

Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України
Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України

Рекомендовано до друку
Вченою радою Інституту
біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України
протокол № 10 від 16.06.2026

Голова Вченої ради
акад. Сергій КОМІСАРЕНКО



ДОСЛІДЖЕННЯ D-ВІТАМІННОГО СТАТУСУ ОРГАНІЗМУ В НОРМІ ТА ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Методичні рекомендації

Київ – 2026
Тернопіль – ТНМУ – 2026

УДК 577.161.2:612.015.6+57.083.3

Д70

Установа розробник: Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України

Автори:

М. М. Великий, І. О. Шиманський, А. В. Хоменко, М. М. Корда,
П. Г. Лихацький, С. В. Комісаренко

Рецензенти:

*Комісаренко Юлія Ігорівна, лікар-ендокринолог, доктор медичних наук, професор.
Яніцька Леся Василівна, кандидат біологічних наук, доцент.*

Дослідження D-вітамінного статусу організму в нормі та за експериментальної патології : метод. рек. / [М. М. Великий, І. О. Шиманський, А. В. Хоменко та ін.]. – Тернопіль : ТНМУ, 2026. – 52 с.

ISBN 978-966-673-549-5

Методичні рекомендації присвячені аналізу проблеми дефіциту вітаміну D₃ у різних популяціях населення, його моніторингу та засобів подолання. Проаналізовано шляхи біотрансформації холекальциферолу та клітинно-молекулярні механізми дії. Детально розглянуто зв'язок вітамін D₃ дефіцитного стану з розвитком ряду поширених хронічних захворювань людини. Особливий практичний інтерес складає запропонований авторами діагностичний алгоритм визначення методом імуноензимного аналізу (ELISA) вмісту 25(OH)D₃ у сироватці крові – загальноприйнятого маркеру забезпеченості організму вітаміном D₃. Матеріал рекомендацій буде корисним студентам-магістрам, аспірантам, викладачам та науковим працівникам при виконанні експериментальних та клінічних досліджень.

УДК 577.161.2:612.015.6+57.083.3

**Рекомендації підготовлено за підтримки Національного Фонду
Досліджень України (проект НФДУ № 2023.03/0222).**

Рекомендовано до друку Вченою радою Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна
НАН України (протокол № 10 від 16.06.2026)
та навчально-методичною комісією кафедри Біологія Інституту біохімії
ім. О. В. Палладіна НАН України (протокол № 4 від 15.06.2026).

© М. М. Великий, І. О. Шиманський,
А. В. Хоменко та ін., 2026
© ТНМУ, «Укрмедкнига», 2026

ISBN 978-966-673-549-5

Зміст

Перелік умовних скорочень	4
Вступ.....	5
1. Дефіцит вітаміну D ₃ – світова пандемія.....	7
1.1. Глобальний характер дефіциту вітаміну D ₃	7
1.2. Епідеміологічна ситуація та фактори ризику в Україні	8
1.3. Критерії діагностики, стратегії профілактики та корекції дефіциту вітаміну D ₃ : вітчизняні інноваційні розробки	11
2. Шляхи утворення, активування та катаболізму вітаміну D ₃ в організмі	15
3. Молекулярні механізми геномної та епігенетичної дії вітаміну D ₃	18
4. Клінічне значення скелетних та позаскелетних ефектів вітаміну D ₃	23
4.1. Регулювання кальцій-фосфатного обміну та мінералізації кісткової тканини	23
4.2. Позаскелетні ефекти вітаміну D ₃ : імунна система та автоімунні захворювання	30
4.3. Інфекційні захворювання	31
4.4. Цукровий діабет (ЦД 1 та 2 типів) та його системні ускладнення	33
4.5. Центральна нервова система (ЦНС) та когнітивні функції ...	36
4.6. Серцево-судинні та онкологічні захворювання	39
5. Методи визначення вмісту 25(OH)D ₃ у сироватці крові	41
5.1. Імуноензимний аналіз (ELISA) вмісту 25(OH)D ₃ – 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові	44
5.2. Порівняльний аналіз вмісту 25(OH)D ₃ у сироватці крові в нормі та за патологічних станів	48
Узагальнення	50
Перелік рекомендованої літератури	51



Перелік умовних скорочень

АПЕ – ангіотензинперетворювальний ензим;
ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр;
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція;
ПТГ – паратиреоїдний гормон;
ЦД – цукровий діабет (ЦД 1 та 2 типів);
ЦНС – центральна нервова система;
25(OH)D₃ – 25-гідроксिवітамін D₃ (кальцидіол);
1α,25(OH)2D₃ – 1α,25-дигідроксивітамін D₃ (кальцитріол);
АТФ – аденозинтрифосфат;
сАМР – циклічний аденозинмонофосфат;
COVID-19 – коронавірусна хвороба 2019 року;
СYP (у каскадах СYP-450, СYP24A1, СYP27A1, СYP2R1) – цитохром P450 (родина ферум-вмісних ензимів-гідроксилаз);
HIF-1α – фактор, індукований гіпоксією 1-альфа;
IL (IL-1β, IL-2, IL-10, IL-17, IL-17A, IL-17F, IL-21) – інтерлейкіни;
IR – інсуліновий рецептор;
MARRS – мембранно-асоційований протеїн швидкого реагування на зв'язування стероїдів;
NF-κB – ядерний фактор каппа В (фактор транскрипції В-клітин);
OPG – остеопротегерин;
PDIA3 – протеїндисульфідна ізомераза А3;
PERK – PKR-подібна кіназа ендоплазматичного ретикулуму;
PI3K – фосфатидилінозитол-3-кіназа;
PPAR-γ/PPAR-γ2 – ядерні рецептори, що активовані проліфератором пероксисом (гамма-ізоформи);
RANK – рецептор-активатор ядерного фактора каппа В;
RANKL – ліганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа В;
RXR – ретиноїдний X-рецептор;
SARS-CoV-2 – тяжкий гострий респіраторний синдром-коронавірус-2;
TLR – Toll-подібні рецептори;
TNF-α – фактор некрозу пухлин-альфа;
VDBP – вітамін-D-зв'язувальний протеїн плазми крові;
VDR – ядерний рецептор вітаміну D₃;
VDRm – мембранна фракція рецептора вітаміну D₃;
VDREs – вітамін-D-чутливі елементи в структурі ДНК;
Wnt/β-catenin – сигнальний шлях Wnt (походить від злиття назв генів Wingless та Int-1)/бета-катенін.

Вступ

Вперше ідентифікований на початку 20 століття, вітамін D_3 продовжує залишатись у центрі уваги науковців, а інтерес до вивчення метаболізму та біологічної ролі цієї унікальної сполуки не згасає, оскільки щороку з'являються тисячі нових наукових публікацій. Винятковою властивістю даного вітаміну, як незамінного компонента життєдіяльності, є його здатність ендогенно синтезуватись в організмі людини під дією сонячного світла. Існують дві основні форми вітаміну: вітамін D_2 (ергокальциферол) та вітамін D_3 (холекальциферол), власне який у процесі подальшої біотрансформації набуває гормональної активності.

Найбільш вивченою є роль вітаміну D_3 в ремоделюванні кісткової тканини, регулюванні гомеостазу кальцію і фосфатів, їхньої абсорбції в кишечнику та реабсорбції в ниркових канальцях. Водночас його гормональна форма через залучення геномних та негеномних механізмів забезпечує контроль клітинних функцій, включаючи проліферування, диференціювання, перебіг клітинного циклу та апоптоз. Плейотропні ефекти вітаміну D_3 реалізуються за участю ензимів його метаболізму, рецепторів вітаміну D_3 (VDR) та ключових сигнальних шляхів. Експресія VDR та 1α -гідроксилази (CYP27B1) у більшості позаниркових клітин організму зумовлює їхнє безпосереднє залучення до регулювання імунної системи, нейрональної активності, кардіоваскулярного здоров'я, функціонування органів ендокринної та репродуктивної систем й метаболічного гомеостазу тканин.

Дефіцит вітаміну D_3 на сьогодні розглядається як універсальний чинник ризику розвитку мультифакторних захворювань. Встановлено чітку кореляцію між нестачею цієї сполуки в окремих популяціях населення та поширеністю хронічних запальних, алергічних, автоімунних, нейродегенеративних, серцево-судинних, інфекційних та неопластичних патологій. Одночасно продемонстровано позитивний вплив додаткового



вживання холекальциферолу до досягнення його оптимального рівня в організмі на зниження ризику розвитку зазначених нозологій.

Зважаючи на пандемічні прояви гіповітамінозу серед населення різних країн світу і, зокрема в Україні, що може суттєво обтяжувати перебіг багатьох хронічних захворювань, вкрай важливо сприяти підвищенню обізнаності суспільства щодо необхідності регулярного моніторингу та підтримання оптимального рівня $25(\text{OH})\text{D}_3$. Матеріал рекомендацій слугуватиме методичним посібником при виконанні наукових досліджень студентами магістеріуму, аспірантами, викладачами та науковими працівниками закладів вищої освіти та наукових установ.

1. Дефіцит вітаміну D₃ – світова пандемія

1.1. Глобальний характер дефіциту вітаміну D₃

Дефіцит вітаміну D₃ наразі визнано глобальною проблемою охорони здоров'я, яка за масштабами поширення набула характеру неінфекційної пандемії. Цей стан реєструють у всіх вікових групах незалежно від географічного розташування та економічного розвитку країн. Висока частота гіповітамінозу D₃ зумовлює необхідність уніфікації підходів до його діагностики, профілактики та лікування як на міжнародному рівні, так і в межах національних стратегій охорони здоров'я. У 2011 році Комітет з розробки клінічних настанов Міжнародної асоціації ендокринологів запропонував розглядати дефіцит вітаміну D₃ у дітей та дорослих як клінічний синдром, зумовлений низьким рівнем 25-гідроксивітаміну D₃ (25(OH)D₃) у сироватці крові. На сьогодні згідно з МКХ-11 (Міжнародна класифікація хвороб 11-го перегляду, прийнята ВООЗ) недостатність вітаміну D класифікують у рубриці E55 (Недостатність вітаміну D, що включає остеомалачію у дорослих, остеопороз та наслідки рахіту) та рубриці E55.9 (Недостатність вітаміну D, неуточнена. Авітаміноз D).

Результати численних досліджень переконливо свідчать про глобальне поширення дефіциту вітаміну D₃ у світі. Його частота варіює залежно від країни проживання, віку та статі обстежених, пори року, а також наявності й характеру супутньої патології. Дані останніх років демонструють, що загалом у світі дефіцит вітаміну D₃ виявляють приблизно у 37 % населення. Найнижчим цей показник є в США (18 %), тоді як у країнах Європи він досягає 40 %, а в Африці – 34 %. Одні з найвищих рівнів дефіциту зафіксовано в Ірані та Йорданії (до 90 %), а найнижчі – у Гані та на Сейшельських Островах (<7 %). Серед населення Північної Європи дефіцит вітаміну D₃ зустрічається приблизно у 20 % осіб, тоді як у Західній, Південній та Східній Європі цей показник становить 30–60 %. На рисунку 1 графічно відображено відсоток загальної популяції та вагітних жінок у різних країнах

світу, рівень вітаміну D_3 у крові яких відповідає нормі: вміст $25(OH)D_3$ становить понад 20 нг/мл (50 нмоль/л).

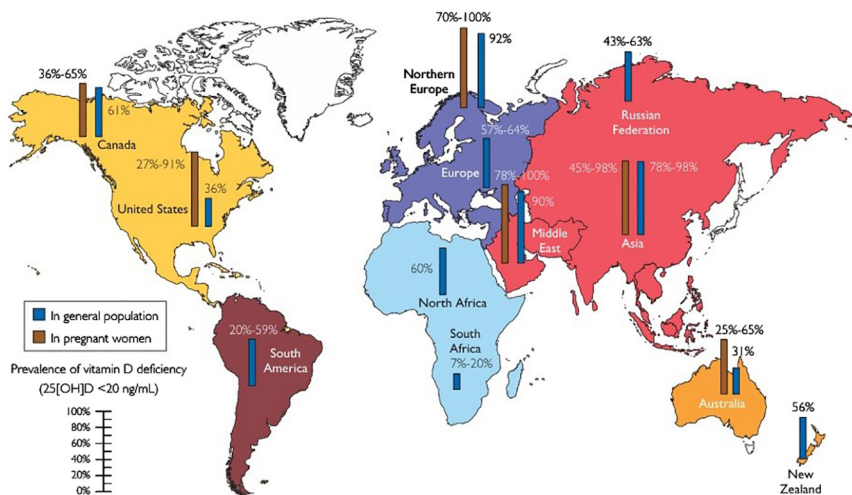


Рис. 1. Забезпеченість вітаміном D_3 у загальній популяції та у вагітних жінок різних країн світу. Графічно позначено відсоток людей, рівень $25(OH)D_3$ в крові яких становить понад 20 нг/мл (50 нмоль/л), що відповідає нормальному забезпеченню.

