

# РЕЗУЛЬТАТЫ РАНДОМИЗИРОВАННОГО, ПЛАЦЕБО-КОНТРОЛИРУЕМОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ РАЗНЫХ ФОРМ СПРЕЯ ВИТАМИНА D НА УРОВЕНЬ ВИТАМИНА D3 В КРОВИ

## Мартиньш Борудушкис

исследователь факультета биологии Латвийского университета

## Анна Рамата-Стунда

лектор факультета биологии Латвийского университета

## Гуна Биланде

диетолог, медицинский факультет Латвийского университета, SIA Jūrmalas slimnīca, SIA Aiwa clinic

## Алексей Дерев, Dr. med.

интернист, гастроэнтеролог, Ассоциированный профессор Рижского университета имени Страдыня, Амбулаторная часть Рижской Восточной клинической университетской больницы, Латвийский центр морской медицины

Данное исследование *in vivo* является продолжением исследования *in vitro*, опубликованного в номере журнала *Latvijas Ārsti* за октябрь 2020 года. Целью исследования было определить эффективность общего накопления витамина D в организме в зависимости от дозы и продолжительности употребления, а также сравнить два разных продукта витамина D<sub>3</sub> с разными базовыми составами, относительные различия накопления в организме, связав эти показатели с информаций (коррелируя) о пищевых привычках и образе жизни.

## Материал и методы

Время проведения исследования составило один месяц (30 дней) с начала употребления витамина D<sub>3</sub> (первая группа 10.02.2020–12.03.2020), что совпадает со следующим днем после первой сдачи крови.

Критерии исключения: беременные, несовершеннолетние лица, лица с ментальными расстройствами, люди, дополнительно принимающие комплексные витамины, а также лица, у которых начальный уровень витамина D не соответствовал выдвинутым в исследовании требованиям.

Лабораторный анализ образцов крови: Центральная лаборатория – улица Шарлотес, 1В, в Риге. Исследование проводилось с использованием базы SIA InCell и при поддержке SIA Pharm&Med.

Участники исследования были разделены на 3 группы:

- 1-я группа – люди с уровнем витамина D 9–32,5 нг/мл, которые принимали встроенный в микроэмульсию холекальциферол (LYL *micro*®, в тексте также «группа А») 4000 МЕ/2х/день после еды, утром и вечером, тщательно взбалтывая продукт перед употреблением;
- 2-я группа – люди с уровнем витамина D 7,9–31,2 нг/мл, которые принимали встроенный в наночастицы холекальциферол (LYL *EFFUSIO*®, в тексте также «группа В») 4000 МЕ/2х/день после еды, утром и вечером, тщательно взбалтывая продукт перед употреблением;
- контрольная группа – люди с уровнем витамина D 14,6–34,9 нг/мл, которые принимали продукт плацебо 2 х/день после еды, утром и вечером, тщательно взбалтывая продукт перед употреблением (далее в тексте «плацебо»).

Исследуемый материал: венозная кровь с антикоагулянтом (K<sub>2</sub>EDTA, 5,4 мг) и сыровотка.

Использованное оборудование: Abbott Architect (клиническая химия, иммунохимия, определение 25-ОН витамина D), производитель – Иллинойс, США.

## Обработка статистики данных

Первые результаты исследования были проанализированы с помощью t-тестов и анализа ANOVA. Где это было применимо, был рассчитан коэффициент корреляции Пирсона. Для анализа данных использовалось программное обеспечение *GraphPad Prism 8*. Статистическая обработка данных анкетирования проводилась с использованием компьютерной программы SPSS (*Statistical Package of the Social Science*) v.23.0. и MS Excel 2017:

- для описания данных исследования была использована описательная статистика с показателями центральной тенденции и изменчивости;
- для оценки взаимозависимости использовался корреляционный анализ с применением теста *Spearman rho*;
- для сравнения средних показателей между группами использовался *Mann-Whitney U*;
- взаимное сравнение групп проводилось с помощью теста *Pearson Chi square*;
- уровень статистической значимости –  $p < 0,05$ .

Все участники исследования подписали специальную форму согласия. Во время исследования – как в начале, так и в конце – проводилось анкетирование на тему пищевых привычек и образа жизни для

определения корреляции с показателями общего витамина D в крови. Не запрашивались и не использовались результаты никаких ранее сделанных анализов. В целях исследования в две специальные пробирки было взято по 6 мл крови – одна пробирка в начале исследования, вторая – в конце исследования. Все полученные в ходе исследования индивидуальные результаты анализов были закодированы и доступны только исследователям, а также, после окончания исследования, каждому лицу по запросу были направлены результаты индивидуальных анализов. Для реализации исследования было получено разрешение Комиссии по этике научных исследований Института кардиологии и регенеративной медицины Латвийского университета.

