

Vztah mezi koncentrací vitamínu D a densitou kostní tkáně

P. ŽIVNÝ, L. PAVLÍKOVÁ, J. ŠPIRKOVÁ, V. PALIČKA

Osteocentrum, Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

SOUHRN

Živný P., Pavlíková L., Špírková J., Palička V.: **Vztah mezi koncentrací vitamínu D a densitou kostní tkáně**

Vitamin D hraje mimo jiné významnou roli i v mineralizaci kostí a jeho deficit je rizikovým faktorem pro vznik osteomalacie (densita kostního minerálu) a osteoporózy. Deficit vitamínu D negativně ovlivňuje metabolismus vápníku a fosforu a způsobuje vzestup parathormonu. Nízké koncentrace vitamínu D, vápníku a fosforu jsou spojeny se zvýšením rizika fraktur v oblasti proximálního femoru u starších žen. Cílem této studie je zhodnotit vztah mezi – bone mineral density (BMD) a sérovou koncentrací 25-hydroxyvitamínu D (25 OHD) a 1,25-dihydroxyvitamínu D (1,25 OHD) u postmenopauzálních žen.

Metody: Retrospektivní studie zahrnuje 157 postmenopauzálních žen kavkazských etnických skupin ve věku 38–79 let. BMD (g/cm^2) byla měřena v oblasti bederní páteře (L1–L4) a proximálního femoru na DEXA densitometru Hologic Delphi A. Dále byly stanoveny koncentrace osteokalcinu a parathormonu v séru pomocí imunoeseje (EIA, Modular Roche E 170), kostní izoenzym alkalické fosfatázy (METRA BAP EIA set). Ionizovaný vápník byl stanoven pomocí iontové selektivní elektrody. Vitamíny 25 OHD a 1,25 OHD byly stanoveny pomocí radioimunoeseje. Statistické analýzy byly provedeny na softwaru SigmaStat 3.1 (Jandel Scientific Corporation, San Rafael, CA, USA), použity byly testy: lineární regrese a korelace dle Pearsona.

Výsledky: Byla prokázána korelace mezi vitamíny 25 OHD a 1,25 OHD ($r = 0,232$, $p = 0,008$) a mezi vápníkem a ionizovaným vápníkem ($r = 0,831$, $p = 0,001$). Korelační analýza neprokázala korelaci mezi BMD v oblasti bederní páteře a koncentrací 1,25 OHD ($r = -0,143$, $p = 0,119$) a mezi BMD v oblasti proximálního femoru a 25 OHD ($r = 0,113$, $p = 0,224$), stejně jako mezi BMD a koncentracemi osteokalcinu a parathormonu.

Závěry: Nebyla nalezena korelace mezi BMD, vitamíny D a ostatními vyšetřovanými markery kostní přestavby, které mohou naznačovat možnou porušenou rovnováhu mezi kostní formací a resorpcí u postmenopauzálních žen. Někteří autoři naznačují, že přímý vztah mezi koncentrací vitamínu D a BMD je zpravidla výsledkem přítomnosti ještě dalších patologických stavů, zejména spojených s poškozením ledvin. Podpořeno výzkumným záměrem MZO 00179 906.

Klíčová slova: vitamin D, bone mineral density, osteocalcin, parathormon, korelace

SUMMARY

Živný P., Pavlíková L., Špírková J., Palička V.: **The relationship between vitamin D concentration and bone mineral density**

Aims: Vitamin D plays an important role in the normal bone mineralization and its deficiency is a risk factor for osteomalacia and osteoporosis. Vitamin D deficiency negatively impairs calcium and phosphate metabolism and trigger parathyroid hormone (PTH) increase. Low levels of vitamin D, calcium and phosphate have also been linked to increase in hip fractures in elderly women. The aim of this study was to evaluate relationship between bone mineral density (BMD) and serum levels of 25-hydroxyvitamin D (25 OHD) and 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25 OHD) in postmenopausal women.

