

ВМІСТ 25-ГІДРОКСІКАЛЬЦІФЕРОЛУ (25(OH)D) В ПЛАЗМІ КРОВІ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ НА РІЗНИХ СТАДІЯХ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ

Нетребін Л.І. <http://orcid.org/0000-0002-7136-8860>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

epkophthalmology@gmail.com

Актуальність. На сьогодні набула потреби вивчення наслідків вітамінD-дефіцитних станів на перебіг тяжких ускладнень цукрового діабету (ЦД), зокрема діабетичної ретинопатії (ДР), коли плейотропний метаболічний ефект вітаміну D суттєво знижується.

Ціль: дослідити вміст 25-гідроксикальціферолу (25(OH)D) в плазмі крові у хворих на цукровий діабет 2 типу на різних стадіях діабетичної ретинопатії.

Матеріали та методи. Проведено відкрите спостережне одноцентрове одномоментне вибіркове дослідження у хворих на ДР при ЦД2. Включення пацієнтів у групи з ДР відбувалося відповідно до протоколу ETDRS (2019). Дослідження проведено у 90 пацієнтів (173 ока) з ДР (чоловіки та жінки, середній вік – $59,4 \pm 3,4$ років, середній рівень глікованого гемоглобіну (HbA_{1c}) – $7,82 \pm 0,51$ (%)), яких залежно від стадії ДР (непроліферативна, препроліферативна та проліферативна) розподілили на 3 групи. Пацієнтам було проведено стандартне ендокринологічне та офтальмологічне обстеження. Вміст HbA_{1c} визначали методом рідинної хроматографії, концентрацію 25(OH)D в плазмі крові – хемілюмінесцентним імунним аналізом. Статистичний аналіз включав ANOVA, однофакторний дисперсійний і регресійний аналіз. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати. Показано, що концентрація 25(OH)D в плазмі крові у хворих на ЦД2 вірогідно знижується на кожній стадії ДР (I стадія – $19,8 [18,8-22,6]$ нг/мл, II стадія – $16,9$ нг/мл $[15,3-18,8]$, III стадія – $14,3 [12,5-15,8]$ нг/мл, $p < 0,001$). При цьому із зростанням стадії ДР частота виявлення дефіциту 25(OH)D (концентрація менше 20 нг/мл) вірогідно збільшується ($50,0\%$ – I стадія, $86,2\%$ – II стадія, $94,3\%$ – III стадія, $p < 0,001$). Показано, що ризик високого ступеня ДР вірогідно знижується ($p < 0,001$) при зростанні концентрації 25(OH)D в плазмі крові на кожен нг/мл ($BH = 0,64 (0,53 - 0,78)$).

Висновки. Із зростанням стадії ДР при ЦД2 вміст 25(OH)D в плазмі крові зменшується ($p < 0,001$), при цьому зростає питома вага пацієнтів з дефіцитом 25(OH)D, особливо на III стадії ДР ($p < 0,001$). Аналіз зв'язку стадії ДР з концентрацією 25(OH)D в плазмі крові показав зниження ризику високого ступеня ДР при зростанні концентрації 25(OH)D.

Ключові слова: діабетична ретинопатія; цукровий діабет 2 типу; вітамін D

Актуальність. Останнім часом серед наукової спільноти велике значення набувають роботи, присвячені можливому впливу гіповітамінозу D на ризик виникнення та перебіг цукрового діабету 2 типу (ЦД) та його мікросудинних ускладнень, особливо діабетичної ретинопатії (ДР) як провідної причини зниження та втрати зору [1, 2]. Це пов'язано, з одного боку, значною поширеністю вітамін D-дефіцитних станів у світі [3], а з іншого – фактично світовою пандемією ЦД 2 типу [4]. Наразі відчувається недостатність наукових досліджень, присвячених дослідженню вмісту вітаміну D [5], взаємозв'язку між рівнем

вітаміну D і поширеністю ДР у хворих на ЦД 2 типу в європеїській популяції, у тому числі і в Україні [6, 7]. Тому вивчення взаємовідносин між статусом вітаміну D та перебігом ДР у хворих на ЦД 2 типу є актуальним питанням сучасної офтальмології та діабетології.

Ціль: Дослідити вміст 25-гідроксикальціферолу (25(OH)D) в плазмі крові у хворих на цукровий діабет 2 типу на різних стадіях діабетичної ретинопатії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведено відкрите спостережне одноцентрове одномоментне вибіркове дослідження хворих на ДР при ЦД 2 типу. Критеріями включення у дослідження були добровільна інформована згода на участь у дослідженні, вік – понад 18 років, наявність ЦД 2 типу та ДР, відповідність протоколу ETDRS [8].