## Анализ результатов и дискуссия

На первый визит в рамках исследования были приглашены 158 участников (как мужчин, так и женщин в возрасте от 18 до 60 лет). После оценки первичных анализов на второй анализ в соответствии с критериями включения были приглашены 116 участников, повторный анализ сдали 114 участников. В соответствии с критериями исключения для участия в исследовании квалифицировались 111 участников, из которых 84 человека принимали витамин D<sub>3</sub> с различным базовым составом. Из них 41 участник принимал встроенный в микроэмульсию холекальциферол (первая группа, или группа А) и 43 участника принимали встроенный в наночастицы холекальциферол (вторая группа, или группа В), а 27 человек не принимали ни конкретный,

ни какой-либо другой препарат, содержащий витамин D и вошли в группу плацебо (третья, или контрольная группа).

Анализируя данные, полученные из литературы, следует сделать вывод, что, хотя количество включенных в исследование людей относительно невелико, существуют исследования, в которых оперируют подобным или даже меньшим количеством испытуемых, реализуют исследование в течение сравнительно короткого периода времени и соответственно делают выводы. Следует добавить, что некоторые исследования имеют весьма различающуюся методологию и качество, вследствие чего зачастую бывает затруднен метаанализ, на что указывают некоторые авторы. Например, *Negar Naderpoor* с соавторами при проведении рандомизированного исследования, опубликованного в 2019 году, обратились к весьма современной теме – фекальной микробиоте, а именно, ее взаимосвязи с дополнительным приемом витамина D, и включили в него только 32 участника. [1] *Manjunath Havalappa Dodamani* с соавторами исследовали дополнительный прием витамина D пациентами с астмой, отягощенной аллергическим бронхолегочным аспергиллезом, включив в исследование еще меньше участников – только 30 человек. [2] *Hajar Mazahery* с соавторами, выполняя рандомизированное контролируемое исследование, целью которого было изучение терапевтической эффективности Омега-3 и витамина D у детей с расстройствами аутистического спектра, первоначально включили 111 детей, однако позднее это количество уменьшилось на 34 %, и подобных примеров в литературе множество. [3]

Из общего количества включенных в исследование участников, 31 участник был мужского пола и 80 – женского. Наиболее широко была представлена возрастная группа 30–39 лет, которая составляла 54,8 % от общего количества участников-мужчин и 36,3 % от общего количества участниц-женщин. На втором месте по пред-

ставительству была возрастная группа 40–49 лет с соответствующим удельным весом среди мужчин 19,4 % и среди женщин – 26,3 % от общего количества включенных в исследование участников (см. рис.1). Распределение включенных в исследование участников по возрастным группам и группам приема конкретного продукта было схожим. В ходе исследования не было констатировано статистически значимого влияния демографических показателей на изменения уровня витамина D.

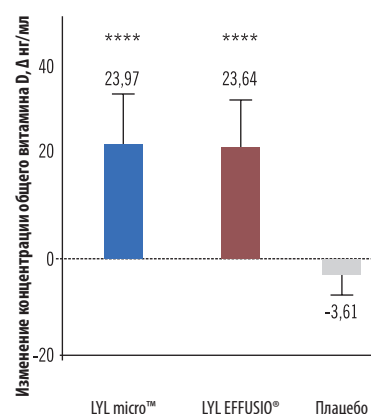
## Изменения концентрации витамина D

В начале исследования у участников группы А (встроенный в микроэмульсию холекальциферол) концентрация общего витамина D в сыворотке крови была в пределах от 9,0 до 32,5 нг/мл (в среднем  $21,7 \pm 7,19$  нг/мл). Концентрация общего витамина D в сыворотке крови участников из группы В (встроенный в наночастицы холекальциферол) была в пределах от 7,9 до 31,2 нг/мл (в среднем  $21,5 \pm 5,7$  нг/мл). Концентрация общего витамина D в сыворотке крови участников из контрольной группы (плацебо) в начале исследования была в пределах от 14,6 до 34,9 нг/мл (в среднем  $24,7 \pm 6,36$  нг/мл).