Methods: This retrospective study included 157 postmenopausal Caucasian women, age 38–79. BMD (g/cm^2) was measured at the lumbar spine (L1–L4) and proximal femur using the Hologic Delphi A DEXA densitometer. Osteocalcin and PTH concentrations were determined by monoclonal competitive enzyme immunoassay (EIA, Modular Roche E170), bone-specific alkaline phosphatase by METRA BAP EIA kit. Ionized calcium were determined by ion-selective electrode. Radioimmunoassay was used to measure vitamin 25 OHD and 1,25 OHD. Statistical analyses were performed using SigmaStat 3.1 (Jandel Scientific Corporation, San Rafael, CA, USA), test used were linear regression and Pearson correlation.

Results: Obtained results showed correlation between vitamin 25 OHD and 1,25 OHD ($r = 0.232$, $p = 0.008$) and between calcium and ionized calcium ($r = 0.831$, $p = 0.001$). Correlation analyses showed lack of correlation between lumbar spine BMD and concentration 1,25 OHD ($r = -0.143$, $p = 0.119$), between proximal femur BMD and 25 OHD ($r = 0.113$, $p = 0.224$), as well between BMD and osteocalcin and PTH concentrations.

Conclusions: We did not find correlation between BMD measurement, vitamin D and all investigated bone markers that indicates possible impaired balance between bone formation and bone resorption in postmenopausal women. Some authors stated that direct relation between vitamin D and BMD concentration is the result of pathological conditions with renal impairment.

Key words: vitamin D, bone mineral density, osteocalcin, parathyroid hormone, correlation

Osteologický bulletin 2006;11(2–3):43–47

Adresa: doc. MUDr. Pavel Živný, CSc., Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: zivny@lfhk.cuni.cz

Došlo do redakce: 26. 4. 2006

Přijato k tisku: 8. 8. 2006

Úvod

Výživa hraje významnou roli v etiologii osteoporózy. Dva nejvýznamnější nutriční faktory důležité pro normální kostní metabolismus jsou vápník a vitamin D. O vitamínu D však nelze jednoduše hovořit jako o prostém nutričním faktoru, protože je zapojen do složitých fyziologických a patofyziologických vztahů. Vitamin D a jeho metabolity jsou steroidové hormony a jejich metabolismus a mechanismus účinku mají řadu společných rysů s ostatními steroidními hormony. Jednou z fyziologických úloh vitamínu D je zvýšení plazmatické koncentrace vápníku a fosfátů a tím vytvoření příznivých podmínek pro mineralizaci kostní tkáně.

Vitamin D je obecně užívaný společný termín pro skupinu podobných molekul odvozených z přirozeně se vyskytujícího 7-dehydrocholesterolu (provitamin D3). 7-dehydrocholesterol je uložen v hloubce aktivně rostoucích vrstev epidermis a podléhá fotolytickému štěpení „B“ kruhu na vitamin D3 (cholecalciferol). Vitamin D3 a vitamin D2 (ergocalciferol) mohou být suplementovány v dietě nebo přijímány v určitých potravinách. Vitamin D je „skladován“ v tukové tkáni a v cirkulaci se vyskytuje ve vazbě na vitamin D binding protein (VDBP) a albumin. V játrech je vitamin D hydroxylován v pozici 25 a vzniklý 25-hydroxyvitamin D (25 OHD) rovněž cirkuluje jako komplex s VDBP. Jen malá část

25 OHD je dále hydroxylována v ledvinách pod vlivem regulace parathormonem a koncentrací ionizovaného vápníku a vzniká tak biologicky aktivní kalcotropní hormon 1,25 dihydroxyvitamin D. Další hydroxylace a metabolické pochody činí metabolity vitamínu D rozpustné ve vodě a schopné exkrece z organismu. Jaterní vi-

tamin D 25-hydroxylázová aktivita není exaktně regulována, takže cirkulující koncentrace 25 OHD jsou závislé především na příjmu vitamínu D (D3 nebo D2) a na jeho produkci v kůži. Sérova koncentrace 25 OHD je ukazatelem celkového stavu vitamínu D v organismu (overall vitamin D status), zatímco koncentrace