Критеріями невключення були ЦД 1 типу, тривалий прийом нестероїдних протизапальних препаратів, глюкокортикоїдів, хронічні запальні захворювання кишківника, системний остеопороз, ендокринна патологія (акромегалія, гіпо-, гіперпаратиреоз, тиротоксикоз, синдром Кушинга, гіпопітуїтаризм, гіпогонадізм, спадкові ендокринопатії), онкологічні та проліферативні захворювання, в тому числі в анамнезі, психічні розлади, хронічна хвороба нирок термінальної стадії або з протеїнурією, пошкодження зорового нерва, клінічно значуща макулопатія, глаукома, зріла катаракта, вагітність та лактація.

Діагноз ЦД 2 типу встановлювався згідно Уніфікованого клінічного протоколу первинної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Цукровий діабет 2 типу» та Наказу МОЗ України №1118 від 21.12.2012 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті 2 типу» (чинний за посиланням https://zakononline.com.ua/documents/show/8047___730659). Діагноз ДР виставляли згідно наказу МОЗ України від 22.05.2009 №356 в редакції наказу МОЗ України від 05.08.2009 №574 («Протокол надання медичної допомоги хворим з діабетичною ретинопатією»), згідно яких рекомендується виділяти три головні стадії ДР: непроліферативну (НПДР), препроліферативну (ППДР) і проліферативну (ПДР) (чинний за посиланням https://zakononline.com.ua/documents/show/48894___48894).

Клінічні дослідження у хворих на ДР та ЦД2 проводили відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (Сеул, 2008), відповідних наказів МОЗ України (№ 281 від 01.11.2000, № 355 від 25.09.2002.09), в редакції наказу МОЗ України № 574 від 05.08.2009 р.,

№1118 від 21.12.2012 р.). Згода на проведення наукових досліджень була видана комісією з біоетики.

Дослідження проведено у 90 пацієнтів (173 ока) з ДР (чоловіки та жінки, середній вік склав $59,4 \pm 3,4$ років, середній рівень глікованого гемоглобіну (HbA_{1c}) – $7,82 \pm 0,51$ (%)), яких залежно від стадії ДР було розподілено на 3 групи (непроліферативна – НПДР, препроліферативна – ППДР, проліферативна – ПДР). При порівнянні пацієнтів не було виявлено вірогідних відмінностей між групами при розподілі за статтю ($p > 0,05$), але вік пацієнтів з ППДР та з ПДР був вищим ($p < 0,05$) ніж у групі з НПДР. Пацієнти групи з ПДР мали вищий ($p < 0,05$) вміст HbA_{1c} .

Всім пацієнтам було виконано стандартне офтальмологічне обстеження (візометрія, рефрактометрія, дослідження внутрішньоочного тиску та поля зору, гоніоскопія, біомікроскопія, офтальмоскопія, оптико-когерентна томографія, дослідження очного дна на фундус-камері).

Концентрацію глюкози в плазмі крові визначали глюкозооксидантним методом, вміст HbA_{1c} – методом високошвидкісної колонкової рідинної хроматографії на аналізаторі «D 10TM» (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) з використанням реактивів Bio-Rad. Концентрацію вітаміну D за його стабільною формою 25-гідроксикальціферол ($25(\text{OH})\text{D}$) досліджували хемілюмінесцентним імунним аналізом за допомогою набору реагентів “Access® $25\text{OH Vitamin D Total}$ ” фірми BECKMAN COULTER, Inc. (Brea, California, USA).

Статистичний аналіз включав однофакторний дисперсійний і регресійний аналіз і здійснювався у пакеті EZR (v. 1.35, Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan). Для кількісних показників представлено середнє значення (M), стандартна помилка ($\pm m$), 95% довірчий інтервал (ДІ). Для порівняння показників використано ANOVA, дисперсійний та регресійний аналізи. Для аналізу зв'язку між концентрацією в плазмі крові $25(\text{OH})\text{D}$ та стадіями ДР використовували метод побудови логістичних моделей регресії. Для якісних ознак розраховували абсолютну та відносну (%) частоту, для порівняння використано критерій

χ^2 . Апостеріорні порівняння були проведені за відповідними критеріями множинних порівнянь: критерій Шеффе (для кількісних ознак у випадку нормального закону розподілу); постеріорний непараметричний критерій Данна (для кількісних ознак у випадку відмінного від нормального закону розподілу); точний критерій Фішера з урахуванням поправки Бонферроні (для якісних ознак) У всіх випадках відмінності вважали статистично значущими при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Концентрація 25(OH)D в плазмі крові у хворих на ЦД 2 типу на стадіях НПДР, ППДР та ПДР представлена в таблиці 1. Встановлено, що із зростанням стадії ДР вміст 25(OH)D в

плазмі крові вірогідно знижується на кожній стадії від НПДР (I стадія) до стадії ПДР (III стадія). Так, пацієнти групи НПДР мали, у середньому, найвищу концентрацію 25(OH)D, а пацієнти з ПДР – найнижчу з усіх 3-ох груп порівняння ($p < 0.001$).