1.2. Епідеміологічна ситуація та фактори ризику в Україні

Протягом останніх десятиліть в Україні під керівництвом професора В. В. Поворознюка, керівника Українського відділу EVIDAS (Європейської асоціації з вивчення вітаміну D_3) та професора Н. В. Григор'євої, проведено низку епідеміологічних досліджень щодо статусу вітаміну D_3 у населення. Перше масштабне епідеміологічне дослідження за участю 1575 осіб віком 20–89 років із різних регіонів країни виявило значну частку (81,8 %) дефіциту вітаміну D_3 в українській популяції. Нормальний рівень $25(OH)D_3$ у крові встановлено лише у 4,6 % обстежених, а недостатність вітаміну D_3 – у 13,6 %. Середній рівень $25(OH)D_3$ у крові становив 34,49 нмоль/л (13,80 нг/мл).

Наступне масштабне епідеміологічне дослідження, опубліковане у 2017 році, охоплювало 3460 осіб віком 10–92 роки з патологією кістково-м'язової системи. Його результати засвідчили вищі показники забезпеченості вітаміном D_3 порівняно з попередніми даними (середній рівень $25(OH)D_3$ становив 26,2 нг/мл), що супроводжувалося зменшенням частки дефіциту до 37,3 % та недостатності до 30,6 %. Динаміку до покращення епідеміологічної ситуації підтвердило й подальше дослідження статусу вітаміну D_3 за участю 8426 дорослих осіб віком 20–99 років, обстежених у період із 2016 по 2022 рік. У цій когорті зареєстровано зростання середньої концентрації $25(OH)D_3$ у сироватці крові до 30,9 нг/мл порівняно з результатами двох попередніх досліджень. Крім того, меншою була частка недостатності (27,4 %) та дефіциту (19,9 %) вітаміну D_3 .

Значну частку дефіциту вітаміну D_3 підтвердили й регіональні українські дослідження, проведені на Буковині, Прикарпатті та Закарпатті. Зокрема, аналіз рівня $25(OH)D_3$ у 482 осіб віком 18–88 років виявив нормальний статус забезпеченості лише у 7,7 % обстежених, тоді як в інших випадках спостерігалися його дефіцит (46,9 %) або недостатність (45,4 %) при середньому рівні 21,6 нг/мл. В іншому регіональному дослідженні за участю 1823 дітей та дорослих середній рівень $25(OH)D_3$ становив 22,3 нг/мл у жінок та 25,8 нг/мл у чоловіків.

Окремий науковий інтерес становить аналіз статусу вітаміну D_3 в українській популяції під час пандемії COVID-19 у 2020–2021 роках, який виявив достовірно вищі рівні $25(OH)D_3$ (36,8 нг/мл у 2020 році та 35,0 нг/мл у 2021 році) у порівнянні з попередніми роками. Проте в усіх проведених в Україні дослідженнях продемонстровано достовірну залежність показників рівня $25(OH)D_3$ від віку обстежених із найнижчими значеннями у старшій когорті пацієнтів.

Крім того, надійно верифіковано сезонну циклічність D_3 -вітамінного статусу з найвищими показниками наприкінці літа та на початку осені й найнижчими – наприкінці зими та на початку



весни. Водночас накопичено достатньо даних щодо підвищення частоти гіповітамінозу в осіб із надмірною масою тіла, метаболічним синдромом та темною пігментацією шкіри. Зростання поширеності дефіциту відзначають також за наявності метаболічних захворювань кісткової тканини, інфекційної та автоімунної патології (зокрема запальних захворювань кишечника й ревматичних хвороб), порушень ендокринної системи (цукрового діабету 1 типу, уражень щитоподібної залози тощо), а також захворювань серцево-судинної і нервової систем та нирок. Високий ризик нестачі нутрієнта фіксують у разі онкологічних процесів та за тривалого прийому лікарських засобів із негативним впливом на його метаболізм, що патогенетично асоціюється з підвищенням смертності від різних причин. Тому визначення сироваткового рівня $25(\text{OH})\text{D}_3$ у зазначених категорій пацієнтів є цілком доцільним з метою проведення ефективної профілактики та лікування гіповітамінозу.

Таким чином, узагальнені результати багаторічних вітчизняних досліджень дозволяють виділити ключові чинники, які зумовлюють високу поширеність гіповітамінозу D_3 в Україні та вимагають особливої уваги в клінічній практиці. По-перше, чітко верифіковано ендемічні та демографічні фактори ризику, серед яких провідне місце посідає вік (із закономірним зниженням рівня $25(\text{OH})\text{D}_3$ у старших вікових групах) та наявність коморбідної патології (надмірна маса тіла, метаболічний синдром, ендокринні, автоімунні, серцево-судинні хвороби й хронічні ураження нирок). По-друге, суттєвий вплив мають екзогенні фактори, зокрема виражена сезонна циклічність із критичним падінням сироваткового рівня вітаміну наприкінці зими та на початку весни через брак інсоляції. Визначення цих цільових груп і врахування клініко-сезонних чинників є підґрунтям для розробки стратегії індивідуального моніторингу та своєчасного скринінгу населення.

Оскільки дефіцит та недостатність вітаміну D_3 серед дітей та дорослого населення України є надзвичайно поширеними, не-

обхідно постійно підвищувати обізнаність громадськості та медичного персоналу щодо його скелетних і позаскелетних ефектів. Особливу увагу слід приділяти виділенню груп ризику, які потребують скринінгу та моніторингу рівня $25(\text{OH})\text{D}_3$, а також застосуванню адекватних доз і схем для профілактики й лікування цього патологічного стану.

1.3. Критерії діагностики, стратегії профілактики та корекції дефіциту вітаміну D_3 : вітчизняні інноваційні розробки

Ефективне управління проблемою гіповітамінозу D_3 у клінічній практиці вимагає чіткого алгоритму дій, який починається з об'єктивної лабораторної оцінки статусу пацієнта і завершується підбором індивідуальної схеми терапії. Своєчасна диференціювання ступеня дефіциту та призначення адекватних профілактичних або лікувальних доз холекальциферолу є основою для успішного відновлення здоров'я пацієнта. Важливу роль у реалізації цих стратегій відіграють також новітні досягнення вітчизняної фармакологічної науки, які пропонують високоефективні рішення для підвищення біодоступності вітаміну D_3 .

Для оцінки критеріїв забезпеченості організму вітаміном D_3 як надійний лабораторний маркер рекомендовано використовувати рівень загального 25-гідроксивітаміну D_3 ($25(\text{OH})\text{D}_3$) у сироватці крові (табл. 1). Згідно з сучасними настановами, вміст маркера менше 20 нг/мл (50 нмоль/л) визначають як дефіцит вітаміну D_3 . Показники від 20 нг/мл (50 нмоль/л) до 30 нг/мл (75 нмоль/л) класифікують як недостатність, тоді як концентрація в межах 30–50 нг/мл (75–125 нмоль/л) свідчить про достатню забезпеченість вітаміном D_3 . Рівень понад 50–60 нг/мл (більше 125–150 нмоль/л) вважається безпечним, але не є цільовим. Значення в діапазоні від 60 до 100 нг/мл (від 150 до 250 нмоль/л) відносять до зони невизначеності з потенційними перевагами чи ризиками, а показники понад 100 нг/мл (більше 250 нмоль/л) вказують на надлишок і зону токсичності вітаміну D_3 .

Таблиця 1. Критерії забезпеченості організму вітаміном D₃ за вмістом 25(OH)D₃ у сироватці крові (нг/мл та нмоль/л)

< 20 нг/мл (< 50 нмоль/л)	Дефіцит вітаміну D ₃
≥ 20 нг/мл (≥ 50 нмоль/л) однак < 30 нг/мл (< 75 нмоль/л)	Недостатня забезпеченість вітаміном D ₃
30–50 нг/мл (75–125 нмоль/л)	Оптимальний рівень вітаміну D₃
50–60 нг/мл (125–150 нмоль/л)	Безпечний, але не цільовий рівень вітаміну D ₃
60–100 нг/мл (150–250 нмоль/л)	Зона невизначеності з потенційними перевагами чи ризиками
> 100 нг/мл (> 250 нмоль/л)	Зона токсичності вітаміну D ₃

Зважаючи на те, що вітамін D₃ надходить в організм із їжею та синтезується в шкірі, збалансоване харчування й здоровий спосіб життя з належним рівнем фізичного навантаження (зокрема для профілактики ожиріння) та регулярне перебування на відкритому повітрі є важливими стратегіями запобігання D₃-гіповітамінозу. Доцільність призначення профілактичних заходів щодо вітаміну D₃ у дорослих визначається сезоном, а також віком, масою тіла, харчовими уподобаннями, режимом життя та наявністю індивідуальних факторів ризику. Для корекції цього стану найчастіше використовують дві форми – вітамін D₂ (ергокальциферол) та вітамін D₃ (холекальциферол). Сучасні рандомізовані клінічні дослідження та проведені метааналізи підтверджують вищу ефективність саме вітаміну D₃, що зумовлено його більшою спорідненістю до вітамін-D-зв'язувального протеїну плазми крові, вищою швидкістю 25-гідроксилювання в печінці з наступним гідроксилюванням у нирках для утворення активних метаболітів, а також вищим коефіцієнтом біологічної активності.

Щодо рекомендованих підходів до застосування, то на сьогодні в Україні вітамін D₃ доступний переважно у пероральних формах (капсули, краплі, таблетки) із щоденним або щотижневим

вим режимом застосування. У світовій практиці використовуються й інші інтервали (щомісяця, щокварталу чи раз на пів року), проте більшість дослідників вважає саме щоденний та щотижневий прийом більш обґрунтованим порівняно з введенням великих болюсних доз. Конкретну лікарську форму слід підбирати індивідуально з урахуванням характеру харчування, функціонального стану шлунково-кишкового тракту, супутньої патології та для забезпечення високої прихильності пацієнта до рекомендацій.

Для здорових осіб дорослого віку без наявності захворювань та станів, які впливають на метаболізм холекальциферолу в організмі, рекомендовано прийом добавок вітаміну D₃ в осінньо-зимовий період (із жовтня по квітень) у дозі 800–2000 МО/добу (залежно від маси тіла) у зв'язку зі зниженням рівня синтезу ендogenous вітаміну в шкірі. Прийом вітаміну D₃ у дозі 800–2000 МО/добу протягом усього року рекомендований особам літнього віку, іммобілізованим пацієнтам, а також особам під час тривалої госпіталізації з обмеженням функціональної активності. Жінкам, які планують вагітність, рекомендовано розпочати прийом або продовжувати його у дозі 800–2000 МО/добу і приймати вітамін D₃ протягом усієї вагітності та в період лактації для забезпечення фізіологічних потреб матері й дитини.

Фармакокінетичні та динамічні дослідження демонструють, що щоденний прийом вітаміну D₃ у дозі 100 МО призводить до зростання сироваткового рівня 25(OH)D₃ у середньому на 1 нг/мл (2,5 нмоль/л), хоча на цей показник може істотно впливати низка екзогенних та ендogenous факторів. Корекцію дефіциту вітаміну D слід розпочинати за умови зниження концентрації 25(OH)D₃ у крові менше 20 нг/мл (менше 50 нмоль/л). Тривалість лікувального курсу становить від 4 до 12 тижнів залежно від тяжкості гіповітамінозу та наявності інших факторів ризику. Терапію проводять до досягнення цільового рівня 30–50 нг/мл (75–125 нмоль/л) з подальшим переходом на підтримувальні

дози в межах 800–2000 МО/день для забезпечення оптимального статусу вітаміну D₃ в організмі.

З метою профілактики дефіциту вітаміну D₃ та супровідної терапії різних видів патології, асоційованої з його недостатністю, співробітники Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України розробили кілька оригінальних вітамінних засобів. Зокрема, препарат «Відеїн» (комплекс холекальциферолу з протеїном молока казеїном) був успішно впроваджений у виробництво і випускався на Київському вітамінному заводі впродовж 1997–2006 років (рис. 2). Вітамін D₃ у складі цього засобу відзначається високою біодоступністю та терапевтичною ефективністю щодо стимулювання синтезу 25(OH)D₃ – ключового біомаркера забезпеченості організму. Дана форма сприяє підтриманню гомеостазу кальцію, процесам остеогенезу й ремоделювання кісткової тканини, а також регулює диференціювання та проліферування практично всіх типів клітин. Права розробника захищено патентом України на винахід № 91805 (2010 р.) та відповідним товарним знаком.



Рис. 2. Препарат «Відеїн» (комплекс вітаміну D₃ з протеїном молока казеїном).

Створення засобів, у яких вітаміни перебувають у зв'язаному з протеїнами стані, є інноваційним науковим рішенням. Вітчизняні препарати вітаміну D₃ («Відеїн», «Мікродевіт», «Кальмівіт») пройшли ретельну клінічну перевірку в межах супровідної терапії. Зокрема, їхню ефективність було вивчено у пацієнтів з ускладненнями цукрового діабету на кафедрі ендокринології

Національного медичного університету імені О. О. Богомольця під керівництвом доктора медичних наук Ю. І. Комісаренко. Крім того, дослідження за умов дефіциту вітаміну D_3 у вагітних жінок та новонароджених проводили в клініках ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології ім. академіка О. М. Лук'янової НАМН України», а у пацієнтів із порушеннями опорно-рухового апарату – в ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України».