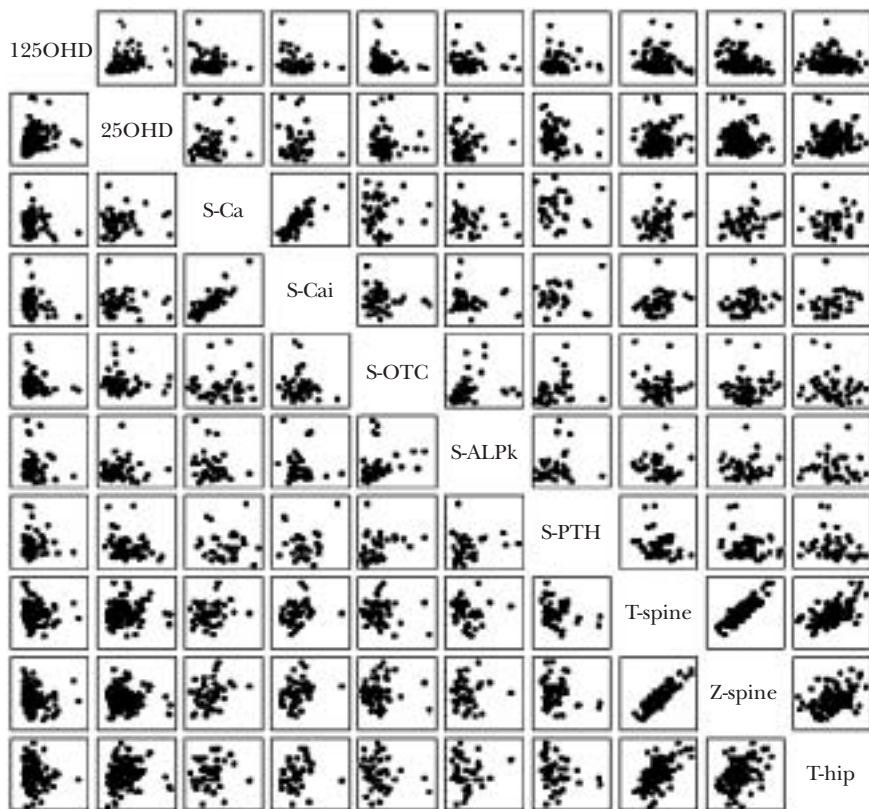
1,25 OHD bývají změněny při selhání 1-alfa hydroxylace v ledvinách. Role 1,25 OHD u osteoporózy není zatím jasně definována, proto jsme zvolili právě tento aktivní metabolit (odpovědný za biologický efekt vitamínu D v organismu) ke zjištění jeho vztahu k hodnotám kostní denzity a ostatním faktorům. Studie s užitím vitamínu D v léčbě postmenopauzální osteoporózy nemají tak jednoznačné výsledky, jako studie s jinými (antiresorpčními) léky [1,2].

Cílem předkládané retrospektivní studie je zjistit vztah koncentrace 1,25 OHD a 25 OHD k některým biochemickým ukazatelům kostního metabolismu a ke kostní hustotě (BMD), vyjádřené jako T-score u postmenopauzálních žen. T-score bylo zvoleno jako ukazatel, nepřímo vyjadřující „absolutní“, na věku nezávislou hodnotu denzity kostního minerálu.

Některé práce popisují ve vztahu k nedostatku vápníku a vitamínu D stav deficiencie nebo insuficience. Deficience vede vždy ke klinické manifestaci choroby (v případě vitamínu D u dospělých osteomalacie, kdy dochází k poškození mineralizace kosti), zatímco při přísunu kalcia a vitamínu D, které lze označit jako insuficientní, může kostní choroba zůstat v subklinickém stadiu [3]. Zmíněná práce označuje jako „deficiency“ sérovou koncentraci 25 OHD 0–5 ng/ml a jako „insufficiency“ koncentraci 5–30 ng/ml 25 OHD.