Розподіл абсолютної кількості пацієнтів на їхню питому вагу (частота) у розподілі недостатності або дефіциту 25(OH)D на всіх стадіях ДР представлено в таблиці 2. Показано, що із зростанням стадії ДР частота виявлення дефіциту 25(OH)D (концентрація менше 20 нг/мл) збільшується (в абсолютних значеннях та відносних), а частота недостатності 25(OH)D (від 20 до < 30 нг/мл) зменшується ($p < 0.001$). При цьому дефіцит 25(OH)D у групі ДР I стадії спостерігався у 50% пацієнтів, що було рідше

Таблиця 1

Вміст 25(OH)D в плазмі крові хворих на цукровий діабет 2 типу на різних стадіях діабетичної ретинопатії, нг/мл (Me, $Q_1 - Q_3$)

Показник	I стадія ДР (НПДР) (n=26)	II стадія ДР (ППДР) (n=29)	III стадія ДР (ПДР) (n=35)	Рівень значущості відмінності, p
25(OH)D, нг/мл	19.8 (18.8-22.6) ^{2,3}	16.9 (15.3-18.8) ^{1,3}	14.3 (12.5-15.8) ^{1,2}	< 0.001

Примітки: Представлено медіанне значення (Me) та міжквартильний інтервал ($Q_1 - Q_3$). Для порівняння використано Критерій Крускала-Уолліса. Апостеріорні порівняння проведені за критерієм множинних порівнянь Данна.

^{1,2,3} – відмінність від I, II та III стадії ДР статистично значуща, $p < 0.05$.

Таблиця 2

Розподіл хворих на цукровий діабет 2 типу на групи з недостатністю або дефіцитом 25(OH)D в плазмі крові на різних стадіях діабетичної ретинопатії

Показник		I стадія ДР (НПДР) (n=26)	II стадія ДР (ППДР) (n=29)	III стадія ДР (ПДР) (n=35)	Рівень значущості відмінності, p
Недостатність \ дефіцит 25(OH)D	0	13 (50%) ^{2,3}	4 (13.8%) ¹	2 (5.7%) ¹	< 0.001
	1	13 (50%) ^{2,3}	25 (86.2%) ¹	33 (94.3%) ¹	

Примітки: Розраховано абсолютні значення та відносна (%) частота, для порівняння використано критерій Пірсона χ^2 -квадрат. Апостеріорні порівняння проведені за точним критерієм множинних порівнянь Фішера з урахуванням поправки Бонферроні.

^{1,2,3} – відмінність від I, II та III стадії ДР статистично значуща, $p < 0.05$.

Таблиця 3

Модель логістичної регресії прогнозування ризику високого ступеня діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу залежно від концентрації 25(OH)D в плазмі крові

Факторна ознака	Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності ВШ від 1, p	Показник відношення шансів моделі, ВШ (95% ДІ)
25(OH)D, нг/мл	-0.45 $\pm$ 0.10	<0.001	0.64 (0.53 – 0.78)

Примітка: ВШ – відношення шансів, ДІ – довірчий інтервал.

($p < 0.05$), ніж у групі ДР II стадії (86.2%) та ще рідше, ($p < 0.05$) ніж у групі ДР III стадії (94.3%), відмінності вірогідні ($P < 0.001$).

Для аналізу зв'язку стадії ДР з концентрацією 25(OH)D в плазмі крові було використано метод побудови моделей логістичної регресії. Прогнозували вірогідність ризику високого (ППДР чи ПДР) ступеня ретинопатії (результуюча змінна $Y=1$, 64 пацієнти та $Y=0$ – 26 пацієнтів). У таблиці 3 наведені результати проведеного однофакторного аналізу.

Результати математичного аналізу виявили, що ризик високого ступеня ДР вірогідно знижується ($p < 0.001$) при зростанні концентрації 25(OH)D в плазмі крові на кожен нг/мл (ВШ = 0.64 (0.53 – 0.78)).