2. Шляхи утворення, активування та катаболізму вітаміну D_3 в організмі

Вітамін D – група біологічно активних жиророзчинних сполук (що охоплює понад 6 вітамерів і 50 метаболітів), які утворюються в шкірі під дією короткохвильового ультрафіолетового випромінювання (довжина хвилі 290–315 нм) шляхом фотолізу, спочатку перетворюючись на превітамін D_3 , а потім під дією тепла – на вітамін D_3 . Швидкість фотосинтезу в шкірі становить $\sim 15\text{--}18 \text{ МО/см}^2/\text{год}$ і підлягає жорсткому ендогенному регулюванню. Крім того, вітамін D_3 потрапляє в організм людини з продуктами харчування.

Основними вітамерами групи вітаміну D є такі сполуки: D_1 (комплекс ергокальциферолу та люмістеролу у співвідношенні 1:1), D_2 (ергокальциферол або ергостерол), D_3 (холекальциферол), D_4 (2,2-дигідроергокальциферол), D_5 (ситокальциферол чи 7-дегідроситостерол) та D_6 (сигма-кальциферол). Найвищу біологічну активність виявляють вітаміни D_3 (холекальциферол) та D_2 (ергокальциферол). Гормонально активною формою вітаміну D_3 є $1\alpha,25\text{-дигідроксिवітамін } D_3$ ($1\alpha,25(\text{OH})_2D_3$; кальцитріол).

Вітамін D_3 (холекальциферол) переноситься в крові у зв'язаному з вітамін-транспортним протеїном стані (VDBP). Перетворення холекальциферолу на його гормонально активну форму – $1\alpha,25(\text{OH})_2D_3$ включає три основних етапи біотрансформації за участю родини ензимів-цитохромів (CYP-450). В печінці холекальциферол піддається гідроксилуванню за дії 25-гідроксилаз

CYP27A1 (мітохондрійна форма) та CYP2R1 (мікросомна форма) з утворенням 25-гідроксिवітаміну D₃, що є основною транспортною формою, а його вміст у крові є маркером ступеня забезпеченості організму вітаміном (рис. 3).

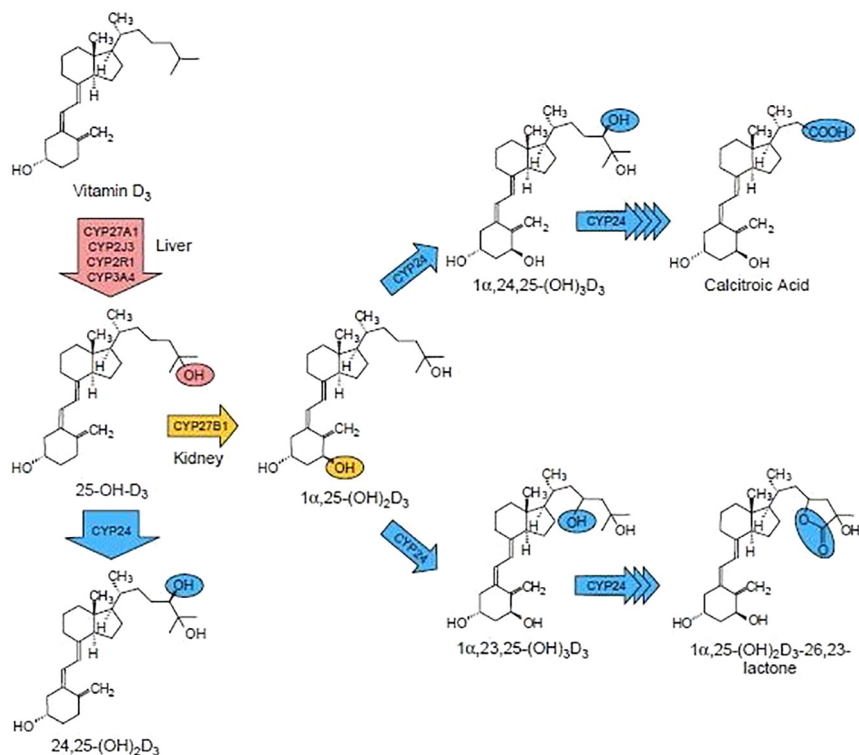


Рис. 3. Залучення процесів гідроксилювання за участю різних ізоформ ензимів-цитохромів (CYP-450) у біотрансформації вітаміну D₃.

Надалі в клітинах проксимальних відділів каналців кори нирок 25(OH)D₃ перетворюється на гормонально активну форму – 1,25-дигідроксिवітамін D₃ під дією ензиму 25(OH)D-1α-гідроксилази (CYP27B1). Синтез 1,25(OH)₂D₃ системно стимулює

ється паратиреоїдним гормоном (ПТГ) у відповідь на гіпокальціємію, проте інгібується високим вмістом кальцію, фосфату та фактора росту фібробластів 23 (FGF23), який виступає прямим супресором експресії зазначеного ензиму. Важливим є те, що локальний синтез гормонально активної форми вітаміну D_3 відбувається також автокринним та паракринним шляхами практично в усіх позаниркових тканинах організму (зокрема в клітинах імунної системи, нервової тканини, шкіри, плаценти, простати тощо). У цих тканинах $1\alpha,25(\text{OH})_2D_3$ функціонує як потужний епігенетичний регулятор, що контролює транскрипцію та експресію численних генів, які відповідають за клітинне проліферування, диференціювання, апоптоз та імунну відповідь. На відміну від ниркових каналців, у позаниркових клітинах швидкість утворення $1\alpha,25(\text{OH})_2D_3$ не залежить від фосфатно-кальцієвого обміну, а модулюється прозапальними цитокінами, зокрема фактором некрозу пухлин-альфа ($\text{TNF-}\alpha$) та інтерфероном-гамма ($\text{IFN-}\gamma$). Здатність до регулювання активності ензиму 1α -гідроксилази (CYP27B1) специфічними системними та локальними активаторами й інгібіторами визначає його роль як ключового компонента у функціонуванні кальціємічної та фосфатемічної ендокринних петель. Саме тому визначення вмісту $1\alpha,25(\text{OH})_2D_3$ у сироватці крові не використовують для рутинного оцінювання забезпеченості організму вітаміном D_3 та скринінгу його дефіциту, оскільки його системна концентрація може довго залишатися в межах норми навіть за умов глибокого гіповітамінозу. Тестування рівня $1\alpha,25(\text{OH})_2D_3$ має суто диференційно-діагностичне клінічне значення для оцінки вроджених або набутих порушень метаболізму фосфатів та $25(\text{OH})D_3$ у пацієнтів із хронічною хворобою нирок, спадковими фосфатурією, онкогенною остеомаліцією, вітамін- D_3 -залежним чи резистентним рахітом, а також за наявності хронічних гранульоматозних захворювань (наприклад саркоїдозу) та деяких видів лімфом, за яких спостерігається неконтрольоване позаниркове зростання синтезу кальцитріолу.

Зрештою, задля підтримання чітко контрольованого метаболічного гомеостазу та запобігання потенційній токсичній дії високих концентрацій активних метаболітів, в організмі запускаються процеси катаболізму. Ключовий ензим 24-гідроксилаза (CYP24A1), який експресується у більшості тканин під впливом високих рівнів самого кальцитріолу, каталізує його гідроксилування у 24-положенні. Це призводить до інактивування сполуки та їхнього подальшого перетворення на водорозчинну кальцитроеву кислоту, яка екскретується з організму. Крім того, утворюються проміжні неактивні метаболіти $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ та $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$, що надійно захищає клітини від небезпечної кальцифікації.

3. Молекулярні механізми геномної та епігенетичної дії вітаміну D_3

Гормонально активна форма вітаміну D_3 ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) забезпечує реалізацію біологічних функцій у спеціалізованих клітинах-мішенях через залучення довготривалих геномних та швидких негеномних сигнальних механізмів. Геномна дія реалізується завдяки специфічному зв'язуванню $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ з рецептором вітаміну D (VDR), який є членом надродини ядерних рецепторів, зокрема підродини ліганд-активованих факторів транскрипції. Зв'язування ліганда з VDR індукує його конформаційну перебудову, фосфорилування та формування гетеродимеру з ретиноїдним X-рецептором (RXR). Сформований ліганд-рецепторний комплекс $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR-RXR транслокується в ядро, де зв'язується зі специфічними послідовностями ДНК – вітамін-D-чутливими елементами (VDREs) у промоторних або енансерних ділянках генів-мішеней.

Процес комплексоутворення безпосередньо супроводжується глибоким епігенетичним ремоделюванням хроматину в ділянці промотора. Залежно від клітинного контексту, комплекс VDR-RXR залучає транскрипційні коактиватори (наприклад,

протеїни родини SRC, HAT/p300) з автохтонною гістонацетилазною активністю або АТФ-залежні еукаріотичні комплекси ремоделювання хроматину (SWI/SNF). Це послаблює зв'язок ДНК з гістонами, відкриває доступ до геному та індукуює транскрипцію генів. Навпаки, за потреби репресії генів, VDR взаємодіє з корепресорами (NCoR/SMRT) та гістондеацетилазами (HDACs), що призводить до конденсації хроматину в щільний гетерохроматин та блокування транскрипції. Цікаво, що пул рецепторів VDR у клітині є надлишковим і суттєво перевищує концентрацію активного ліганда. Внаслідок цього в нормальних умовах лише близько 5 % загальної кількості VDR перебуває у зв'язаному стані, що імовірно виконує важливу буферну роль, захищаючи організм від системних токсичних ефектів у разі гіпервітамінозу.

Через пряму взаємодію з VDREs кальцитріол за принципом негативного зворотного зв'язку репресує експресію генів, що кодують печінкові та ниркові ензими біосинтезу (CYP27A1, CYP27B1), а також ген паратиреоїдного гормону, забезпечуючи жорсткий гомеостаз кальцію. Проте плейотропні ефекти вітаміну D₃ виходять далеко за межі прямого зв'язування з ДНК і реалізуються через перехресну взаємодію VDR з іншими ключовими транскрипційними факторами та сигнальними каскадами клітини, модифікуючи їхній транскрипційний потенціал безпосередньо в нуклеоплазмі.

Зокрема, активований VDR здатний фізично зв'язуватися з бета-субодиницею інгібітору кінази ядерного фактора каппа В (IKK β), блокуючи фосфорилування та транслокацію прозапального макромолекулярного чинника NF- κ B (ядерного фактору транскрипції каппа В), що зумовлює потужний протизапальний ефект. Крім того, VDR вступає у пряму взаємодію з протеїном STAT1 (трансдуктор сигналу та активатор транскрипції 1), модулюючи інтерферон-залежні противірусні відповіді. Він також конкурує або кооперується з фактором c-Jun (компонентом комплексу AP-1), регулюючи процеси клітинного виживання,

стрес-індукованого апоптозу та пухлинної трансформації. Важливою ланкою є взаємодія VDR із β -катеніном, що призводить до репресії або перенаправлення канонічного сигнального шляху Wnt/ β -catenin, який є критичним для підтримання архітектури тканин, контролю клітинного циклу, ембріонального розвитку та проліферування.

Окрім зазначених каскадів, комплекс $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR виступає потужним селективним модулятором низки інших фундаментальних транскрипційних факторів, що визначає його системний вплив на клітинний гомеостаз, адаптацію до гіпоксії та антиоксидантний статус. Важливе значення має функціональний перехрест із факторами родини FoxO (Forkhead box O), зокрема FoxO3a та FoxO4, де ліганд-активованій рецептор посилює їхню транскрипційну активність, стимулюючи експресію генів аутофагії, детоксикації вільних радикалів і подовження життя клітини. Паралельно вітамін D_3 активує сигнальний шлях Nrf2 (ядерний фактор, пов'язаний з еритроїдом 2), який є головним індуктором ендогенного антиоксидантного захисту клітини, що веде до підвищення синтезу глутатіону, супероксиддисмутази та каталази. В умовах тканинної ішемії та запалення комплекс VDR здатний пригнічувати активність і стабільність фактора HIF-1 α (фактор, індукований гіпоксією 1-альфа), блокуючи патологічний ангіогенез і надмірну анаеробну перебудову метаболізму, що має вирішальне значення в онкосупресії та стабілізації судинного русла.

На метаболічному рівні взаємодія VDR поширюється на ключові сенсори енергетичного статусу клітини та диференціювання тканин. Кальцитріол виступає прямим негативним регулятором макромолекулярного кіназного комплексу mTOR (мішень рапаміцину в клітинах ссавців), пригнічення якого гальмує надмірну клітинну гіпертрофію, аберантне проліферування та активує процеси фізіологічного клітинного очищення через аутофагосоми. Крім того, виявлено тісний синергізм та конкурентні взаємини VDR із ядерними рецепторами, що активуються пролі-

фераторами пероксисом (зокрема PPAR-γ). Цей перехресний зв'язок дозволяє вітаміну D₃ тонко модулювати чутливість тканин до інсуліну, регулювати ліпідогенез, гальмувати системне ліпозапалення та блокувати трансдиференціювання преадипоцитів. Завдяки такій інтеграції у складну внутрішньоклітинну комунікаційну мережу, вітамін D₃ виступає системним селективним модулятором вродженого й адаптивного імунітету, механізмів протівірусного захисту, енергетичного метаболізму та регенеративних процесів у тканинах (рис. 4).