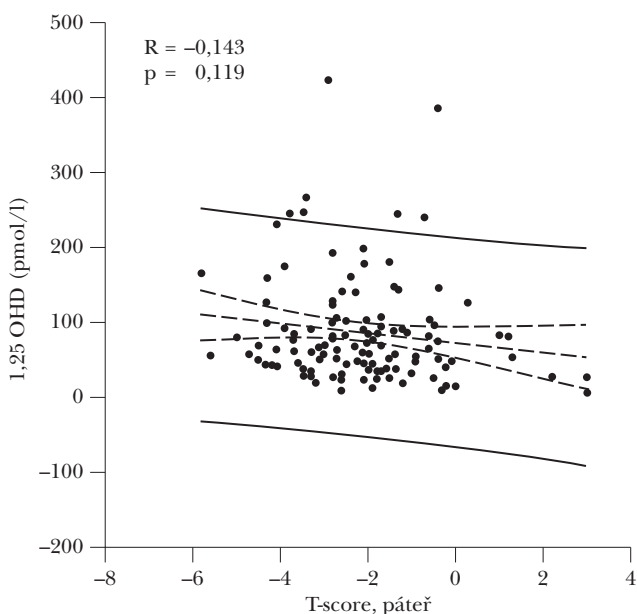
Graf 1

Vztahy (korelace) sledovaných biochemických a denzitometrických vyšetření



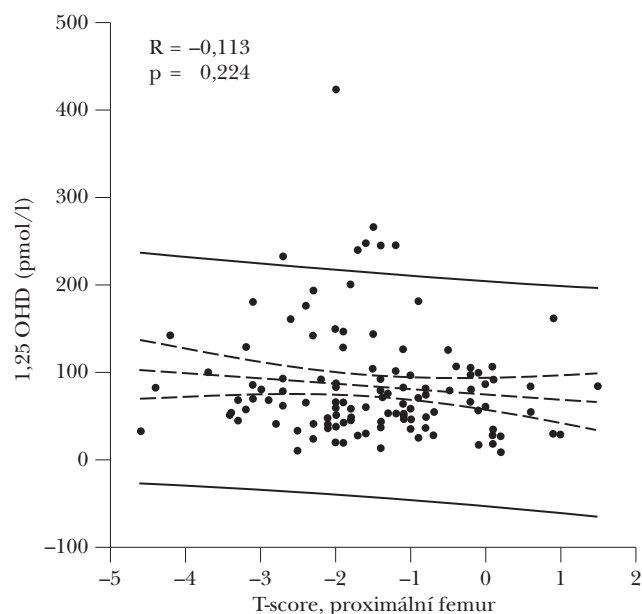
Graf 2

Vztah mezi koncentrací 1,25 OHD a T-score v oblasti bederní páteře



Graf 3

Vztah mezi koncentrací 1,25 OHD a T-score v oblasti proximálního femoru



Materiál a metodiky

Do studie bylo zařazeno 157 postmenopauzálních žen kavkazské etnické skupiny (věk 38–79 let), u kterých bylo postupně v kalendářním roce 2003 a 2004 v Osteocentru Fakultní nemocnice Hradec Králové provedeno současně vyšetření vitamínu D a stanovení denzity kostního minerálu (bone mineral density – BMD) v oblasti L páteře a proximálního femoru. Jiná výběrová kritéria nebyla uplatněna, nejedná se o populační studii.

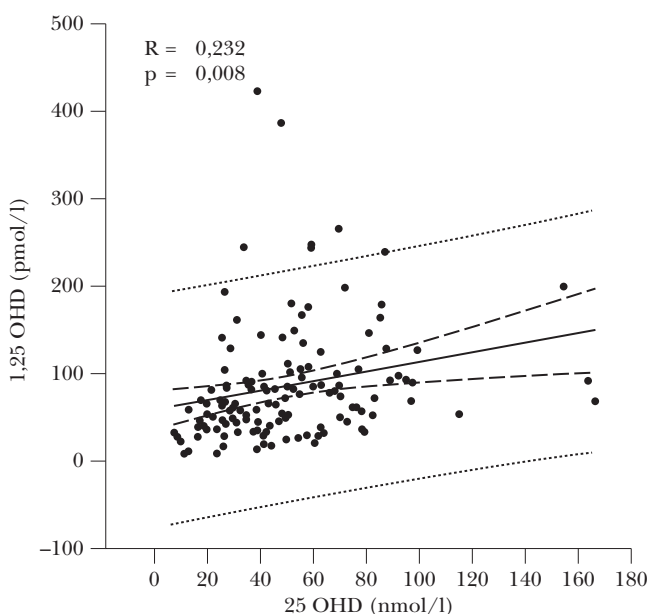
Pomocí statistického softwaru byly analyzovány korelace koncentrací 1,25 OHD, 25 OHD s výsledky denzitometrického vyšetření (vyjádřené jako T-score), ale i s dalšími biochemickými vyšetřeními, souvisejícími s metabolismem kostí: koncentrací cel-

