

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BARBARA TRDAN

DIPLOMSKA NALOGA

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI PROGRAM LABORATORIJSKE
BIOMEDICINE

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BARBARA TRDAN

**POVEZANOST KONCENTRACIJ VITAMINA D IN
GLUKOZE PRI BOLNIKI S SLADKORNO BOLEZNIJO**

**CONNECTION OF CONCENTRATIONS OF VITAMIN D
AND GLUCOSE IN PATIENTS WITH DIABETES**

HIGHER EDUCATION PROGRAM LABORATORY BIOMEDICINE

Ljubljana, 2016

Diplomsko nalogo sem opravljala na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju za strokovno pomoč, koristne napotke in porabljen čas pri nastajanju diplomske naloge.

Posebna zahvala je namenjena moji družini za vso izkazano podporo, potrpežljivost in spodbudo med študijem.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Ljubljana, 2016

Barbara Trdan

Predsednica diplomske komisije:izr. prof. dr. Lucija Peterlin Mašič, mag. farm.

Član diplomske komisije: doc. dr. Jurij Trontelj, mag. farm.

VSEBINA

| | |
|---|------------|
| KAZALO GRAFOV..... | III |
| KAZALO PREGLEDNIC | IV |
| POVZETEK | V |
| ABSTRACT | VI |
| SEZNAM OKRAJŠAV | VII |
| 1 UVOD | 1 |
| 1.1 DEFINICIJA SLADKORNE BOLEZNI | 1 |
| 1.2 VZROKI ZVIŠANJA KRVNEGA SLADKORJA IN SLADKORNE BOLEZNI | 2 |
| 1.2.1 VZROKI ZA ZVIŠAN KRVNI SLADKOR | 2 |
| 1.2.2 PRESNOVA KRVNEGA SLADKORJA PRI ZDRAVEM ČLOVEKU | 2 |
| 1.2.3 OBČUTLJIVOST ZA INZULIN..... | 4 |
| 1.3 RAZLAGA SLADKORNE BOLEZNI..... | 4 |
| 1.3.1 BOLEZENSKE TEŽAVE ZARADI ZVIŠANEGA KRVNEGA SLADKORJA | 4 |
| 1.3.2 KLINIČNA SLIKA, DIAGNOZA, EPIDEMIOLOGIJA SLADKORNE BOLEZNI | 5 |
| 1.3.3 SLADKORNA BOLEZEN TIPA 1 | 6 |
| 1.3.4 SLADKORNA BOLEZEN TIPA 2..... | 6 |
| 1.3.5 DRUGI TIPI SLADKORNE BOLEZNI | 7 |
| 1.3.6 SLADKORNA BOLEZEN V NOSEČNOSTI | 7 |
| 1.3.7 MOTENA TOLERANCA ZA GLUKOZO IN MEJNA BAZALNA GLIKEMIJA..... | 8 |
| 1.4 PREPREČEVANJE NASTANKA SLADKORNE BOLEZNI..... | 8 |
| 1.5 DELITEV VITAMINOV..... | 9 |
| 1.6 VITAMIN D..... | 9 |
| 1.6.1 BIOSINTEZAVITAMINA D | 10 |
| 1.6.2 ABSORPCIJA IN PRENOS VITAMINA D | 11 |
| 1.6.3 PORAZDELITEV IN SHRANJEVANJE VITAMINA D | 11 |
| 1.6.4 BIOLOŠKI PROCESI, KI JIH NADZORUJE VITAMIN D..... | 12 |
| 1.6.5 HIPERVITAMINOZA D..... | 13 |
| 1.6.6 HIPOVITAMINOZA D..... | 13 |
| 1.6.7 METABOLIZEM VITAMINA D | 14 |
| 1.6.8 REGULACIJA SINTEZE VITAMINA D..... | 14 |
| 1.6.9 POVEZANOST SLADKORNE BOLEZNI TIPA 2 IN VITAMINA D..... | 15 |
| 2 NAMEN DELA | 16 |
| 3 MATERIALI IN METODE | 17 |
| 3.1 OPIS PREISKOVALNE SKUPINE..... | 17 |

| | |
|---------------------------------|-----------|
| 3.2 METODE | 17 |
| 3.2.1 DOLOČANJE GLUKOZE | 17 |
| 3.2.2 DOLOČANJE VITAMINA D..... | 18 |
| | |
| 4 REZULTATI | 23 |
| | |
| 5 RAZPRAVA | 31 |
| | |
| 6 SKLEP | 35 |
| | |
| 7 LITERATURA | 36 |