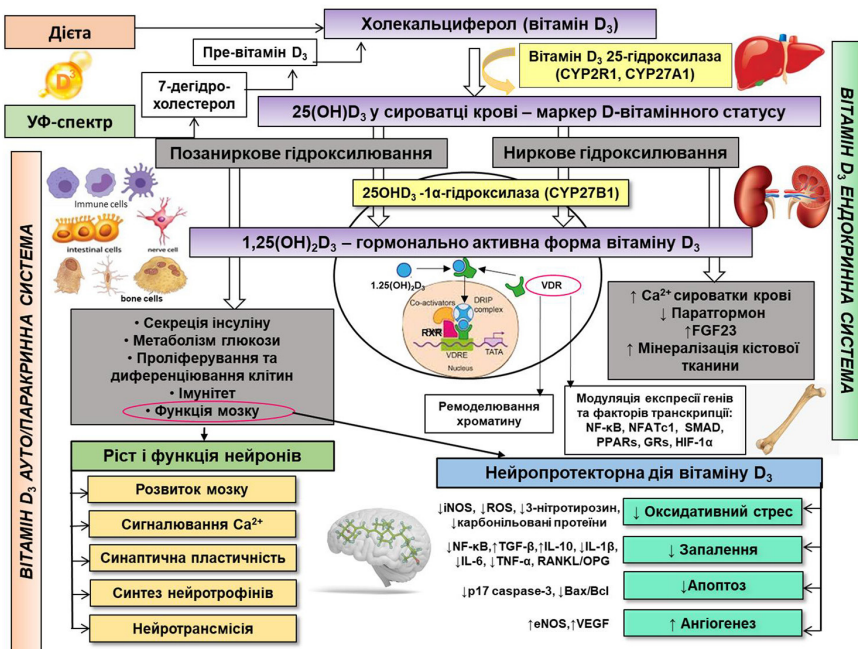


Рис. 4. Участь вітаміну D₃ авто-/пара-/ендокринної системи у регулюванні клітинних функцій (на прикладі ЦНС).

На доповнення до класичних геномних ефектів, кальцитріол здатний взаємодіяти з мембранними рецепторами та індукува-

ти каскад швидких негеномних сигнальних шляхів, ефекти яких проявляються протягом кількох хвилин через пряму модуляцію активності внутрішньоклітинних молекул. Це швидке негеномне сигналювання опосередковується або субпопуляцією мембранно-асоційованого рецептора VDR (VDRm), або протейндисульфідною ізомеразою A3 (PDIA3). Останній протейн відомий також як мембранно-асоційований ензим швидкого реагування на зв'язування стероїдів (MARRS), тіоредоксिनподібний протейн, глюкозочутливий протейн 58 кДа (GRP58), або резидентний протейн ендоплазматичного ретикулулу ERp57/ERp60. На плазматичній мембрані рецептор VDRm локалізується у специфічних мікродоменах – кавеолах, де він фізично взаємодіє з кавеоліном-1 та фосфоліпазою A2, при цьому зазначена мембранна фракція рецептора повністю ізольована від нуклеарного пулу клітини.

До реалізації цих негеномних каскадів залучається широкий спектр мембранних ензимів, ефекторних молекул та регуляторних протейнів. Активування VDRm або PDIA3/MARRS стимулює роботу фосфоліпази C, фосфоліпази A2 (PLA2) та фосфатидилінозитол-3-кінази (PI3K), а також малого G-протейну p21ras. Це призводить до миттєвого акумулювання вторинних месенджерів – іонів кальцію, циклічного аденозинмонофосфату (сAMP), вільних жирних кислот та 3-фосфоінозитидів, зокрема фосфатидилінозитол-3,4,5-трифосфату. Своєю чергою, генерування вторинних посередників обумовлює активування ряду ключових ефекторних протейніназ: протейнінази A (PKA), мітоген-активованої протейнінази (MAPK/ERK), протейнінази C (PKC) та Ca^{2+} -кальмодулінзалежної кінази II. Важливою ланкою негеномної дії кальцитріолу є також пряме та швидке регулювання кінетики іонних потоків шляхом відкриття потенціал-керованих та ліганд-керованих Ca^{2+} - і Cl^- -каналів плазматичної мембрани, що миттєво змінює поляризацію клітини та активує її функціональну відповідь.

4. Клінічне значення скелетних та позаскелетних ефектів вітаміну D₃

Дефіцит вітаміну D₃ на сьогодні розглядається як універсальний чинник ризику розвитку мультифакторних захворювань. Проведені в останні роки масштабні епідеміологічні дослідження та узагальнення мета-аналізів дозволили виявити чітку кореляцію між нестачею цього мікронутрієнта в окремих популяціях населення та поширеністю хронічних запальних (хвороба Крона), алергічних (бронхіальна астма), аутоімунних (розсіяний склероз, цукровий діабет 1 типу), нейродегенеративних, серцево-судинних, інфекційних (вірусні інфекції, туберкульоз) та неопластичних захворювань, а також рівнем смертності від різних причин. Одночасно продемонстровано чіткий позитивний вплив додаткового вживання вітаміну D₃ до досягнення його оптимального рівня в організмі на зниження ризику розвитку зазначених нозологій та патологічних станів.

4.1. Регулювання кальцій-фосфатного обміну та мінералізації кісткової тканини

Залучення геномних і негеномних механізмів забезпечує участь ендокринної системи вітаміну D₃ у регулюванні мінерального гомеостазу кальцію та фосфатів. В ентероцитах тонкої кишки активування ядерних рецепторів VDR біологічно активним метаболітом 1 α ,25(OH)₂D₃ супроводжується підвищенням синтезу кальбіндину (9K-кальцій-зв'язального протеїну), який надходить до апікальної мембрани ентероцитів, зв'язує іони Ca²⁺ і забезпечує їхній трансклітинний транспорт через кишкову стінку в лімфатичне та кровоносне русло. Про високу ефективність цього механізму свідчить той факт, що за відсутності вітаміну D₃ лише 10–15 % кальцію й близько 60 % фосфатів здатні абсорбуватися в шлунково-кишковому тракті. Зв'язування 1 α ,25(OH)₂D₃ із VDR підвищує ефективність кишкової абсорбції Ca²⁺ до 30–40 %, а фосфатів – до 80 %, що забезпечує оптимальну концентрацію кальцію та фосфатів в сироватці крові, необхідну

для адекватної мінералізації кісткової тканини. Подібні механізми дії D-гормону лежать також в основі стимулювання реабсорбції кальцію в дистальних каналцях нирок. Відповідно, дефіцит або недостатність вітаміну D₃ викликає різке зниження абсорбції кальцію та фосфатів у кишечнику, внаслідок чого за принципом зворотного зв'язку компенсаторно підвищується рівень ПТГ і розвивається вторинний гіперпаратиреоз.

Вітамін D₃ відіграє двоїсту роль у метаболізмі скелета: він одночасно забезпечує надходження мінеральних компонентів для фізіологічного остеогенезу та, за певних умов, активує резорбтивні процеси для підтримання критичного рівня кальцію і фосфатів у плазмі крові. Ця збалансована активність реалізується через його прямий і опосередкований вплив на функціональний стан остеобластів, остеоцитів та остеокластів – ключових клітинних елементів, які забезпечують безперервний цикл ремоделювання кісткової тканини.

Механізм стимулювання кісткової резорбції під дією кальцитріолу є багатокомпонентним. Спочатку в остеобластах під впливом гормону підвищується експресія ліганду рецептора-активатора ядерного фактора каппа В (RANKL). Молекули RANKL виділяються у міжклітинний простір або експонуються на мембрані остеобластів і зв'язуються з рецепторами RANK, розташованими на преостеокластах та зрілих остеокластах. Ця взаємодія запускає каскад внутрішньоклітинних сигналів, що веде до злиття попередників, активування зрілих остеокластів та посилення локальної резорбції кістки. Паралельно з цим паракринним шляхом, кальцитріол безпосередньо взаємодіє з ядерними рецепторами VDR, які експресуються безпосередньо на моноцитарних попередниках остеокластів та на самих макрофагальних клітинах-руйнівниках, самостійно моделюючи їх диференціювання та функціональну активність.

З іншого боку, вітамін D₃ є потужним індуктором дозрівання остеобластів і мінералізації кісткового матриксу. На початкових етапах він посилює експресію інтегрину $\alpha\text{v}\beta\text{3}$, що через взаємо-

дію з фібронектином активує диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин в остеогенному напрямку. На молекулярному рівні кальцитріол виступає прямим регулятором RUNX2 – головного транскрипційного фактору, який координує весь процес дозрівання остеобластів. Спільна дія цих сигнальних молекул веде до активування експресії генів колагену I типу, лужної фосфатази та остеокальцину – основного протеїну, що фіксує іони кальцію в кристалах гідроксипатиту. Водночас для запобігання патологічної гіпермінералізації та кальцифікації м'яких тканин, вітамін D₃ індукує в остеocyтах синтез FGF23 (фактор росту фібробластів-23), дентин-матричного протеїну 1 (DMP1), матричного протеїну Gla (MGP) та остеопонтину, які діють як фізіологічні обмежувачі та інгібітори надмірної мінералізації.

У низці масштабних когортних досліджень продемонстровано позитивний вплив додаткового прийому вітаміну D₃ разом із кальцієм на показники мінеральної щільності кісткової тканини, що забезпечує зниження ризику розвитку найбільш поширених системних патологій скелета, зокрема остеопорозу та остеомаліції. В основі патогенезу остеопорозу, як відомо, лежить порушення остеобластно-остеокластної рівноваги в процесі ремоделювання, коли на тлі пригнічення кісткоутворення різко зростає функціональна активність остеокластів та посилюється резорбція матриксу. Згідно з сучасними клінічними протоколами, під час проведення комплексної антиостеопоротичної терапії при постменопаузальному та глюкокортикоїд-індукованому остеопорозі пацієнтам обов'язково призначають додатковий прийом вітаміну D₃ і кальцію. При цьому доведено високу клінічну ефективність саме щоденного застосування вітаміну D₃ у дозі 1000–2000 МО для зниження ризику падінь та переломів, тоді як інтермітуючі (періодичні) режими введення великих болюсних доз демонструють суттєво нижчу ефективність.

На сьогодні обґрунтовано необхідність застосування вітаміну D₃ як для підвищення загальної ефективності базової анти-



остеопоротичної терапії, так і для покращення її профілю безпеки. Зокрема, призначення вітаміну D_3 перед початком використання азотовмісних бісфосфонатів – групи лікарських засобів, які міцно зв'язуються з мінеральним компонентом кістки та пригнічують резорбтивну активність остеокластів, – дозволяє значно знизити ризик і вираженість гострофазних реакцій. Додатковий прийом вітаміну D_3 є також критично важливою у разі застосування деносумабу – таргетного моноклонального антитіла IgG2, яке специфічно зв'язує RANKL і повністю блокує диференціювання та виживання остеокластів. Попереднє досягнення оптимального статусу забезпеченості вітаміном D_3 у цих клінічних ситуаціях є обов'язковою умовою для запобігання розвитку тяжкої гіпокальціємії та забезпечення максимального терапевтичного ефекту від сучасної антирезорбтивної терапії.

Тому пацієнтам з остеопорозом перед ініціацією антирезорбтивної терапії рекомендовано визначити вміст вітаміну D_3 у сироватці крові та за потреби призначити його додатковий прийом до досягнення оптимальної концентрації $25(OH)D_3$, яка становить 30–50 нг/мл (75–125 нмоль/л). Надалі впродовж усього курсу базового лікування пацієнтам показано щоденний прийом вітаміну D_3 у дозі 1000–2000 МО в поєднанні з препаратами кальцію в дозі до 1000 мг/добу. Особам із високим ризиком падінь та переломів (оціненим за українською моделлю FRAX) рекомендовано безперервний прийом холекальциферолу в дозі 1000–2000 МО/добу впродовж усього року.

Вагомим внеском у корекцію системних порушень метаболізму кісткової тканини є розробка в Інституті біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України унікального вітчизняного засобу «Мebівід». Це інноваційна фармацевтична композиція для патогенезної терапії системних захворювань скелета, у якій вітамін D_3 і кальцій синергічно стимулюють процеси остеогенезу, тоді як метиленбісфосфонова кислота селективно пригнічує активність остеокластів і знижує демінералізацію кісткового матриксу. Співробітниками інституту було детально обґрунтовано мо-

лекулярний механізм дії бісфосфонатного компонента як специфічного інгібітора фарнезилпірофосфатсинтази, що блокує процеси фарнезилювання та ізопренілювання малих G-протеїнів, викликаючи апоптоз остеокластів. Високий профіль безпеки цього засобу доведено в гострих та хронічних токсикологічних експериментах, а результатом його застосування є достовірне збільшення кісткової маси, нівелювання проявів остеопорозу та, як наслідок, суттєве зниження ризику переломів трубчастих кісток, а також тіл хребців.