Аналіз літературних джерел показав, що одним із перших досліджень аналогічного спрямування в Україні є робота І.В. Паньківа та співавт. (2022) [7], де на основі вивчення концентрації 25(OH)D в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу з ДР або без неї у спостережному дослідженні типу «випадок – контроль» було підтверджено взаємозв'язок недостатності та дефіциту 25(OH)D і наявності ДР як такої у хворих на ЦД 2 типу. Так, у пацієнтів із ДР була вірогідно нижча концентрація 25(OH)D, ніж у осіб без ретинопатії (14,6 нг/мл vs 23,9 нг/мл за середніми даними, $p < 0,05$), а багатофакторний аналіз підтвердив вірогідний взаємозв'язок між наявністю ДР і вмістом 25(OH)D. Крім того, у хворих з ДР була встановлена більш висока частка дефіциту/недостатності вітаміну D (81,7 % без ДР проти 94,5 % з ДР), але без урахування стадійності патологічного процесу в сітківці ока [7].

У нашому дослідженні концентрація 25(OH)D сягала – 19,8 нг/мл vs 16,9 vs 14,3 нг/мл – за середніми значеннями, а частота виявлення окремо дефіциту 25(OH)D – 50,0% vs 86,2% vs 94,3% – відповідно до I, II та III стадії ДР. Методом побудови моделей логістичної регресії із урахуванням стадії ДР нами показано вірогідне саме зниження ризику прогресування ДР при зростанні концентрації 25(OH)D в плазмі крові на кожен нг/мл.

Наші результати, в цілому, узгоджуються з іншими попередніми початковими роботами, в яких визначали взаємозв'язок між вмістом 25(OH)D та ДР при ЦД 2 типу. Так, у хворих на ЦД 2 типу та ДР виявлені нижчі рівні 25(OH)D в крові у порівнянні з контролем, а вітамін D був незалежним предиктором розвитку ДР [9]. Інше масштабне популяційне перехресне дослідження підтвердило зворотний зв'язок рівнів вітаміну D із наявністю ДР [10].

Ближчими до нашої роботи є дослідження Suzuki A. et al. (2006) [11], в якій показано, що пацієнти з ЦД 2 типу та проліферативною ДР мають нижчий рівень 25(OH)D у сироватці крові. Інше дослідження з найбільшою кількістю залучених до аналізу осіб з ДР показало необмежений зв'язок між рівнями 25(OH)D і ДР, особливо при прогресуючій загрозливій зорі ДР. Це дослідження виявило подвійне збільшення загрозливої зору ДР у осіб з рівнем 25(OH)D нижче 15,57 нг/мл [12]. В нашій роботі концентрація 25(OH)D у 14,3 нг/мл виявлена саме на проліферативній стадії ДР.

Підсумовуючи результати роботи, можна стверджувати, що вона відповідає світовому тренду вивчення співвідношення між гіпові-

тамінозом D і ризиком розвитку ЦД та його ускладнень та суттєво доповнюють його, особливо для української популяції.

ВИСНОВКИ

1. Із зростанням стадії ДР при ЦД 2 типу вміст 25(OH)D в плазмі крові хворих вірогідно зменшується ($p < 0.001$).

2. При цьому вірогідно зростає питома вага пацієнтів з дефіцитом 25(OH)D, особливо на III стадії ДР ($p < 0.001$).

3. Аналізу зв'язку стадії ДР з концентрацією 25(OH)D в плазмі крові показав зниження ризику високого ступеня ДР ($p < 0.001$) при зростанні концентрації 25(OH)D в плазмі крові на кожен нг/мл ($BSP = 0.64 (0.53 - 0.78)$).

Конфлікт інтересів. Автор даного рукопису стверджує, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Робота була виконана на кафедрі офтальмології та оптометрії післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, є фрагментом НДР кафедри «Розробка нових методів діагностики, лікування та профілактики рефракційних, запальних, дистрофічних і травматичних захворювань органу зору та їх клініко-експериментальне обґрунтування» (номер держреєстрації 0120U105324, 2022–2026 р.р).

