2.  $Me Ca_{\text{общ.}}$  статистически значимо выше во временной период максимальных значений у пациентов с недостаточным уровнем витамина D, чем у пациентов с  $25(OH)D > 30$  нг/мл.

#### Дополнительные результаты исследования

При проведении сравнительного анализа между выделенными подгруппами получены следующие результаты:

1. Между подгруппами 1а и 1б:
  - разницы по  $Me Ca_{\text{общ.}}$  и  $Ca_{\text{скорр.}}$  во временные периоды с минимальными и максимальными значениями получено не было ( $p=0,610$  и  $p=0,352$ , соответственно, U-тест);
  - также не выявлено различий по величине суточной кальциурии ( $p = 0,257$ , U-тест);
  - при сравнении частот гипокальциемии различий не установлено ( $p=0,177$ ,  $\chi^2$  с поправкой Йетса).
2. Между подгруппами 2а и 2б:
  - на фоне достижения компенсации выявлены различия по  $Me Ca_{\text{скорр.}}$  только во временной период с минимальными значениями кальциемии ( $p=0,016$ , U-тест);
  - по величине суточной кальциурии подгруппы также были сопоставимы ( $p = 0,421$ , U-тест);
  - не было отмечено различий по частоте гипокальциемий (по  $Ca_{\text{скорр.}}$   $p=0,611$ ,  $\chi^2$  с поправкой Йетса).

Дополнительно проводился анализ сопоставимости результатов по уровням  $Ca_{\text{общ.}}$  и  $Ca_{\text{скорр.}}$ . Получена сильная корреляция между значениями  $Ca_{\text{общ.}}$  и  $Ca_{\text{скорр.}}$  в течение суток ( $p=0,001$ ,  $r=0,91$ , метод Спирмена), однако были отмечены различия по уровням кальциемии в референсном диапазоне – 109 по  $Ca_{\text{общ.}}$ /113 по  $Ca_{\text{скорр.}}$  и 120 по  $Ca_{\text{общ.}}$ /117 по  $Ca_{\text{скорр.}}$  до и после терапии колекальциферолом соответственно.

#### Нежелательные явления

В исследовании не планировалось отслеживать нежелательные явления, в том числе оценивать безопасность медикаментозной терапии.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании показано, что суточный профиль кальциемии различается у здоровых лиц в зависимости от обеспеченности  $25(OH)D$ . Несмотря на то, что при проведении сравнительного анализа  $Me Ca_{\text{общ.}}$  и  $Ca_{\text{скорр.}}$ , а также суточной кальциурии между группами до и после лечения различий выявлено не было, при детальном рассмотрении профиля кальциемии в различные временные промежутки выявлены положительные тенденции при достижении целевых значений витамина D.

В настоящем исследовании количество референсных показателей кальциемии возрастает по мере достижения целевых уровней  $25(OH)D$  – от 90,8% до 100% для  $Ca_{\text{общ.}}$  и от 94,2% до 97,5% для  $Ca_{\text{скорр.}}$ . Данный результат показателен с одной стороны в плане демонстрации

улучшения профиля кальциемии после лечения колекальциферолом, с другой стороны – обращает внимание на необходимость расчета  $Ca_{\text{скорр.}}$  для получения точных значений кальциемии.

Количество гипокальциемических эпизодов также уменьшается по мере достижения компенсации дефицита/недостаточности витамина D. В нашем исследовании у добровольцев определялась мягкая гипокальциемия, которая не сопровождалась появлением специфических симптомов (судороги, парестезии и др.). Необходимо отметить, что в литературе описаны клинические случаи выраженной гипокальциемии ( $< 2$  ммоль/л) на фоне резко сниженного уровня витамина D, которые также не приводили к развитию развернутой клинической картины [18].

Показатели суточной кальциурии имели тенденцию к улучшению по мере нормализации уровня витамина D – от гипокальциурии в 2,45 ммоль/сут до нормальных показателей суточной экскреции кальция в 3,84 ммоль/сут. Результаты не достигли статистической значимости, однако в совокупности с показателями кальциемии демонстрируют улучшение состояния кальциевого обмена после лечения колекальциферолом. Взаимосвязь между суточной экскрецией кальция и уровнем  $25(OH)D$  изучалась в нескольких работах. В исследовании Eisner и соавт. данных ассоциаций выявлено не было [19]. В другой работе было обнаружено, что уровень суточной кальциурии положительно коррелирует с уровнем витамина D только у мужчин, но не у женщин [20]. Также оценивалось влияние терапии колекальциферолом на суточную экскрецию кальция. David E. Leaf и соавт. не обнаружили увеличения экскреции кальция ( $257 \pm 54$  и  $255 \pm 88$  мг/дл,  $p=0,91$ ) по мере насыщения витамином D ( $17 \pm 6$  и  $35 \pm 10$  нг/мл,  $p < 0,001$ ) [21].