Дані експериментальних досліджень розкривають глибокі структурні зміни, що лежать в основі патологічної деструкції скелета. Проведені гістологічні дослідження свідчать, що за умов аліментарного остеопорозу, зумовленого хронічним дефіцитом вітаміну D₃, відбувається виражена дезорганізація структурно-функціональної архітекτονіки як кісткової тканини, так і епіфізарного хряща. Інтегральним морфологічним маркером цих порушень є прогресуюче стоншення шару компактної речовини стегнової та великогомілкової кісток, а також розлади формування остеонів, вставних і внутрішніх обмежувальних пластинок. Гістометрично у піддослідних тварин виявляли компенсаторне потовщення (збільшення висоти) епіфізарного платівчастого хряща, яке відбувалося переважно за рахунок деструктивного розширення зони гіпертрофованих хрящових клітин (рис. 5). Крім того, на тлі гіповітамінозу суттєво сповільнювався ангіогенез та вrostання капілярів в епіфізарний хрящ, що супроводжувалося появою численних ацелюлярних (безклітинних) ділянок і локальним некробіозом матриксу.

Застосування препарату «Мєбівід» призводило до вираженого відновлення структурно-функціональної організації компактної речовини кістки та епіфізарного хряща. На тлі терапії достовірно посилювався ріст стегнової та великогомілкової кісток як у довжину, так і в ширину, що відбувалося одночасно із зростанням загального рівня мінералізації кісткової тканини. Шар компактної кістки закономірно потовщувався, відновлюва-

лася архітектоніка зовнішніх і внутрішніх обмежувальних кісткових пластинок, а також остеонний шар діафіза. Висота епіфізарного хряща нормалізувалася (зменшувалася до фізіологічних значень), при цьому чітко візуалізувався сформований шар первинної спонгіози на фоні потовщених кісткових перекладок (трабекул) вторинної спонгіози (рис. 5).

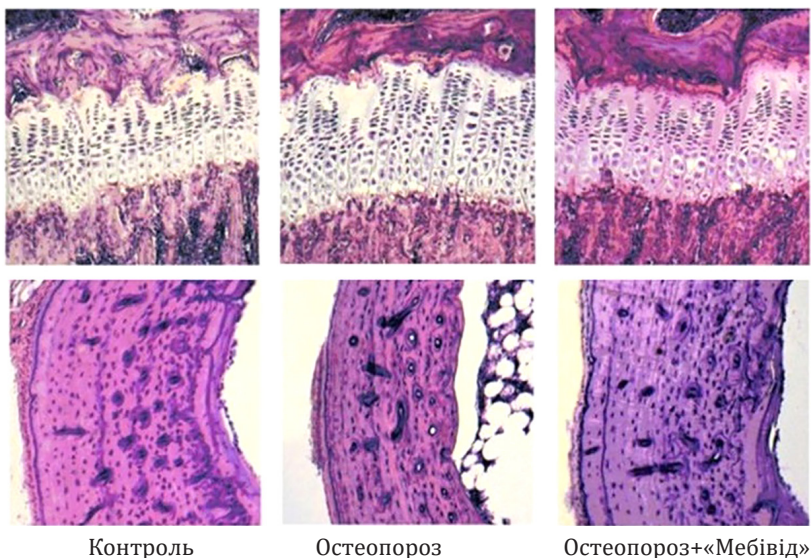


Рис. 5. Нормалізувальний вплив комплексного препарату «Мебівід» на структурно-функціональну організацію проксимального епіфізарного хряща (А) та компактної кісткової тканини (Б) великогомілкової кістки у щурів за умов аліментарного остеопорозу.

Зазначений засіб успішно пройшов повний цикл доклінічних досліджень. У ході випробувань було доведено здатність препарату ефективно нормалізувати структурно-функціональний стан скелета як при експериментальному аліментарному остеопорозі, так і в клінічній практиці у пацієнтів із різним пе-

ребігом ідіопатичного коксартрозу. Для цієї категорії хворих співробітниками ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» було розроблено та запропоновано лікувальний алгоритм корекції порушень мінеральної щільності кісткової тканини. На основі отриманих експериментальних даних оптимізовано технологію виробництва препарату з метою забезпечення його максимальної біодоступності та терапевтичної ефективності. На сьогодні повністю розроблено та оформлено технологічний регламент, а також аналітичну нормативну документацію на цей лікарський засіб. Авторські права на препарат «Мєбівід» захищено Патентом України на винахід № 85494 (2009 рік).

Реалізація біологічної дії гормонально активної форми вітаміну D_3 поширюється також на скелетну мускулатуру, де метаболіт $1\alpha,25(OH)_2D_3$ виступає прямим регулятором міогенезу. Через залучення сигнальних каскадів MAPK та фосфатидилінозитол-3-кінази кальцитріол ефективно індукує проліферування міобластів, стимулює їхнє диференціювання у зрілі м'язові волокна та пригнічує процеси клітинного апоптозу. Вітамін D_3 є критично важливим для підтримання належного пулу АТР у міоцитах, оптимізації роботи кальцієвих каналів саркоплазматичного ретикулуму та забезпечення адекватної кінетики м'язового скорочення, що безпосередньо посилює м'язову силу, тонус та загальну масу скелетної мускулатури.

Хронічний дефіцит вітаміну D_3 призводить до розвитку специфічної міопатії, яка характеризується селективною атрофією швидких м'язових волокон II типу, що відповідають за підтримання рівноваги та швидкі рухові реакції. На тлі гіповітамінозу спостерігається дезорганізація та роз'єднання міжволоконних взаємодій, а також зниження біосинтезу інсуліноподібного фактора росту-1 (IGF-1) та паралельне зростання рівнів прозапальних цитокінів, які запускають протеолітичні каскади атрофії м'язової тканини. Важливою молекулярною ланкою цього процесу є активація адипогенезу безпосередньо всередині м'язів

(розвиток міостеатозу) через експресію ключових маркерних генів адипогенезу, зокрема PPAR γ 2 та протеїну 4, що зв'язує жирні кислоти (FABP4), які перенаправляють диференціацію клітин-попередників в адипоцитарному напрямку. Така прогресуюча саркопенія та виражена м'язова слабкість, особливо у поєднанні з віковими когнітивними порушеннями, закономірно порушують біомеханіку рухів і критично підвищують ризик падінь та асоційованих із ними травм у пацієнтів.

4.2. Позаскелетні ефекти вітаміну D₃: імунна система та автоімунні захворювання

Оптимальне забезпечення вітаміном D₃ є виключно важливим для нормального функціонування імунної системи та попередження розвитку автоімунних захворювань. Наявність рецепторів VDR практично у всіх імунокомпетентних клітинах (моноцитах, макрофагах, дендритних клітинах, Т- та В-лімфоцитах) зумовлює потужну локальну імуномодуляторну дію активного метаболіту 1 α ,25(OH)₂D₃. На рівні вродженого імунітету вітамін D₃ виступає прямим індуктором транскрипції генів антимікробних пептидів – кателіцидину (LL-37) та бета-дефензину-2, що суттєво підвищує бактерицидну та противірусну активність макрофагів. Водночас вітамін D₃ системно регулює процеси як вродженої, так і адаптивної імунної відповіді, тонко впливаючи на проліферування, апоптоз і фенотипову пластичність лімфоцитів, експресію ними сигнальних цитокінів та функціональну зрілість антиген-презентувальних клітин.

За умов дефіциту вітаміну D₃ спостерігається виражене дерегулювання імунної відповіді. Зокрема, різко підвищується експресія прозапальних цитокінів клітинами Т-хелперами 1-го типу (Th1), серед яких інтерлейкін-2 (IL-2), IFN- γ та TNF- α , на тлі зниження активності Т-хелперів 2-го типу (Th2). Паралельно суттєво зменшується диференціювання та формування супресорних регуляторних Т-клітин (Treg), що супроводжується падінням рівнів протизапальних інтерлейкінів IL-10 та TGF- β . Значений дефіцит вітаміну також зумовлює гіперактивування

Th17-клітин із подальшим надмірним синтезом та вивільненням прозапальних інтерлейкінів IL-17, IL-17A, IL-17F та IL-21, які є ключовими медіаторами тканинної деструкції («цитокінового шторму») та тригерами розвитку хронічних автоімунних процесів.

Гормонально активні метаболіти вітаміну D₃ відновлюють імунну толерантність та регулюють адаптивний імунітет за кількома основними напрямками. По-перше, вони обмежують процеси дозрівання дендритних клітин, знижуючи експресію молекул головного комплексу гістосумісності II класу (МНС-II) та ко-стимуляторних протеїнів (CD40, CD80, CD86), що мінімізує їхню здатність до презентації антигену Т-лімфоцитам. По-друге, це призводить до зміщення профілю диференціювання наївних Т-клітин із прозапальних підгруп Th1 і Th17 на протизапальні підгрупи Th2 та Treg, продукти яких надійно пригнічують автоагресію. По-третє, вітамін D₃ безпосередньо впливає на В-лімфоцити: гальмує їхнє проліферування та диференціювання у зрілі плазматичні клітини, що знижує базову секрецію IgM, а також блокує процеси ізотипічної рекомбінації (переключення класів імуноглобулінів), пригнічуючи синтез патологічних автоантитіл класу IgG без порушення загального імунного захисту організму.

4.3. Інфекційні захворювання

Проведені в останні роки масштабні епідеміологічні дослідження дозволили виявити чітку кореляцію між нестачею вітаміну D₃ та високою поширеністю інфекційних захворювань, зокрема гострих вірусних інфекцій дихальних шляхів і туберкульозу. На молекулярному рівні продемонстровано, що експонування моноцитів і макрофагів під дією бактеріальних ліпополісахаридів або безпосереднє захоплення ними клітин *Mycobacterium tuberculosis* запускає потужну локальну захисну реакцію. Цей процес активує експресію генів, що кодують рецепторні протеїни VDR та ензим CYP27B1. Внутрішньоклітинно синтезований активний метаболіт 1 α ,25(OH)₂D₃, своєю чергою, значно посилює транскрипцію та синтез ключового антимікробного пеп-

тиду – кателіцидину, який безпосередньо руйнує клітинні мембрани бактерій та інших інфекційних агентів. Одночасно кальцитріол за принципом зворотного зв'язку зменшує експресію Toll-подібних рецепторів (TLR) до мікобактерій, запобігаючи надмірній запальній деструкції тканин. Окрім того, утворений моноцитами та макрофагами $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ паракринно активує сусідні Т- та В-лімфоцити, посилюючи синтез захисних цитокінів, секрецію специфічних імуноглобулінів, а також стимулює процеси інтрацелюлярної аутофагії та злиття фагосом із лізосомами. Це суттєво підвищує загальну бактерицидність імунокомпетентних клітин, провокуючи потужний фагоцитарний респіраторний вибух, необхідний для повної елімінації патогенного збудника.

Під час пандемії коронавірусної хвороби COVID-19 масштабні клінічні дослідження в різних країнах світу продемонстрували пряму залежність між високим рівнем забезпеченості організму вітаміном D_3 та низьким ризиком інфікування SARS-CoV-2. Встановлено, що пацієнти різних етнічних груп із вираженим дефіцитом вітаміну D_3 (рівень $25(\text{OH})\text{D}_3$ у сироватці крові менше 20 нг/мл) мали на 54 % вищу ймовірність отримати позитивний результат ПЛР-тесту, а для осіб похилого віку цей ризик зростав у 2,6 рази порівняно з тими, хто мав оптимальний статус забезпеченості (понад 30 нг/мл). Позитивний ефект вітаміну D_3 при інфікуванні SARS-CoV-2 зумовлений не лише його вираженою імуномодулювальною дією та здатністю попереджати системний «цитокіновий шторм». Кальцитріол виступає критичним регулятором ренін-ангіотензинової системи (РАС): він пригнічує надмірну активність ангіотензин-перетворювального ферменту (АПЕ) і модулює експресію рецепторів ACE2 на мембранах альвеолоцитів II типу, що суттєво ускладнює проникнення вірусних частинок у клітини легень та захищає легеневу тканину від розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС). Крім того, вітамін D_3 стабілізує ендотеліальні бар'єри, знижуючи ризик розвитку вірус-індуко-

ваних мікротромбозів та системних коагулопатій. Вражаючими виявилися й статистичні дані щодо летальності: ризик смерті від ускладнень COVID-19 був у 9 разів вищим для пацієнтів із глибоким дефіцитом вітаміну D_3 та в 7 разів вищим для осіб із його недостатністю порівняно з пацієнтами, які мали цільові рівні маркера в крові. З огляду на це, супровідна терапія холекальциферолом в дозі 1000–2000 МО/добу обґрунтовано увійшла до міжнародних та національних протоколів лікування та реабілітації пацієнтів із COVID-19.

4.4. Цукровий діабет (ЦД 1 та 2 типів) та його системні ускладнення

За даними сучасної наукової літератури, системний дефіцит вітаміну D_3 розглядається як один із провідних епігенетичних чинників, що спричиняє розвиток та прогресування обох типів цукрового діабету. При ЦД типу, який є класичним Т-клітинно-опосередкованим автоімунним захворюванням, холекальциферол через рецептори VDR безпосередньо модулює активність імунокомпетентних клітин. Він пригнічує диференціацію Th1 та посилює функцію супресорних Treg, що призводить до гальмування автоімунного інсуліту, зниження вивільнення прозапальних цитокінів (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β) та безпосереднього захисту бета-клітин підшлункової залози від апоптозу.