KAZALO GRAFOV

| | |
|--|----|
| Graf 1: Grafični prikaz koncentracij vitamina D pri kontrolni in preiskovani skupini. | 27 |
| Graf 2: Koncentracija glukoze in vitamina D pri skupini preiskovancev v odvisnosti od starosti..... | 27 |
| Graf 3: Upadkoncentracije vitamina D v odvisnosti od koncentracije glukoze po starosti. | 28 |
| Graf 4: Upadkoncentracije vitamina D v odvisnosti od koncentracije glukoze. | 29 |
| Graf 5: Prikaz občutljivosti in specifičnosti ter razmejitvene vrednosti za vitamin D. | 30 |

KAZALO PREGLEDNIC

| | |
|--|----|
| Preglednica I: Reagenti, kalibrator, proizvajalec | 18 |
| Preglednica II: Referenčne vrednosti vitamina D..... | 21 |
| Preglednica III: Izračun porazdelitve rezultatov glukoze v kontrolni skupini (K-552) in preiskovani skupini (P-266)..... | 23 |
| Preglednica IV: Primerjava rezultatov koncentracij vitamina D med skupino preiskovancev (P-266) in kontrolno skupino (K-553)..... | 24 |
| Preglednica V: Delež rezultatov vitamina D v posamezni percentili pri skupini preiskovancev in pri kontrolni skupini. | 25 |
| Preglednica VI: Izračun signifikantnosti razlik. | 26 |

POVZETEK

Cilj diplomske naloge je bil razjasniti, ali je koncentracija vitamina D pri bolnikih s sladkorno boleznijo manjša kot pri tistih, ki nimajo sladkorne bolezni. Potrditi ali ovreči smo želeli hipotezo, da se koncentracija vitamina D manjša z večanjem koncentracije glukoze v krvi odvzetega vzorca. Želeli smo tudi preveriti, ali so koncentracije vitamina D manjše pri tistih diabetikih, ki imajo večje koncentracije glukoze. Zanimalo nas je, ali se s starostjo koncentracija vitamina D spreminja oziroma ali se povečuje ali zmanjšuje.

V ta namen smo izbrali 818 vzorcev preiskovancev, od katerih jih je imelo 266 potrjeno diagnozo sladkorna bolezen tipa 2, 552 preiskovancev pa je bilo izbranih za kontrolno skupino. Zahteva za vključitev v kontrolno skupino je bila, da preiskovanci nimajo sladkorne bolezni, metaboličnega sindroma in kroničnih obolenj srčno-žilnega sistema, ledvic, jeter in raka ter da imajo rutinsko določeno koncentracijo vitamina 25-OH-D. V diplomski nalogi smo za kontrolno skupino uporabili rezultate, ki smo jih pridobili na različnih oddelkih Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana v letih 2014 in 2015. Podatke smo razvrstili v tabele, jih uredili in obdelali s programom Microsoft Excel, z metodami opisne statistike.

Pri skupini preiskovancev s sladkorno boleznijo tipa 2 so določili koncentracijo vitamina 25-OH-D in ugotovili, da koncentracija vitamina D upada z naraščanjem koncentracije glukoze v krvi, in sicer je pri naši skupini pri koncentraciji glukoze 7,8 mmol/L koncentracija vitamina 25-OH-D 28 nmol/L, pri koncentraciji glukoze 15 mmol/L pa 21 nmol/L. Naslednja ugotovitev je, da koncentracija vitamina 25-OH-D upada s starostjo, in sicer je pri naši skupini v starostnem obdobju do 30 let povprečna določena koncentracija 38 nmol/L, v starostnem obdobju med 30 in 50 let 35 nmol/L, do 80. leta pade na 30 nmol/L, nad 90 let pa je 21 nmol/L. V kontrolni skupini so večje koncentracije vitamina 25-OH-D, in sicer med 40 in 51 nmol/L. Vse koncentracije za vitamin 25-OH-D so podane kot povprečne vrednosti na koncentracijski razpon glukoze (1 mmol/L) ali starostnega razreda (10 let).