kového a ionizovaného vápníku v séru, koncentrací osteokalcinu a parathormonu v séru a s aktivitou kostního izoenzymu alkalické fosfatázy.

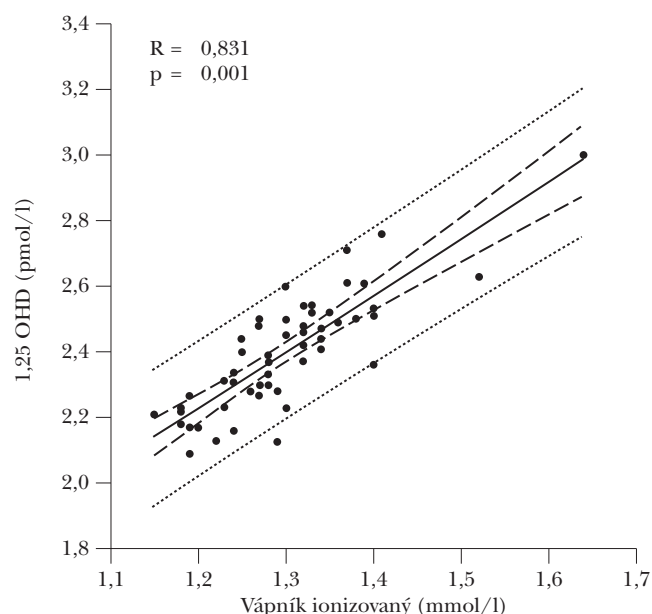
Soubor pacientek byl rovněž rozdělen na dvě skupiny podle koncentrace 1,25 dihydroxyvitamínu D: u skupiny s koncentrací 1,25 OHD vyšší než 60 pmol/l ($n = 86$) byly porovnány hodnoty BMD vyjádřené jako T-score v oblasti L páteře a proximálního femoru se skupinou pacientek s koncentrací 1,25 OHD nižší než 60 pmol/l ($n = 71$).

Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) vyšetření bylo provedeno na přístroji Hologic Delphi A (Hologic Inc., 590 Lincoln Street, Waltham, MA, USA). Vyšetření bylo prováděno v oblasti

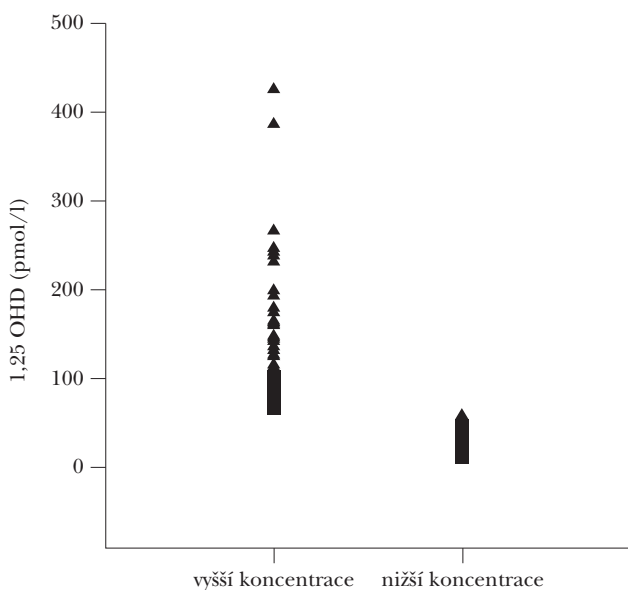
Graf 4
Vztah mezi koncentrací 1,25 dihydroxyvitamínu D
a 25 hydroxyvitamínu D