Для оценки вариабельности суточного профиля кальциемии использовалось определение стандартных отклонений и коэффициентов вариации, в результате чего установлено, что по мере нормализации уровня витамина D происходит уменьшение разброса значений кальциемии в течение суток, что демонстрирует наличие более стабильного суточного профиля кальция. Таким образом, компенсация дефицита/недостаточности витамина D приводит к увеличению количества референсных значений кальциемии и снижает вариабельность суточного профиля кальциемии.

В настоящем исследовании выявлена циркадианность суточного профиля кальциемии с наличием максимальных (09:40–17:40) и минимальных (23:40–07:40) значений в течение суток. Данные результаты согласуются с уже имеющимися зарубежными исследованиями [4, 22]. Peter Ridel felt и соавт. в своей работе изучал суточный профиль кальция крови в зависимости от наличия/отсутствия ночного сна: при нормальном ночном сне уровень кальция сыворотки крови начинает постепенно снижаться после 23:00, достигая минимума в 06:00–08:00, максимальные концентрации кальция были отмечены в полуденные часы. При дневном сне испытуемых, профиль кальция демонстрировал ту же тенденцию, что и при ночном сне – снижение уровня кальция после засыпания, вне зависимости от времени [16]. Наименьшие показатели кальциемии в ночные

часы, по результатам Fraser WD и соавт., стимулируют выработку и секрецию ПТГ, которая достигает пика в середине утра, способствуя поддержанию нормальных показателей кальциемии. Так в исследовании William Jubiz и соавт. было показано, что у здоровых людей уровень ПТГ начинал повышаться после 20:00 и достигал своего максимума в интервале с 02:00–04:00, тогда как уровень кальция был наивысшим в 20:00 и снижался в интервале с 02:00–04:00 [2].

Дополнительным результатом исследования явилась оценка корреляции уровней  $Ca_{\text{общ.}}$  и  $Ca_{\text{скорр.}}$ , проведенная в рамках поиска обоснования для применения формулы расчета  $Ca_{\text{скорр.}}$  при рутинной оценке биохимического профиля пациента. Была выявлена сильная корреляция между данными показателями ( $p=0,001$ ,  $r=0,91$ , метод Спирмена), однако были отмечены различия по частотам кальциемии в референсном диапазоне – 109 по  $Ca_{\text{общ.}}$ /113 по  $Ca_{\text{скорр.}}$  и 120 по  $Ca_{\text{общ.}}$ /117 по  $Ca_{\text{скорр.}}$  до и после терапии колекальциферолом соответственно. Физиологической основой необходимости данной коррекции является факт связывания кальция с белками-переносчиками, в первую очередь с альбумином. Необходимо отметить также, что значения  $Ca_{\text{скорр.}}$  не всегда совпадают с уровнем  $Ca^{++}$  – как наиболее чувствительным показателем. Так, в исследовании Steen O. и соавт. 75% пациентов со снижением альбумина менее 30 г/л имели нормокальциемию по  $Ca_{\text{скорр.}}$ , но имели гипокальциемию по  $Ca^{++}$  [23]. Показатель  $Ca^{++}$  менее вариабельный, однако, для его определения необходимо специальное оборудование – анализатор с использованием ион-селективных электродов. Правильность определения уровня  $Ca^{++}$  зависит от технического состояния и калибровки аппаратуры, а также от учета влияния на концентрацию кальция уровня pH крови.

#### Резюме основного результата исследования

Таким образом, по результатам настоящего исследования отмечено улучшение суточного профиля кальциемии в виде поддержания референсных значений в течение суток и снижение вариабельности показателей на фоне достижения уровня 25(ОН)витамина D более 30 нг/мл (коэффициенты вариации до/после: 4,9% против 3,3% для  $Ca_{\text{общ.}}$ ; 5,1% против 3,5% для  $Ca_{\text{скорр.}}$ .)