За ЦД 2 типу плейотропна дія вітаміну D_3 поширюється на ключові ланки метаболічного синдрому. Дослідженнями доведено, що активована форма вітаміну D_3 безпосередньо стимулює секрецію інсуліну бета-клітинами шляхом активування вольтаж-залежних кальцієвих каналів та кальцій-зв'язувальних протеїнів (кальбіндину-D28k), а також покращує периферійну чутливість тканин до дії інсуліну через активування експресії рецепторів інсуліну (IR) та глюкозних транспортерів GLUT-4 у скелетних м'язах і жировій тканині. Одночасно вітамін D_3 виявляє потужну антиоксидантну дію, пригнічуючи оксидативний стрес і хронічне субклінічне ліпозапалення, які є рушійними силами інсулінорезистентності.

Особливе наукове значення мають пріоритетні дослідження співробітників Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України (М. М. Великий, І. О. Шиманський, О. О. Лісаковська, А. В. Хоменко, А. О. Мазанова) та кафедри ендокринології Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (Ю. І. Комісаренко), які розкривають молекулярно-клітинні механізми розвитку вторинних діабетичних ускладнень за умов системного дефіциту вітаміну D_3 . Авторами вперше було доведено, що стійка гіперглікемія викликає глибокі розлади функціонування локальної вітаміну D_3 -авто-/паракринної системи в органах-мішенях, що характеризується пригніченням експресії рецептора VDR та ключових ензимів гідроксилування (CYP2R1, CYP27A1, CYP27B1) у кістковій тканині, нирках і печінці. Зокрема, при діабетичній остеопатії (як при ЦД 1, так і 2 типів) встановлено формування вираженого остеобластно-остеокластного дисбалансу та пригнічення остеосинтезу, що супроводжується локальним активуванням прозапального транскрипційного фактора NF- κ B та каспази-3-залежних апоптотичних каскадів у кістковій тканині.

У межах цієї серії робіт, вагомим здобутком стало обґрунтування ролі локальної вітаміну D_3 -ендо-/паракринної системи у патогенезі діабетичної нефропатії (Mazanov A. et al., 2022; Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects). Дослідженнями доведено, що хронічний перебіг ЦД 1 типу активує транскрипційний фактор NF- κ B та запускає метаболічний запальний процес у нирковій паренхімі. На тлі дефіциту вітаміну D_3 ці молекулярні розлади викликають підвищення рівнів ефекторної каспази-3 та індукують апоптоз клітин ниркових каналців і клубочків, що призводить до глибоких гістоморфологічних змін і дезорганізації фільтраційного бар'єра нирок.

Паралельно з цим було обґрунтовано роль локальної вітаміну D_3 -авто-/паракринної системи печінки у розвитку метаболічно асоційованої діабетичної гепатопатії та жирового гепатозу. Доведено, що хронічний перебіг ЦД супроводжується

розладами ліпідного обміну, пригніченням антиоксидантного захисту гепатоцитів і запуском NF- κ B-залежних прозапальних каскадів. На молекулярно-клітинному рівні авторами було верифіковано індукцію стресу ендоплазматичного ретикулуму в печінці, що характеризувалося посиленням експресії канонічних сенсорів IRE-1 та PERK, зростанням рівнів шаперону GRP78 та активацією проапоптотичного фактора CHOP/DDIT3. За умов дефіциту вітаміну D₃ прогресування цього розладу чітко пов'язане із блокадою автофагії через супресію ферменту ATG7, що відбувалося на тлі дисбалансу мітохондріальної динаміки – посилення експресії маркера поділу мітохондрій DRP1 та супресії мітофузину-1/2. Важливою ланкою патогенезу, асоційованою з нестачею вітаміну D₃, виявилось також залучення цитокінової системи RANKL/RANK/OPG: різке зростання співвідношення RANKL/OPG стимулює RANK-залежні шляхи в гепатоцитах, поглиблюючи запальну інфільтрацію та стеатоз. Гістологічні дослідження печінки при цьому верифікували виражений макрота мікроезикалярний жировий гепатоз із масивним акумулюванням ліпідних включень у гепатоцитах, дезорганізацією структури часточок, появою безклітинних зон та вогнищевою інфільтрацією.

Патогенетично обґрунтована терапія холекальциферолом чинила комплексний нормалізуювальний та цитопротекторний ефект на органи-мішені при обох типах діабету. У печінці введення вітаміну D₃ забезпечувало нівелювання стресу ендоплазматичного ретикулуму, реактивацію ATG7-залежної автофагії, відновлення мітохондріальної динаміки та пригнічення прозапальних каскадів, що морфологічно підтверджувалося регресом ліпідних включень і відновленням структури часточок. Водночас холекальциферол ефективно нормалізував розлади кісткового ремоделювання при вторинній діабетичній остеопатії. Його застосування сприяло реактивуванню остеогенних транскрипційних факторів, відновленню балансу між синтезом матриксу остеобластами та резорбцією остеокластами, а також

пригніченню локального NF-κB-опосередкованого запалення. Це забезпечило відновлення мінеральної щільності кісток, що є підґрунтям для зниження ризику крихкості скелета та попередження переломів у пацієнтів із цукровим діабетом. Широкі клінічні дані світової наукової літератури переконливо підтверджують ці факти, демонструючи, що тривала та адекватна терапія вітаміном D₃ суттєво покращує довгостроковий глікемічний контроль (знижує рівень глікованого гемоглобіну HbA1c), уповільнює швидкість прогресування діабетичних мікроангіопатій та знижує загальний тягар серцево-судинних ускладнень у пацієнтів. Зазначене обґрунтовує обов'язкове включення скринінгу забезпеченості вітаміном D₃ до стандартів ведення хворих на цукровий діабет.

4.5. Центральна нервова система (ЦНС) та когнітивні функції

Біологічна дія вітаміну D₃ як нейростероїдного гормону реалізується через рецептори VDR та ензими його локального метаболізму, які коекспресуються в нейронах, олігодендроцитах та гліальних клітинах (астроцитах і мікроглії) головного мозку. На молекулярному рівні холекальциферол виступає критичним регулятором нейропластичності, вищих когнітивних функцій та архітекtonіки нейротрансмітерних систем. Він безпосередньо здатен модулювати процеси навчання, концентрації уваги та консолідації пам'яті через стимулювання довготривалої синаптичної потенціації (LTP) у гіпокампі, а також регулювати біосинтез нейромедіаторів шляхом контролю експресії тирозингідроксилази (для дофамінергічної системи), триптофангідроксилази (для серотонінергічної ланки) та холінацетилтрансферази (для холінергічних перадачі). За умов дефіциту вітаміну D₃ розвивається стійка синаптична дезінтеграція та нейромедіаторний дисбаланс, що запускає незворотні фази нейродегенерації. Кальцитріолу, крім того, притаманні виражені антиамілоїдогенні властивості: через VDR-залежні механізми він стимулює макрофагальний та гліальний фагоцитоз амілоїдного бета-

пептиду (Aβ1-42), пригнічує аберантне гіперфосфорилування тау-протеїну та попереджає цитотоксичну олігомеризацію α-синуклеїну, блокуючи базові патогенетичні тригери хвороб Альцгеймера і Паркінсона.

Критично важливою є роль вітаміну D₃ у ранньому нейроонтогенезі, де його дефіцит розглядається як вагомий чинник ризику виникнення різноманітних нейроонтогенетичних порушень. Як потужний стероїдний морфоген, холекальциферол контролює процеси нейрогенезу, міграції клітин, синаптогенезу та мієлінізації у мозку плода і дитини раннього віку. Антенатальна та постнатальна нестача цього ліганда закономірно призводить до структурних аномалій кори й шлуночків мозку, розладів нейрональної комунікації та формування стійкого когнітивного дефіциту, що корелює із підвищеною частотою розвитку розладів аутистичного спектра та синдрому дефіциту уваги й гіперактивності. Захисний ефект вітаміну D₃ у процесах нейророзвитку та супресії хронічного нейрозапалення зумовлений також підтриманням цілісності гематоенцефалічного бар'єра через посилену експресію протеїнів щільних контактів (оклюдину, клаудину-5, ZO-1), що перешкоджає інфільтрації паренхіми автореактивними клітинами. Водночас вітамін D₃ блокує реактивне активування мікроглії та астроцитів, переключаючи прозапальний фенотип M1 на нейрозахисний протизапальний фенотип M2. Це пригнічує активність транскрипційного фактора NF-κB і секрецію цитокінів (TNF-α, IL-1β, IL-6), оптимізує кальцієвий гомеостаз через вольтаж-керовані канали L-типу та стимулює транскрипцію ендогенних нейротрофінів – фактора росту нервів (NGF), нейротрофіну-3 і гліального нейротрофічного фактора (GDNF).

Молекулярні дисбаланси у деяких із зазначених захисних каскадів чітко простежуються на моделі глюкокортикоїд-індукованої нейротоксичності, яка була детально вивчена у наших дослідженнях (Lisakovska et al., 2023; *Frontiers in Cellular Neuroscience*). Нами доведено, що тривале введення підвищених

доз глюкокортикоїдів, зокрема преднізолону, викликає виражені морфометричні зміни клітин гіпокампа (рис. 6) та кори, що супроводжується інтенсифікацією оксидативно-нітрозативного стресу, активуванням прозапального фактора NF- κ B та істотним падінням вмісту мозкового нейротрофічного фактора (BDNF), який відповідає за синаптичну пластичність, довготривалу потенціацію та поведінковий статус піддослідних тварин. Патогенетично обґрунтована супровідна терапія холекальциферолом виявила чіткий нейропротекторний ефект. Введення вітаміну D₃ нівелювало оксидативний стрес, блокувало транслокацію NF- κ B у ядро, відновлювало фізіологічний рівень BDNF та нормалізувало когнітивно-поведінковий профіль тварин на тлі часткової регенерації локальної вітамін D₃-авто-/паракринної системи мозку, що супроводжувалось частковою нормалізацією глюкокортикоїд-індукованих гістологічних порушень (рис. 6).

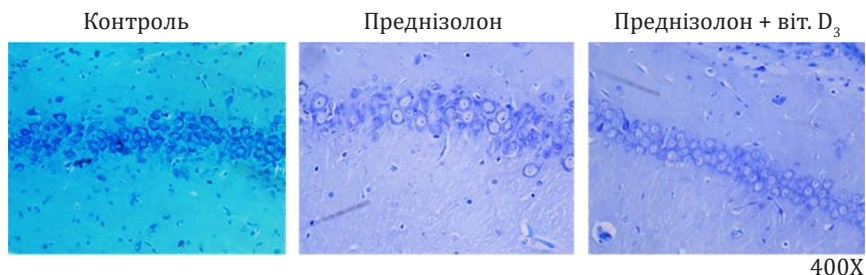


Рис. 6. Цитоморфометричні зміни гіпокампа (ділянка C1) щурів за довготривалої дії преднізолону та нейропротекторний ефект холекальциферолу. Глюкокортикоїд-індукована нейротоксичність супроводжується зниженням кількості клітин, підвищенням площі перикаріону та ядра нейронів (забарвлення толуїдиновим синім за Нісслем).

Аналіз функціонального стану локальної вітамін D₃-авто-/паракринної системи мозку за умов експериментального цукрового діабету 2 типу (Shymanskyi I. O. et al., 2024, The Ukrainian Biochemical Journal) продемонстрував глибокий розлад біодос-

тупності вітаміну D_3 в ЦНС із суттєвим падінням вмісту транс-портного протеїну VDBP та компенсаторним підвищенням рівнів гідроксилаз CYP27B1 і CYP24A1. Натомість при дослідженні чистих ефектів аліментарного D-гіповітамінозу (Shymanskyi I. O. et al., 2024, European Review for Medical and Pharmacological Sciences) нами було виявлено локальні адаптивні механізми: за вираженого дефіциту холекальциферолу, нервова тканина здатна тривалий час автономно підтримувати нейростероїдний гомеостаз і стабільну концентрацію $25(OH)D_3$ у структурах головного мозку шляхом реципрокної модуляції експресії VDR, VDBP, CYP27B1 та CYP24A1. Застосування холекальциферолу при зазначених станах забезпечувало виражений коригувальний ефект на локальні метаболічні компоненти, що підтверджує терапевтичну доцільність відновлення стану вітамін D-авто-/паракринної системи для збереження когнітивних функцій.

Пріоритетним продовженням досліджень наукової групи наразі є вивчення осі «кістка-мозок», зокрема ролі остеокальцину та його специфічних рецепторів у клітинах ЦНС за умов аліментарного D-гіповітамінозу. Поточні експерименти авторів спрямовані на розкриття молекулярних механізмів, за допомогою яких цей кістковий гормон модулює синаптичну передачу та компенсує нейродегенеративні розлади, що в перспективі відкриває нові стратегії комплексної фармакологічної нейропротекції.