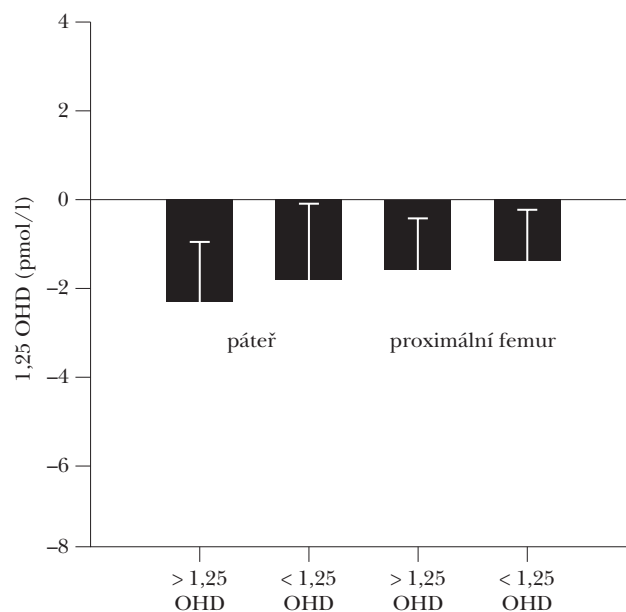
Graf 5
Vztah koncentrací celkového a ionizovaného vápníku



Graf 6
Koncentrace 1,25 dihydroxyvitamínu D rozdělené na koncentrace
vyšší než 60 pmol/l a nižší než 60 pmol/l



Graf 7
Porovnání T-score pacientů s nižšími a vyššími koncentracemi
1,25 OHD



(region of interest – ROI) bederních obratlů L1 – L4 páteře a v oblasti proximálního femuru (neck, intertrochanterická oblast, trochanter), k hodnocení byly použity výsledky vyšetření celých uvedených ROI (total), vyjádřené jako T-score.

Vzorky séra byly vždy odebrány ráno po celonočním lačnění.

Metodou RIA byl stanoven 1,25 dihydroxyvitamin D pomocí setu Gamma-B 1,25-Dihydroxy Vitamin D RIA firmy Immunodiagnostic Systems Limited, Boldon, UK. Referenční rozmezí je 43–150 pmol/l.

Metodou RIA byl stanoven 25 hydroxyvitamin D pomocí setu Gamma-B 25 hydroxy Vitamin D RIA firmy Immunodiagnostic Systems Limited, Boldon, UK. Referenční rozmezí je 23–113 nmol/l.

Koncentrace ionizovaného vápníku v séru byla stanovena iontově selektivní elektrodou na analyzátoru NOVA 8 Biomedical (Waltham, MA, USA). Referenční rozmezí je 0,90–1,30 mmol/l.

Koncentrace celkového vápníku byla stanovena na přístroji Modular Roche (Mannheim, Germany) setem (Roche) s využitím o-cresolphthalein complexonu. Referenční rozmezí je 2,17–2,65 mmol/l.

Koncentrace osteokalcinu v séru pacientek byla stanovena metodou imunoeese setem N-MID Osteocalcin na přístroji Modular Roche E 170 (Mannheim, Germany). Referenční rozmezí u postmenopauzálních žen je 9,5–48,3 µg/l.

Koncentrace parathormonu v séru byla stanovena setem IMMULITE 2000 Intact PTH (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) imunoesej s chemiluminiscenční detekcí na přístroji IMMULITE 2000 DPC. Referenční rozmezí je 0,9–8,0 pmol/l.

Aktivita kostního izoenzymu alkalické fosfatázy (bone-specific alkaline phosphatase BAP) v séru byla stanovena pomocí setu METRA BAP EIA kit (Quidel Corporation, San Diego, CA, USA). Referenční rozmezí je u žen 25–55 let je 0,19–0,51 µkat/l, 55 let a více 0,25–0,72 µkat/l.

Statistické zpracování výsledků bylo provedeno pomocí softwaru SigmaStat 3.1 (Jandel Scientific Corporation, San Rafael, Ca, USA). Použity byly testy: nepárový t-test, One way ANOVA, Pearson Correlation a lineární regrese.