#### Ограничения исследования

В настоящей работе не проводилась оценка уровня ПТГ, что не входило в протокол настоящего исследования. В связи с пилотным характером работы расчет размера выборки не производился. Измерение уровня  $Ca^{++}$  не проводилось в виду отсутствия технической возможности – отсутствие оборудования для определения прямым методом.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании изучено влияние различного уровня витамина D на суточный профиль кальциемии и кальциурии среди условно здоровых добровольцев. Полученные результаты демонстрируют положительное влияние терапии нативным препаратом витамина D на суточный профиль кальциемии. По мере достижения компенсации достоверно снижается частота выявляемых гипокальциемий. Суточный профиль кальциемии становится более стабильным и характеризуется как большей частотой референсных показателей, так и уменьшением разброса значений кальция сыворотки крови в течение суток. Актуальным представляются дальнейшие исследования, в том числе среди лиц с хронической гипокальциемией различной этиологии.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-90039. The reported study was funded by RFBR, project number 19-315-90039.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Участие авторов.** Ковалева Е.В. – дизайн исследования, сбор материала, написание текста; Айнетдинова А.Р. – дизайн исследования, статистическая обработка, редактирование; Еремкина А.К. – разработка дизайна исследования, редактирование; Мокрышева Н.Г. – концепция и дизайн исследования, редактирование. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Peacock M. Calcium Metabolism in Health and Disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(Supplement 1):S23-S30. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.05910809>
2. Fukumoto S, Namba N, Ozono K, et al. Causes and Differential Diagnosis of Hypocalcemia —Recommendation Proposed by Expert Panel Supported by Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan—. *Endocr J*. 2008;55(5):787-794. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.K08E-076>
3. Thode J, Juul-Jørgensen B, Bhatia HM, et al. Comparison of serum total calcium, albumin-corrected total calcium, and ionized calcium in 1213 patients with suspected calcium disorders. *Scand J Clin Lab Invest*. 1989;49(3):217-223. doi: <https://doi.org/10.1080/00365518909089086>
4. Jubiz W, Canterbury JM, Reiss E, Tyler FH. Circadian rhythm in serum parathyroid hormone concentration in human subjects: correlation with serum calcium, phosphate, albumin, and growth hormone levels. *J Clin Invest*. 1972;51(8):2040-2046. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI107010>
5. Fraser WD, Ahmad AM, Vora JP. The physiology of the circadian rhythm of parathyroid hormone and its potential as a treatment for osteoporosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2004;13(4):437-444. doi: <https://doi.org/10.1097/01.mnh.0000133985.29880.34>
6. Chang S-W, Lee H-C. Vitamin D and health - The missing vitamin in humans. *Pediatr Neonatol*. 2019;60(3):237-244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2019.04.007>
7. Gallagher JC, Yalanchili V, Smith LM. The effect of vitamin D on calcium absorption in older women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2012-2020>
8. Pludowski P, Holick MF, Pilz S, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality—A review of recent evidence. *Autoimmun Rev*. 2013;12(10):976-989. doi: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.02.004>
9. Palacios C, Gonzalez L. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;144:138-145. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.11.003>