4.6. Серцево-судинні та онкологічні захворювання

Дефіцит вітаміну D_3 тісно асоціюється з високою частотою розвитку серцево-судинних захворювань, зокрема кардіоміопатій різного генезу. Гіповітаміноз D_3 суттєво підвищує загальний ризик гострих судинних подій, включаючи інфаркт міокарда, мозковий інсульт та раптову коронарну смерть. На тлі хронічної нестачі холекальциферолу спостерігається інтенсивна кальцифікація коронарних артерій, розвиток і прогресування атеросклерозу, а також есенціальної артеріальної гіпертензії з більш важким та резистентним до терапії клінічним перебігом. Патогенетичним

посередником серцево-судинних наслідків дефіциту вітаміну D_3 виступає надмірне активування ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, яка за фізіологічних умов пригнічується кальцитріолом через рецептори VDR, а також розвиток вторинного гіперпаратиреозу, що провокує ендотеліальну дисфункцію, ремоделювання міокарда та посилення жорсткості судинної стіни.

За умов дефіциту вітаміну D_3 критично підвищується ризик малігнізації клітин та захворювання на рак різної локалізації (зокрема колоректального карциноми, раку молочної та передміхурової залози). Вітамін D_3 , завдяки прецизійній участі в регулюванні клітинного диференціювання, проліферування, апоптозу та ангіогенезу, ефективно пригнічує пухлинний ріст і метастазування за допомогою кількох пов'язаних молекулярно-клітинних механізмів. Зокрема, активований комплекс VDR зменшує експресію матриксного глікопротеїну ламініну та його специфічних рецепторів, гальмує деградацію міжклітинного матриксу матриксними металопротеїназами (MMPs) та лізосомальними катепсинами, які продукуються пухлинними клітинами, а також знижує експресію субодиниць протеїну-2, що зв'язує елементи цитоскелета. У такий спосіб забезпечуються потужні проадгезійні, антиміграційні та антиінвазивні ефекти ліганда. Крім того, кальцитріол значно підвищує експресію міжклітинного протеїну адгезії E-кадгерину та знижує рівні CEACAM1 (молекули-1 клітинної адгезії, пов'язаної з карциноємбріональним антигеном), що обмежує здатність ракових клітин зв'язуватися з ендотеліоцитами судин і повністю блокує їхній метастатичний потенціал та інтравазацію. Відповідно, різнобічна фізіологічна та фармакологічна дія $1\alpha,25(OH)_2D_3$ із залученням рецепторів VDR, притаманних широкому колу імункомпетентних та паренхіматозних клітин-мішеней, зумовлює значний терапевтичний потенціал холекальциферолу як попередника природного ліганда VDR та потужного регулятора транскрипційної активності широкого спектра генів. Своєчасне застосування вітаміну D_3 дозволяє ефективно модифікувати

перебіг ряду хронічних мультифакторних захворювань, відновлюючи метаболічний та структурний гомеостаз пошкоджених органів і тканин.

Підсумовуючи викладене, результати сучасних глобальних епідеміологічних, клінічних та експериментальних досліджень, включаючи багаторічні пріоритетні роботи співробітників Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, переконливо доводять мультиорганний характер плейотропної дії вітаміну D_3 та негативні наслідки його нестачі для організму. Системний D_3 -дефіцит є не просто маркером кісткової патології, а фундаментальним патогенетичним чинником розвитку важких діабетичних ускладнень (нефропатії, гепатостеатозу та остеопатії), саркопенії, хронічного нейрозапалення, серцево-судинних розладів та неопластичної трансформації клітин. Саме тому в сучасній медицині першочергового значення набуває ретельне вивчення та об'єктивна оцінка індивідуальної забезпеченості організму вітаміном D_3 . Своєчасний лабораторний скринінг і динамічний моніторинг серологічного рівня $25(OH)D_3$ у клінічній практиці є єдиним надійним інструментом для верифікації прихованого гіповітамінозу, виділення пацієнтів із груп високого ризику та розробки індивідуальних алгоритмів терапевтичної корекції. Патогенетично обґрунтоване застосування холекальциферолу, що базується на ретельному контролі його біодоступності в органах-мішенях, виступає обов'язковою стратегією для успішної профілактики, супровідної терапії та реабілітації пацієнтів із різноманітною хронічною соматичною патологією.

5. Методи визначення вмісту $25(OH)D_3$ у сироватці крові

Вміст 25-гідроксивітаміну D ($25(OH)D_3$) у сироватці крові є загальноновизнаним показником забезпеченості організму вітаміном D_3 . Саме цей метаболіт є циркулюючою формою вітаміну D_3 , характеризується тривалим періодом напіввиведення та ві-

дображає сумарне надходження вітаміну D_3 з їжею, добавками та його синтез у шкірі під впливом ультрафіолетового випромінювання. Для визначення концентрації $25(OH)D_3$ у біологічних зразках у лабораторній та клінічній практиці застосовують імунохімічні, хроматографічні та спектрометричні методи.

На даний час найбільш поширеними є імунохімічні методи, що ґрунтуються на специфічній взаємодії антитіл із молекулами $25(OH)D_3$. До цієї групи належать варіації радіоімунного аналізу (RIA), хемілюмінесцентного імуноаналізу (CLIA), імуноензимного аналізу (ELISA), електрохемілюмінесцентного аналізу (ECLIA) та інших імунологічних платформ. Імунохімічні методи характеризуються відносною простотою виконання, високою ефективністю та можливістю автоматизації.

Високоєфективна рідинна хроматографія (HPLC) дозволяє розділяти окремі форми вітаміну D_3 та його метаболітів на основі їх фізико-хімічних властивостей. Метод рідинної хроматографії з тандемною мас-спектрометрією (LC-MS/MS) вважається «золотим стандартом» визначення $25(OH)D_3$ у сироватці крові. Дані методи забезпечують високу специфічність та чутливість вимірювань, проте потребують складної пробопідготовки, вартісного спеціалізованого обладнання та характеризуються складністю проведення аналізу. Газова хроматографія у поєднанні з мас-спектрометрією (GC-MS) також є високоточним методом визначення $25(OH)D_3$, однак через необхідність попередньої дериватизації зразків (приєднання спеціальних реагентів для підвищення аналітичної чутливості, які забезпечують утворення летких і термостабільних похідних $25(OH)D_3$) використовується обмежено.

Таким чином, вибір методу визначення $25(OH)D_3$ залежить від мети дослідження, необхідної точності аналізу, доступності обладнання, вимог до зручності, швидкості та економічних можливостей. Тому на сьогоднішній день найчастіше застосовують імуноензимний аналіз (ELISA), тоді як LC-MS/MS розглядається як референтний метод кількісного визначення метаболітів віта-

міну D_3 . Більшість комерційних ELISA-наборів для визначення $25(OH)D_3$ працюють за принципом конкурентного імуноензимного аналізу, в основі якого лежить конкурування $25(OH)D_3$ зразка зі схожою за структурою молекулою, яка кон'югована з біотином або пероксидазою хрому, для подальшої візуалізації реакції, за місця зв'язування зі специфічними антитілами до $25(OH)D_3$, попередньо сорбованими на дні лунок планшету (наприклад, General 25-Hydroxyvitamin D_3 (HVD₃) ELISA Kit (UNDL00047, AssayGenie, Ireland), 25-OH Vitamin D total ELISA (DE1971, Demeditec, Germany), OSTEIA 25-Hydroxy Vitamin D (AC-57F1, IDS, Germany). Крім того, молекула $25(OH)D_3$ є низькомолекулярним гаптенем і не може бути визначена класичним «сендвіч»-ІЕА.

Співробітниками Інституту біохімії імені О. В. Палладіна НАН України розроблено оптимальну схему постановки імуноензимної реакції та створено вітчизняну вискоефективну імуноензимну тест-систему для визначення вмісту гідроксильованої форми вітаміну D_3 в сироватці крові. Тест-система сконструйована на основі специфічних до $25(OH)D_3$ антитіл, отриманих з використанням кон'югантів $25(OH)D_3$ з гемоціаніном молюска (KLH). Висока чутливість тест-системи забезпечується використанням біотин-стрептавідинового підсилення і візуалізації імуноспецифічного сигналу за участю молекул стрептавідину, мічених пероксидазою хрому, що підтверджено рядом стандартних валідаційних характеристик (чутливість, перехресна реактивність та точність). У співпраці з ПрАТ НВК «Діапроф-Мед» було виготовлено зразки розробленої імуноензимної тест-системи для визначення $25(OH)D_3$ у серологічних зразках [Mazanov A. O., Shymanskyi I. O., Veliky M. M. Development and validation of immunoenzyme test-system for determination of 25-hydroxyvitamin D in blood serum // Biotechnologia acta. 2016; 9(2): 28-36.]. Проведені випробування на сироватках крові піддослідних тварин, здорових донорів та пацієнтів з різними захворюваннями, показали високу ефективність тест-системи та низьку варіативність отриманих результатів.

5.1. Імуноензимний аналіз (ELISA) вмісту $25(\text{OH})\text{D}_3$ – 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові

Підготовка зразків сироватки крові. Зібрану цільну кров поміщають у пробірку та інкубують 30 хвилин за температури $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ до утворення згустку, після чого центрифугують при 3000 об/хв протягом 15 хв. Супернатант (сироватку) обережно відбирають та аліквотують для негайного аналізу або тривалого зберігання (до 5 днів при $4\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$, до 1 року при від -20 до $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$). Не допускати повторних циклів заморожування/розморожування зразку.

Протокол проведення конкурентного імуноензимного аналізу для визначення $25(\text{OH})\text{D}_3$ у сироватці крові включає наступні кроки:

1. Інкубування полістиролового планшету з первинними антитілами (поліклональні антитіла з сироватки крові кроля, імунізованого кон'югатом $25(\text{OH})\text{D}_3$ -геоміанін (KLH)). Імуноглобуліни розчиняють у фосфатному буферному розчині (PBS) (pH 7,4) у концентрації 10 мкг загального протеїну у 1 мл розчину. Вносять по 100 мкл у кожен лунку та інкубують ніч за температури $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2. Лунки тричі промивають 0,05 % Tween 20-фосфатним буферним розчином (PBST) (pH 7,4), додаючи по 200 мкл у кожен лунку.

Процедуру 2 проводять після кожного етапу інкубування.

3. Вільні місця зв'язування (після сорбування антитіл) блокують, додаючи 300 мкл 0,05 % PBST у кожен лунку та інкубують 1 годину за температури $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4. У кожен лунку вносять конкурентний агент – $25(\text{OH})\text{D}_3$ -LC-біотин у концентрації 5 нг/мл у об'ємі 200 мкл. Додають по 10 мкл сироватки крові та калібраторів (наступні концентрації $25(\text{OH})\text{D}_3$: 1,25; 2,5; 10; 35; 70 та 150 нг/мл) й інкубують 1 годину 30 хв за кімнатної температури.

5. Вносять кон'югат стрептавідин-пероксидаза (HRP) у розведенні 1:400 в об'ємі 100 мкл. Інкубують 1 годину за кімнатної температури.

6. Субстрат – ТМВ (3,5,3',5'-тетраметилбензидин) додають у кожну лунку в об'ємі 100 мкл. Інкують 30 хв за кімнатної температури, в темноті.

Процедуру 2 не проводять!

7. У кожну лунку додають стоп-реагент – $4\text{N H}_2\text{SO}_4$ у об'ємі 50 мкл.

8. Вимірюють оптичну густину (OD) у лунках не пізніше 10-ї хвилини після зупинки реакції на мікропланшетному фотометрі за довжини хвилі $\lambda=450\text{ нм}$ (рис. 7).



Рис. 7. Мікропланшетний фотометр ER-500 Microplate Reader (SINNOWA) в роботі.

При розрахунку результатів рекомендовано використовувати комп'ютерні методи для побудови калібрувальної кривої (наприклад, за допомогою платформи GainData® arigo's ELISA Calculator (arigo Biolaboratories, Taiwan). Залежно від обраного формату аналізу отриманих значень, калібрувальна крива може мати різний вигляд: лінійна регресія, logit-log модель (логістична регресія), кубічний сплайн (кубічний багаточлен) та чотирьохпараметричний формат (4PL).

У конкурентному імуноензимному аналізі для побудови калібрувальної кривої використовують метод апроксимації кривої кубічним багаточленом. Кубічний багаточлен (сплайн) є відношенням логарифмічного вираження концентрації калібратора (по осі X) до відношення B/B_0 , де B – оптична густина зразка, а B_0 – оптична густина нульового калібратора. Концентрації розчинів

калібраторів наносять на горизонтальну вісь X, тоді як співвідношення V/B_0 , виражене у відсотках, відкладають на вертикальній осі Y. Для розрахунку показника V/B_0 оптичну густину калібратора, що не містив досліджуваної речовини (B_0), приймають за 100 %. Значення V/B_0 для інших калібраторів та зразків визначають шляхом ділення оптичної густини відповідного калібратора або зразка на оптичну густину B_0 з подальшим множенням результату на 100 для отримання відсоткових одиниць:

$$V/B_0 (\%) = \frac{OD V}{OD B_0} \times 100$$

Концентрацію $25(OH)D_3$ у досліджуваних зразках визначають за рівнянням побудованої калібрувальної кривої шляхом інтерполяції отриманих значень V/B_0 .