Výsledky

Z přehledného grafu je patrné, že nebyla prokázána korelace mezi sledovanými biochemickými parametry (vyšetřeními) a denzitou kostní tkáně vyjádřené jako T-score. Korelace byla prokázána pouze mezi celkovým a ionizovaným vápníkem a T-score a Z-score jedné oblasti (zde je však závislost dána zřejmou – definovanou – matematickou závislostí – graf 1).

U 157 vyšetřovaných pacientek nebyla prokázána korelace mezi koncentrací 1,25 OHD a T-Score v oblasti bederní páteře (korelační koeficient = –0,143, $p = 0,119$ – graf 2). Obdobně nebyla prokázána korelace mezi koncentrací 1,25 OHD a T-score v oblasti proximálního femuru (korelační koeficient = –0,113, $p = 0,224$ – graf 3). Statisticky významná závislost (korelace) byla prokázána mezi jednotlivými vyšetřovanými metabolity vitaminu D – 1,25 OHD a 25 OHD (korelační koeficient = 0,232, $p = 0,008$ – graf 4). Poměrně těsná korelace byla prokázána mezi koncentrací celkového a ionizovaného vápníku (korelační koeficient 0,831, $p = 0,001$).

Pro další část statistického zpracování byl soubor pacientek rozdělen na dvě skupiny podle koncentrace 1,25 OHD: na skupinu s koncentrací 1,25 OHD vyšší než 60 pmol/l ($n = 86$) a skupinu pacientek s koncentrací 1,25 OHD nižší než 60 pmol/l ($n = 71$). U těchto dvou skupin byly porovnány hodnoty BMD vyjádřené jako T-score (ROI = total) v oblasti L páteře a proximálního femuru.

Graf 6 přehledně ukazuje rozdělení koncentrací 1,25 OHD u skupiny pacientek s koncentrací nad 60 pmol/l (levá část grafu) a u skupiny pacientek s koncentrací pod 60 pmol/l (pravá část grafu). Porovnáním T-score pacientek s nižšími a vyššími koncentracemi 1,25 OHD nebyly zjištěny signifikantní rozdíly jak v oblasti

páteře (levá část grafu), tak v oblasti proximálního femuru (pravá část grafu) (graf 7).

Diskuse

Jak již bylo řečeno, nedostatek vitaminu D může mít mírný (insufficiency) nebo závažnější charakter (deficiency). V naší studii byly zařazeny do hodnocení bez výběru všechny koncentrace vitaminu 1,25 OHD a 25 OHD, a proto zřejmě nebyly zaznamenány vztahy (korelace), které jsou zřejmé spíše v krajních hodnotách poklesu koncentrací vitaminu D (deficiency). Naopak bylo prokázáno, že fyziologické „běžné“ koncentrace 1,25 OHD a 25 OHD nemají vztah (nevykazují korelaci) i k parametřům, kde je tento vztah jednoznačně akceptován. V organismu je obvykle bez problémů kompenzováno mírné snížení koncentrací vitaminu D a kalcia, takže pouze významně patologické hodnoty jsou klinicky signifikantní.

Z hodnocení výsledků vyplývá, že nelze stanovit jednoznačnou preferenci mezi stanovením 1,25 OHD a 25 OHD. Každé z těchto stanovení má svou klinickou hodnotu tak, jak to vyplývá z metabolismu vitaminu D.

Budak a spol. [4] udávají, že plasmatická koncentrace 25 OHD může pozitivně korelovat s BMD u postmenopauzálních žen. Ve vlastní studii u mladých dívek s různou expozicí slunečnímu záření v důsledku odlišností v odívání z náboženských důvodů sice autoři zjistili nižší koncentrace 25 OHD u skupiny dívek s nižším stupněm oslnění, ale nezjistili rozdíly v kostní denzitě (BMD) měřené metodou DXA mezi oběma skupinami. Zajímavostí je však zjištění korelace mezi koncentrací 25 OHD a BMD u skupiny dívek s běžným způsobem odívání, a tedy i oslnění. K obdobným výsledkům dospěli i Hatun a spolupracovníci [5]. Některé práce naznačují, že přímý vztah (korelace) mezi koncentrací vitaminu D a BMD existuje za některých patologických stavů (např. *lupus erythematosus* nebo nefrotický syndrom), kde však vstupují do hry i další faktory, zejména postižení ledvin, které pravděpodobně znemožňují kompenzaci samotného nedostatku vitaminu D [6,7].