10. Parva NR, Tadepalli S, Singh P, et al. Prevalence of Vitamin D Deficiency and Associated Risk Factors in the US Population (2011-2012). *Cureus*. 2018. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.2741>
11. Wuertz C, Gilbert P, Baier W, Kunz C. Cross-sectional study of factors that influence the 25-hydroxyvitamin D status in pregnant women and in cord blood in Germany. *Br J Nutr*. 2013;110(10):1895-1902. doi: <https://doi.org/10.1017/S0007114513001438>
12. Luxwolda MF, Kuipers RS, Kema IP, et al. Vitamin D status indicators in indigenous populations in East Africa. *Eur J Nutr*. 2013;52(3):1115-1125. doi: <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0421-6>
13. Al Zarooni AAR, Al Marzouqi FI, Al Darmaki SH, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and associated comorbidities among Abu Dhabi Emirates population. *BMC Res Notes*. 2019;12(1):503. doi: <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4536-1>
14. Малявская С.И., Кострова Г.Н., Лебедев А.В., и др. Уровни витамина D у представителей различных групп населения города Архангельска // Экология человека. – 2018. – №1. – С. 60-64. [Malyavskaya SI, Kostrova GN, Lebedev AV, et al. 25(OH)D levels in the population of Arkhangelsk city in different age groups. *Èkologija čeloveka*. 2018;1:60-64. (In Russ.)]
15. Петрушкина А.А., Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я. Эпидемиология дефицита витамина D в Российской Федерации // *Остеопороз и остеопатии*. – 2018. – Т. 21. – №3. – С. 15-20. [Petrushkina AA, Pigarova EA, Rozhinskaya LY. The prevalence of vitamin D deficiency in Russian Federation. *Osteoporos Bone Dis*. 2019;21(3):15-20. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/osteo10038>
16. Добрева Е.А., Мирная С.С., Володичева В.Л., и др. Анализ кальциемии у жителей городов Химки и Коломна Московской области // *Профилактическая медицина*. – 2018. – Т. 21. – №3. – С. 15-20. [Dobrev EA, Mirnaya SS, Volodicheva VL, et al. Analysis of calcemic in residents of the cities of Khimki and Kolomna, Moscow region. *Profilakticheskaya meditsina*. 2020;23(5):99. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17116/profmed20202305199>
17. Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е., и др. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых // *Проблемы Эндокринологии*. – 2016. – Т. 62. – №4. – С. 60-84. [Pigarova EA, Rozhinskaya LY, Belaya JE, et al. Russian Association of Endocrinologists recommendations for diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problems of Endocrinology*. 2016;62(4):60-84. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/probl201662460-84>
18. Aldasouqi S, Glassy CM, Glassy MS, et al. Asymptomatic Severe Hypocalcemia Secondary to Vitamin D Deficiency in an Elderly Patient. *Case Rep Endocrinol*. 2011;2011:1-3. doi: <https://doi.org/10.1155/2011/830952>
19. Eisner BH, Thavaseelan S, Sheth S, Haleblan G, Pareek G. Relationship between serum vitamin D and 24-hour urine calcium in patients with nephrolithiasis. *Urology*. 2012;80(5):1007-1010. doi: <https://doi.org/10.1016/j.urology.2012.04.041>
20. Rathod A, Bonny O, Guessous I, et al. Association of Urinary Calcium Excretion with Serum Calcium and Vitamin D Levels. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(3):452-462. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.12511213>
21. Leaf DE, Korets R, Taylor EN, et al. Effect of Vitamin D Repletion on Urinary Calcium Excretion among Kidney Stone Formers. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(5):829-834. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.11331111>
22. Ridefelt P, Axelsson J, Larsson A. Diurnal variability of total calcium during normal sleep and after an acute shift of sleep. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(1). doi: <https://doi.org/10.1515/cclm.2011.880>
23. Steen MD O, Clase MB MSC C, Don-Wauchope MB Bch MD A. Corrected Calcium Formula in Routine Clinical Use Does Not Accurately Reflect Ionized Calcium in Hospital Patients. *Can J Gen Intern Med*. 2016;11(3). doi: <https://doi.org/10.22374/cjgim.v11i3.150>

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]:

\*Ковалева Елена Владимировна [Elena V. Kovaleva, MD]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; <https://orcid.org/0000-0002-9258-2591>; e-mail: [elen.v.kovaleva@gmail.com](mailto:elen.v.kovaleva@gmail.com)

**Айнетдинова Алина Ринатовна** [Alina R. Ajnetdinova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6935-3187>; eLibrary SPIN: 9617-7460; e-mail: [9803005@mail.ru](mailto:9803005@mail.ru)

**Еремкина Анна Константиновна**, к.м.н. [Anna K. Eremkina, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6667-062X>; eLibrary SPIN: 8848-2660; e-mail: [a.lipatenkova@gmail.com](mailto:a.lipatenkova@gmail.com)

**Мокрышева Наталья Георгиевна**, д.м.н. [Natalia G. Mokrysheva, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9717-9742>; eLibrary SPIN: 5624-3875; e-mail: [mokrisheva.natalia@endocrincentr.ru](mailto:mokrisheva.natalia@endocrincentr.ru)

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Ковалева Е.В., Айнетдинова А.Р., Еремкина А.К., Мокрышева Н.Г. Влияние дефицита/недостаточности витамина D на циркадианный ритм кальция крови // *Ожирение и метаболизм*. – 2020. – Т. 17. – №3. – С. 283–291. doi: <https://doi.org/10.14341/omet12607>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Kovaleva EV, Ajnetdinova AR, Eremkina AK, Mokrysheva NG. Influence of deficiency or insufficiency of vitamin D on the circadian rhythm of serum calcium level. *Obesity and metabolism*. 2020;17(3):283–291. doi: <https://doi.org/10.14341/omet12607>