В конце исследования концентрация общего витамина D в сыворотке крови у участников группы А (встроенный в микроэмульсию холекальциферол) была в пределах от 21,3 до 66,1 нг/мл (в среднем  $45,7 \pm 10,02$  нг/мл). У всех участников данной группы было отмечено повышение концентрации витамина D. У участников из группы В (встроенный в наночастицы холекальциферол) в конце исследования концентрация общего витамина D в сыворотке крови была в пределах от 24,9 до 72,5 нг/мл (в среднем  $45,1 \pm 9,73$  нг/мл). У всех участников группы наблюдалось повышение концентрации уровня витамина D. У участников контрольной группы (плацебо) уровень витамина D в сыворотке крови к концу исследования был

Изменение концентрации общего витамина D (разница в концентрации в начале исследования и в конце исследования) по группам, нг/мл. Пунктирная линия обозначает состояние на момент начала исследования (\*\*\*\*  $p < 0,0001$ )

Рис.3.

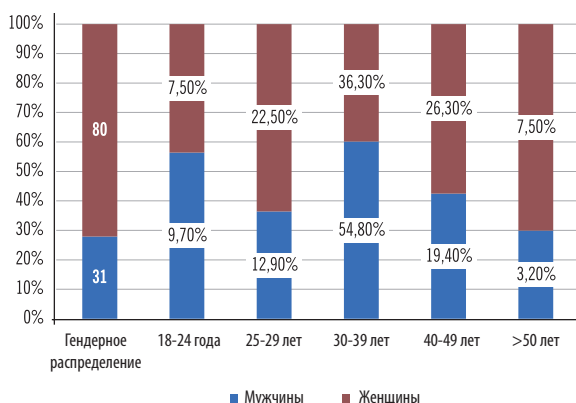
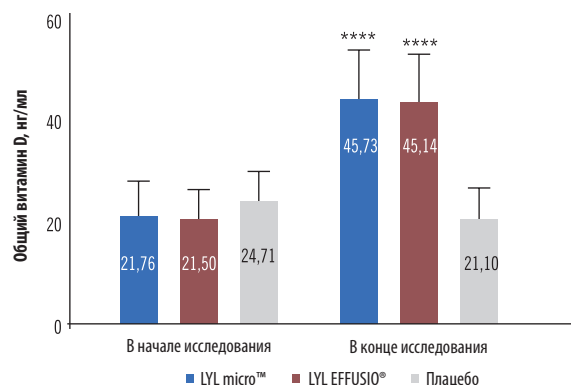


в пределах от 11,8 до 31,8 нг/мл (в среднем  $21,1 \pm 5,94$  нг/мл). У всех участников контрольной группы (кроме трех) было отмечено снижение уровня общего витамина D в сыворотке крови.

В ходе анализа изменений и сравнения с началом исследования в группе А уровень общего витамина D повысился на 5,9 до 44,4 нг/мл (в среднем на  $23,97 \pm 9,81$  нг/мл), в группе В уровень общего витамина D вырос на 5,5 до 49,3 нг/мл (в среднем на  $23,64 \pm 9,27$  нг/мл), в свою очередь, у 25 участников контрольной группы было отмечено снижение уровня витамина D на 0,1 до 10,9 нг/мл (в среднем  $4,0 \pm 3,5$  нг/мл). В случае трех участников контрольной группы было отмечено небольшое повышение уровня витамина D на 1,3, 0,9 и 0,1 нг/мл. Общие различия концентрации витамина D между группой плацебо и обеими группами, принимавшими продукты, являются статистически значимыми (см. рис. 2 и 3).

Кроме того, дополнительно проводился анализ корреляции между уровнем общего витамина D и его повышением в конце исследования. Как в группе А, так и в группе В была отмечена негативная корреляция

Рис.1. Возрастная структура и гендерное распределение участников исследования

Рис.2. Концентрация общего витамина D в сыворотке крови в начале и конце исследования (нг/мл \*\*\*\*  $p < 0,0001$ )

(коэффициент корреляции Пирсона соответственно  $r = -0,773$  и  $r = -0,718$  при статистической значимости  $p < 0,0001$ ), следовательно, при меньшем начальном уровне отмечалось более выраженное повышение уровня общего витамина D.

Как уже упоминалось в предыдущей статье, несмотря на его коммерческую доступность, мало известно об эффективности перорального витамина D, который главным образом всасывается в ротовой полости – под языком и в небной мембране, а не в желудочно-кишечном тракте. Результаты последних исследований также показали, что витамин D для приема внутрь может обеспечить ускоренный путь абсорбции по сравнению с капсулами, и также может подходить пациентам с мальабсорбцией пищеварительного тракта. [4] Поэтому в настоящее время появляются публикации различных групп исследователей, которые анализируют эффективность этой относительно новой формы витамина D. Например, следует упомянуть группу исследователей из Ирландии, которая в рамках рандомизированного исследования, хотя и с меньшим количеством пациентов, пришла к выводу, что витамин D3 в форме спрея для полости рта является в равной мере эффективной альтернативой инкапсулированным формам для здоровых взрослых людей. [5]