Naše výsledky neprokazují žádný vztah mezi koncentrací jak 25 OHD, tak i 1,25 OHD ke kostní denzitě měřené metodou DEXA a vyjádřené jako T-score u postmenopauzálních žen. Neprokázali jsme však ani korelaci s jinými biochemickými vyšetřeními, která mají vztah ke kostnímu metabolismu (celkový a ionizovaný vápník, osteocalcin, BAP). Rozdělení pacientek na dvě skupiny podle empiricky určené koncentrace vitaminu 1,25 OHD (60 pmol/l) na skupinu s koncentrací nižší a vyšší a následné porovnání T-score v oblasti páteře a proximálního femuru rovněž nevedlo ke zjištění signifikantních rozdílů, což je ovšem ve shodě s nálezem, že hodnoty spolu nekorelují. Postmenopauzální osteoporóza není primárně onemocněním, které by bylo způsobeno deficitem vitaminu D. To také považujeme za základní faktor, který vedl ke zjištění nedostatku korelace mezi koncentrací vitaminu D a ostatními sledovanými parametry.

Závěry:

1. Nebyla prokázána korelace mezi koncentrací 1,25 OHD a T-score v oblasti bederní páteře (korelační koeficient = –0,143, $p = 0,119$).
2. Nebyla prokázána korelace mezi koncentrací 1,25 OHD a T-score v oblasti proximálního femuru (korelační koeficient = –0,113, $p = 0,224$).
3. Statisticky významná závislost (korelace) byla prokázána mezi jednotlivými vyšetřovanými metabolity vitaminu D 1,25 OHD a 25 OHD (korelační koeficient = 0,232, $p = 0,008$).
4. Porovnáním T-score pacientek s nižšími a vyššími koncentracemi 1,25 OHD nebyly zjištěny signifikantní rozdíly jak v oblasti páteře, tak v oblasti proximálního femuru.

Práce byla podpořena Výzkumným záměrem MZO 00179906.

Zkratky:

vitamin D binding protein
 25- hydroxyvitamin D
 1,25 dihydroxyvitamin D
 denzita minerálního minerálu
 (bone mineral density
 region of interest

– (VDBP)
 – (25 OHD)
 – (1,25 OHD)
 – BMD
 – ROI

Literatura:

1. Reginster JY, Lecart MP, Richy F. Importance of alfacalcidol in clinical conditions characterized by high rate of bone loss, *J Rheumatol Suppl* 2005;76:21–25.
2. Orimo H, Schacht E. The D-hormone analog alfacalcidol: the pioneer beyond the horizon of osteoporosis treatment, *J Rheumatol Suppl* 2005;76:4–10.
3. Peacock M. Effect of calcium and vitamin D insufficiency on the skeleton, *Osteoporosis International* 1998;8:S45–S51.
4. Budak N, Cicek B, Sahin H, Tutus A. Bone mineral density and serum 25-hydroxyvitamin D level: is there any difference according to dressing style of the female university students? *Int J Food Sci Nutr* 2004;55:569–575.
5. Hatun S, Islam O, Cizmecioglu F, Kara B, Babaoglu K, Berk F, Tokalo AS. Sub-clinical vitamin D deficiency is increased in adolescent girls who wear concealing clothing. *J Nutr* 2005;135:218–222.
6. Bultink IE, Lems WF, Kostense PJ, Dijkman BA, Voskuyl AE. Prevalence of and risk factors for low bone mineral density and vertebral fractures in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005;55:2044–2050.
7. Gulati S, Sharma RK, Gulati K, Singh U, Srivastava A. Longitudinal follow-up of bone mineral density in children with nephrotic syndrome and the role of calcium and vitamin D supplements. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:1598–1603.