Оскільки $25(OH)D_3$ калібратора конкурує за місця зв'язування зі специфічними антитілами на дні лунок планшету, між оптичною густиною кожного калібратора і його концентрацією є обернена залежність, яку і демонструє калібрувальна крива, наведена на рисунку 8. Діапазон концентрацій калібраторів покриває найнижчий та найвищий рівні $25(OH)D_3$ у зразку.

Узагальнена схема проведення конкурентного імуноензимного аналізу для визначення вмісту $25(OH)D_3$ у сироватці крові наведена на рисунку 9.

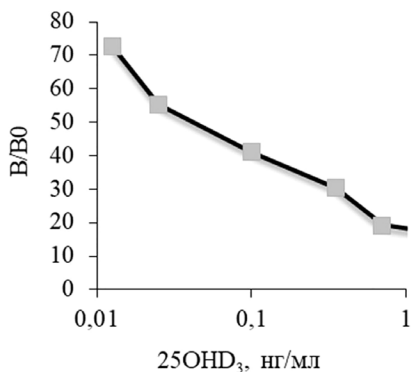


Рис. 8. Стандартна калібрувальна крива імуноензимного аналізу для визначення вмісту $25(OH)D_3$.

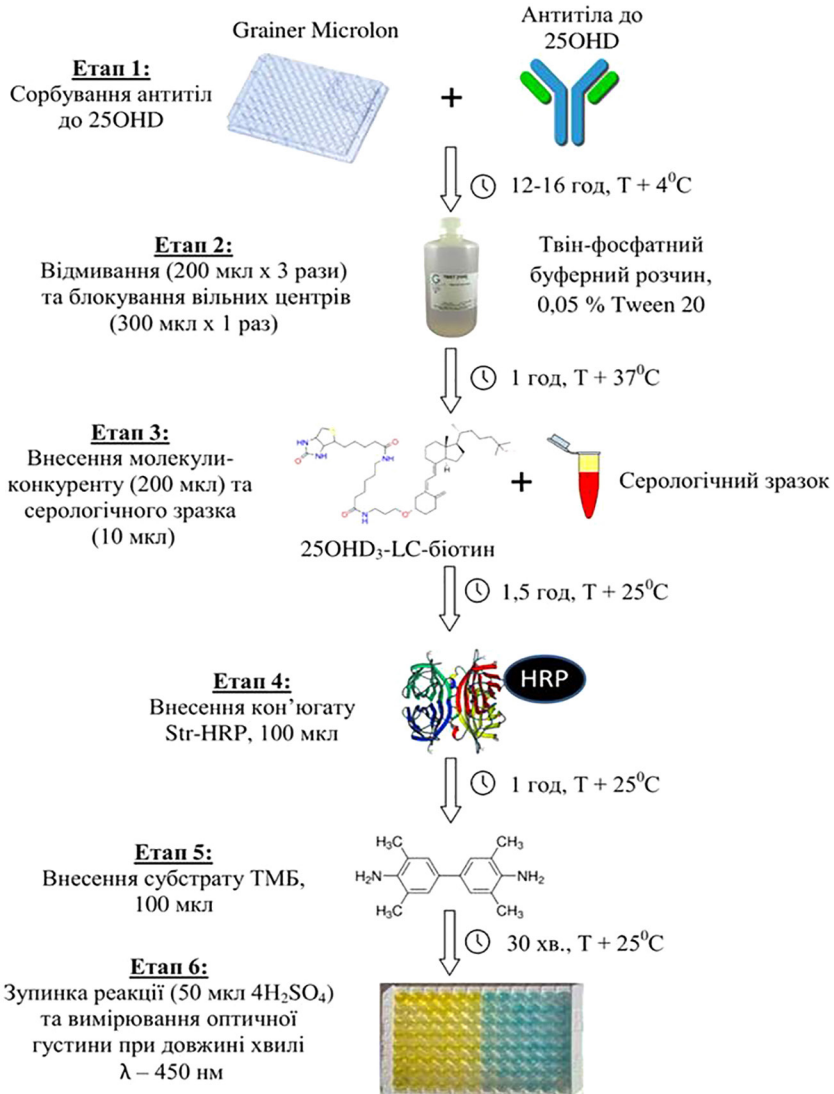


Рис. 9. Схема проведення імуноензимного аналізу для визначення вмісту 25(ОН)D₃ в сироватці крові.

5.2. Порівняльний аналіз вмісту $25(\text{OH})\text{D}_3$ у сироватці крові в нормі та за патологічних станів

Як зазначалось, на сьогодні оптимальним та інформативним показником забезпеченості організму вітаміном D вважають вміст кальцидіолу ($25(\text{OH})\text{D}_3$) у сироватці крові. Відповідно сучасній класифікації забезпеченості організму вітаміном D концентрація $25(\text{OH})\text{D}_3$ має підтримуватись у межах 30–50 нг/мл або 75–125 нмоль/л ($\text{нг/мл} \cdot 2.496 = \text{нмоль/л}$) (табл. 1). Зниження рівня $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сироватці крові нижче 30 нг/мл або 75 нмоль/л визначають як недостатність вітаміну D. Значення до 20 нг/мл або 50 нмоль/л, як правило, характеризує глибокий дефіцит вітаміну D в організмі. У більшості країн світу великий відсоток населення є дефіцитним за рівнем вітаміну D в організмі [Grygorieva N., Tronko M., Kovalenko V., Komisarenko S., Tatarchuk T., Dedukh N., Veliky M., et al. Ukrainian Consensus on Diagnosis and Management of Vitamin D Deficiency in Adults. *Nutrients*. 2024;16(2):270].

Проведені дослідження на різних експериментальних моделях продемонстрували зниження рівня $25(\text{OH})\text{D}_3$ у сироватці крові піддослідних тварин за різних форм експериментальної патології (табл. 2). Зокрема, вміст $25(\text{OH})\text{D}_3$ у сироватці крові суттєво знижувався у щурів з аліментарним D_3 -дефіцитом (на 63,3 %), з дефіцитом вітаміну D_3 за тривалого прийому глюкокортикоїдів (на 51,3 %) та з дефіцитом вітаміну D_3 за експериментальної прееклампсії (на 56,5 %). За умови дефіциту вітаміну D_3 за цукрового діабету 1 та 2 типу, більш вираженим було зниження на моделі цукрового діабету 2 типу (на 33,8 % та 65,1 % відповідно). За хронічного алкоголізму спостерігали зменшення вмісту $25(\text{OH})\text{D}_3$ у сироватці крові на 46,5 % проти контролю, що свідчило про розвиток стану глибокої вітамін D-недостатності. Слід зазначити значно нижчий (майже двічі) рівень $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сироватці крові старих щурів в порівнянні з молодими (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст 25(OH)D₃ у сироватці крові в нормі та за умови експериментальної патології, M±m, n=10

Дослідні групи тварин	Вміст 25(OH)D ₃ у сироватці крові	
	нмоль/л	нг/мл
Контроль (щури молодого віку (3–4 місяці), маса 150–200 г)	97,5 ± 3,7	39,0 ± 2,4
Контроль (старі щури (10–11 місяців), маса 300–400 г)	51,7 ± 1,7*	20,6 ± 1,3*
Аліментарний D ₃ -дефіцит	35,8 ± 2,7*	14,3 ± 0,8*
Дефіцит вітаміну D ₃ за дисфункціонального остеопорозу	33,4 ± 2,3*	13,4 ± 0,6*
Дефіцит вітаміну D ₃ індукований глюкокортикоїдами	47,5 ± 2,6*	19,0 ± 0,7*
Дефіцит вітаміну D ₃ за цукрового діабету 1 типу	64,5 ± 5,3*	25,8 ± 1,7*
Дефіцит вітаміну D ₃ за цукрового діабету 2 типу	34,0 ± 2,9*	13,6 ± 1,2*
Дефіцит вітаміну D ₃ за експериментальної прееклампсії	42,4 ± 2,7*	17,0 ± 1,1*
Дефіцит вітаміну D ₃ за хронічного алкоголізму	52,2 ± 3,9*	21,1 ± 1,6*
Дефіцит вітаміну D ₃ за дефіциту тіаміну	86,8 ± 6,7*	34,8 ± 2,7*

Примітка: * – зміни достовірні порівняно з контролем (щури молодого віку), P<0,05.

Узагальнення

Оптимізований метод конкурентного імуноензимного аналізу (ELISA) є високоефективним та специфічним інструментом для верифікації вмісту 25-гідроксихолекальциферолу ($25(\text{OH})\text{D}_3$) у серологічних зразках, застосування якого є доцільним для скринінгу, діагностики та комплексної оцінки D_3 -вітамінного статусу організму як у фізіологічній нормі, так і за умов розвитку патологічних станів, зокрема на відтворюваних експериментальних моделях.

У методичних рекомендаціях детально описано алгоритми, практичні аспекти та стандартизовані вимоги до проведення конкурентного ELISA, включаючи покрокові інструкції щодо виконання аналітичного процесу від етапу преаналітичної підготовки біологічних зразків, отриманих зокрема від експериментальних тварин, до математично-статистичного обчислення та інтерпретації одержаних даних.

Наведений у роботі фундаментальний теоретичний матеріал всебічно розкриває глобальну проблему пандемії дефіциту вітаміну D_3 , молекулярні механізми дії холекальциферолу, а також його системні біологічні ефекти, верифіковані під час власних експериментальних досліджень. Представлені матеріали спрямовані на інтенсифікацію та поширення науково обґрунтованих знань щодо біохімічного контролю й підтримання оптимального рівня вітаміну D_3 в організмі. Тому запропоновані рекомендації є універсальним навчально-методичним ресурсом для впровадження у навчальний процес та науково-дослідну діяльність здобувачів вищої освіти другого та третього ступенів, аспірантів, викладачів і наукових співробітників, які спеціалізуються на виконанні експериментальних та клінічних досліджень.

Перелік рекомендованої літератури

1. Bikle D.D. Vitamin D: Newer Concepts of Its Metabolism and Function at the Basic and Clinical Level. *Journal of the Endocrine Society*. 2020;4(2). 1-20. doi: <https://doi.org/10.1210/jendso/bvz038>.
2. Veliky M., Shymanskyi I., Kuchmerovska T., Parkhomenko Yu. Scientific advancement on the way to molecular vitaminology at the Department of Vitamins and Coenzymes of the Palladin Institute of Biochemistry. *Ukr Biochem J*. 2025; 97(5) : 41-58. doi: <https://doi.org/10.15407/ubj97.05.040>.
3. Grygorieva N., Tronko M., Kovalenko V., Komisarenko S., Tatarchuk T., Dedukh N., Veliky M., Strafun S., Komisarenko Y., Kalashnikov A., Orlenko V., Pankiv V., Shvets O., Gogunska I., Regeda S. Ukrainian Consensus on Diagnosis and Management of Vitamin D Deficiency in Adults. *Nutrients*. 2024;16(2):270. doi: <https://doi.org/10.3390/nu16020270>.
4. Pludowski P., Takacs I., Boyanov M., Belaya Z., Diaconu C.C., Mokhort T., Zherdova N., Rasa I., Payer J., Pilz S. Clinical Practice in the Prevention, Diagnosis and Treatment of Vitamin D Deficiency: A Central and Eastern European Expert Consensus Statement. *Nutrients* 2022; 14(7): 1483. doi: <https://doi.org/10.3390/nu14071483>.
5. Vincenzi F., Smirne C., Tonello S., Sainaghi P.P. The Role of Vitamin D in Autoimmune Diseases. *Int J Mol Sci*. 2026;27(1):555. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms27010555>.
6. Demay M.B., Pittas A.G., Bikle D.D., Diab D.L., Kiely M.E., Lazaretti-Castro M., Lips P., Mitchell D.M., Murad M.H., Powers S., Rao S.D., Scragg R., Tayek J.A., Valent A.M., Walsh J.M.E., McCartney C.R. Vitamin D for the Prevention of Disease: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2024;109(8):1907-1947. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgae290>.
7. Christakos S., Dhawan P., Verstuyf A., Verlinden L., Carmeliet G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol. Rev*. 2016; 96(1):365-408. doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2015>.
8. Holick M.F. Revisiting Vitamin D Guidelines: A Critical Appraisal of the Literature. *Endocr. Pract.* 2024;30(12):1227-1241. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2024.10.011>.
9. Mazanova A.O., Shymanskyi I.O., Veliky M.M. Development and validation of immunoenzyme test-system for determination of 25-hydroxyvitamin D in blood serum // *Biotechnologia acta*. 2016; 9(2): 28-36.
10. Binkley N., Dawson-Hughes B., Durazo-Arvizu R., Thamm M., Tian L., Merkel J.M., Jones J.C., Carter G.D., Sempas C.T. Vitamin D measurement standardization: The way out of the chaos. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;173:117-121. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.12.002>.

Виробничо-практичне видання

Великий Микола Миколайович
Шиманський Ігор Олександрович
Хоменко Анна Вікторівна та ін.

**ДОСЛІДЖЕННЯ D-ВІТАМІННОГО СТАТУСУ ОРГАНІЗМУ
В НОРМІ ТА ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ**

Методичні рекомендації

Формат 60×84/16. Ум. друк. арк. 3,02. Тираж 100 пр. Зам. № 73.

Видавець і виготовлювач
Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, Україна.

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру суб'єктів
видавничої справи ДК № 7242 від 02.02.2021 р.