## Сопутствующие заболевания

В результате анкетирования также была получена информация о сопутствующих заболеваниях участников исследования, которые могли бы повлиять на показатели витамина D в крови. В целом почти третья часть, или 30 участников отметили, что у них нет никаких сопутствующих заболеваний, в свою очередь, одно или два сопутствующих заболевания были соответственно у 19 (18,6 %) и 17 (16,7 %) участников. Чаще всего участники исследования упоминали боли в спине (38 %), слабость и усталость (50,1 %), боль и скованность в суставах (23,9 %), выпадение волос (19,5 %) и мышечные судороги (18 %). Сопутствующие заболевания участников исследования и их комбинации были закономерны, и никакой нетипичной корреляции не наблюдалось. В целом в данных анамнеза не было обнаружено выраженной корреляции с уровнем витамина D.

## Литература

- Naderpoor N., Mousa A., Arango L.F.G. et al. Effect of Vitamin D Supplementation on Faecal Microbiota: A Randomised Clinical Trial. *Nutrients*. 2019 Dec; 11(12): 2888.
- Dodamani M.H., Muthu V., Thakur R. et al. A randomised trial of vitamin D in acute-stage allergic bronchopulmonary aspergillosis complicating asthma. *Mycoses*. 2019 Apr; 62(4): 320–327. doi: 10.1111/myc.12879
- Mazahery H., Conlon C.A., Beck K.L. et al. A randomised

Рис. 4. | Изменение пищевых привычек участников исследования во время исследования



## Пищевые привычки

Анализируя пищевые привычки участников исследования, можно сделать вывод, что среди участников в целом отмечается большое разнообразие употребляемых в пищу продуктов – 85 % участников употребляли по крайней мере 6 разных продуктов из перечисленных в анкете.

Согласно данным анкетирования на тему пищевых привычек можно сделать вывод, что за время проведения исследования сократилось как разнообразие питания участников исследования (после исследования по крайней мере 6 из перечисленных в анкете продуктов употребляли всего 58 %, на 27 % меньше, чем раньше), так и потребление продуктов, содержащих витамин D. Несмотря на то, что участники исследования во время исследования рыбу и яйца ели реже, чем на момент начала исследования, уровень витамина D вырос, что дополнительно указывает на эффективность составов и на то, что повышение уровня витамина D не было обеспечено за счет продуктов питания (см. рис. 4).

Примечательно, что, несмотря на то, что 95,5 % участников исследования подтвердили, что, по их мнению, ежедневный дополнительный прием витамина D в форме пищевой добавки необходим, а также, что делать это следует в течение всего года (94,5 %), ответ участников исследования на вопрос о регулярном дополнительном при-

еме витамина D показал, что значительная часть участников (57,7 %) принимает витамин D только в темное и холодное время года. Никогда не принимали витамин D дополнительно 28,8 % участников, а круглый год его принимали только 13,5 % или 15 человек из общего количества участников исследования. Этот факт указывает на то, что необходимо дополнительно просвещать жителей, подчеркивая значение роли витамина D в организме и информируя их о возможностях его дополнительного употребления на нашей географической широте. Важно отметить также, что 85,6 % участников исследования согласны с утверждением, что витамин D в распыляемой форме или в виде спрея более удобен в использовании по сравнению с содержащими витамин D капсулами, таблетками и каплями.

## Выводы

Встроенный в микроэмульсию холекальциферол (LYL *micro*®) и встроенный в наночастицы холекальциферол (LYL *EFFUSIO*®), который принимали два раза в день, эффективно повысил уровень общего витамина D в сыворотке крови в течение одного месяца употребления. В перспективе необходимы более широкие исследования, которые позволили бы собрать больше данных об изменении концентрации уровня витамина D.

- controlled trial of vitamin D and omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in the treatment of irritability and hyperactivity among children with autism spectrum disorder. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019 Mar; 187: 9–16.
- M.C. Satia, A.G. Mukim, K.D. Tibrewala, M.S. Bhavsar. A randomized two way cross over study for comparison of absorption of vitamin D3 buccal spray and soft gelatin

- capsule formulation in healthy subjects and in patients with intestinal malabsorption. *Nutr J*. 2015; 14: 114.
- Joshua J. Todd, Emeir M. McSorley, L. Kirsty Pourshahidi et al. Vitamin D3 supplementation in healthy adults: a comparison between capsule and oral spray solution as a method of delivery in a wintertime, randomised, open-label, cross-over study. *British Journal of Nutrition* (2016), 116, 1402–1408.