REFERENCES

1. Yau JWY, et al; Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes care* Mar. 2012;35(3):556-64. DOI: 10.2337/dc11-1909
2. Shah A. PDB16 Prevalence of Diabetic Retinopathy in the United States, 2011–2014. *Value in Health*. 2016;19(3):A199. DOI: 10.1016/j.jval.2016.03.1323.
3. Manson JoE, Brannon PM, Rosen CJ, Taylor CL. Vitamin D Deficiency – Is There Really a Pandemic? *N Engl J Med*. 2016;375:1817–1820. DOI: 10.1056/NEJMp1608005

4. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. Available on: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition>.
5. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr*. 2016;103:1033-1044. DOI: 10.3945/ajcn.115.120873.
6. Комісаренко ЮІ. Вітамін D та його роль у регуляції метаболічних розладів при цукровому діабеті. *Ліки України*. 2013;4:51-54. Available on: http://nbuv.gov.ua/UJRN/likukr_2013_4_11.
7. Pankiv VI, Yuzvenko TYu, Pashkovska NV, Pankiv IV. The relationship between serum vitamin D concentrations and development of diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus. *Mіžnarodnij endokrinologіchnij žurnal*. 2022;18(8):432–435. DOI: 10.22141/2224-0721.18.8.2022.1221.
8. Solomon SD, Goldberg MF. ETDRS Grading of Diabetic Retinopathy: Still the Gold Standard? *Ophthalmic Res*. 2019;62(4):190–195. DOI: 10.1159/000501372.
9. Aksoy H, Akçay F, Kurtul N, Baykal O, Avci B. Serum 1,25 dihydroxy vitamin D (1,25(OH)2D3), 25 hydroxy vitamin D (25(OH) D) and parathormone levels in diabetic retinopathy. *Clin Biochem*. 2000 Feb;33(1):47–51. DOI: 10.1016/s0009-9120(99)00085-5.
10. He R, Shen J, Liu F, et al. Vitamin D deficiency increases the risk of retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2014 Dec;31(12):1657-64. DOI: 10.1111/dme.12581.
11. Suzuki A, Kotake M, Ono Y, et al. Hypovitaminosis D in type 2 diabetes mellitus: Association with microvascular complications and type of treatment. *Endocr J*. 2006 Aug;53(4):503-10. DOI: 10.1507/endocrj.k06-001.
12. Ahmadi H, Azar ST, Lakkis N, Arabi A. Hypovitaminosis d in patients with type 2 diabetes mellitus: a relation to disease control and complications. *ISRN Endocrinol*. 2013;641098. DOI: 10.1155/2013/641098.

Article history:

Received: 27.02.2023

Revision requested: 01.03.2023

Revision received: 13.03.2023

Accepted: 25.03.2023

Published: 30.03.2023

BLOOD PLASMA 25-HYDROXYCALCIPHEROL (25(OH)D) CONTENT IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS AT DIFFERENT STAGES OF DIABETIC RETINOPATHY

Netrebin L.I.

National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

epkophthalmology@gmail.com

Background. To date, it has become necessary to study the consequences of vitamin D-deficiency conditions on the course of severe complications of diabetes mellitus (DM), in particular diabetic retinopathy (DR), when the pleiotropic metabolic effect of vitamin D is significantly reduced.

Aim: to investigate the content of 25-hydroxycalciferol (25(OH)D) in the blood plasma of patients with type 2 diabetes at various stages of diabetic retinopathy.

Materials and methods. An open observational single-center one-stage selective study was conducted. The study was approved by the Local Ethics Committee. 90 patients (173 eyes) with T2D and DR (men and women; mean age – 59,4±3,4 years; mean HbA_{1c} – 7,82±0,51 %) were assigned to 3 groups, based on the stage of DR (nonproliferative, preproliferative and proliferative). The inclusion of patients in groups with DR was carried out in accordance with the ETDRS protocol (2019). Statistical analysis was included ANOVA and regression analysis.

Results. It was shown that the blood plasma concentration of 25(OH)D in patients with T2D probably decreases at each stage of DR (I stage – 19.8 [18.8–22.6] ng/ml, II stage – 16.9 ng/ml [15.3–18.8], stage III – 14.3 [12.5–15.8] ng/ml, $p < 0.001$). At the same time, as the stage of DR increases, the frequency of detection of 25(OH)D deficiency (concentration less than 20 ng/ml) probably increases (50.0% – stage I, 86.2% – stage II, 94.3% – stage III, $p < 0.001$). It was shown that the risk of a high degree of DR probably decreases ($p < 0.001$) with an increase in the concentration of 25(OH)D in blood plasma for each ng/ml (OR = 0.64 (0.53 – 0.78)).

Conclusion. With an increase in the stage of DR, the content of 25(OH)D in blood plasma decreases ($p < 0.001$). At the same time, the proportion of patients with 25(OH)D deficiency increases, especially at stage III DR ($p < 0.001$). An analysis of the relationship between the stage of DR and the concentration of 25(OH)D showed a decreasing in the risk of a high degree of DR with an increase of the 25(OH)D.

Key words: diabetic retinopathy, type 2 diabetes, vitamin D.