Ključne besede: sladkorna bolezen, vitamin D, glukoza, koncentracija, starost.

ABSTRACT

The purpose of this thesis was to figure it out whether the concentration of vitamin D among patients with diabetes is lower in comparison to those who do not have diabetes. We wanted to confirm or reject the hypothesis stating that, when the concentration of the glucose is increasing the concentration of vitamin D is decreasing. Furthermore, we wanted to test out whether the concentration of vitamin D is lower in patients with higher concentration of glucose. Also we wanted to learn whether age affects on changing the concentration of vitamin D.

For this purpose we collected 818 samples of examinees, out of which 266 were diagnosed with type 2 diabetes, while 522 examinees were chosen to function as a control group. The requirements for entering the control group for examinees were no diabetes, no metabolic syndrome or chronic diseases of the cardiovascular system, kidneys, and liver cancer, and with routinely determined concentration of 25hydroxy vitamin D (25-OH-D vitamin). For our control group we utilized results which we acquired from different departments of University Medical Centre Ljubljana in the years of 2014 and 2015. We sorted the informations in tables, we edited and processed them in Microsoft Excel using the methods of descriptive statistics.

In our group of examinees with type 2 diabetes we have determined the concentration of 25hydroxy vitamin D and found out that the concentration of vitamin D is decreasing with the increase of the concentration of glucose in blood. Results showed the concentration of glucose being 7,8 mmol/l and the concentration of 25hydroxy vitamin D being 28 nmol/l, while with the concentration of glucose being 15 mmol/l, the concentration of 25hydroxy vitamin D was 21 nmol/l. The following findings showed that the concentration of 25hydroxy vitamin D is decreasing with age. The determined concentration of 25hydroxy vitamin D in the age bracket up to 30 years is 38 nmol/l, in the age bracket between the ages of 35 and 50 years the concentration is 35 nmol/l. Up to the age 80 the concentration drops on 30 nmol/l and after the age of 90, the concentration of 25hydroxy vitamin D is 21 nmol/l. In our control group we found higher concentrations of 25hydroxy vitamin D, ranging from 40 up to 51 nmol/l. All concentrations for 25hydroxy vitamin D are given as average values in the range of glucose concentration (1 mmol / l) or the age class (10 years).

Keywords: diabetes, vitamin D, glucose, concentration, age.

SEZNAM OKRAJŠAV

| Okrajšava | Pomen |
|-------------------------|--|
| 25(OH)D | 25-hidroksiholekalciferol;kalcidiol |
| 1,25(OH) ₂ D | 1,25-dihidroksiholekalciferol;kalcitriol |
| AUC | površje pod krivuljo (area under the curve) |
| CaBP | kalcij vezajoča beljakovina |
| CLIA | kemiluminoscenčnaimunološka metoda |
| DBP | vitamin D vezavni protein (vitamin D binding protein) |
| KIKKB | klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo |
| MBG | ocena glukoze v krvi (blood glucose estimation) |
| OGTT | oralni glukoznitolerančni test |
| POAD | peroralnianti diabetik |
| PTH | parathormon |
| ROC | karakteristika delovanja sprejemnika (receiver operating characteristic) |
| SB | sladkornabolezen |
| TRPV6 | membranski Ca ²⁺ kanal |
| Vitamin D ₂ | ergokalciferol |
| Vitamin D ₃ | holekalciferol |
| VDR | receptor za vitamin D |

1 UVOD

Ena od najbolj razširjenih epidemij tretjega tisočletja je sladkorna bolezen. Znana sta dva tipa sladkorne bolezni, tip 1 in tip 2. Tip 1 se po navadi zazna pri odraslih in otrocih še pred 30. letom, sladkorna bolezen (SB) tipa 2 pa je rezultat slabega delovanja beta celic pankreasa, kar imenujemo odpornost proti inzulinu. Vzrok nastanka sladkorne bolezni tipa 2 ni znan, vendar vedno več študij dokazuje povezavo genetske dovzetnosti in raznih zunanjih dejavnikov. Zmanjšana telesna dejavnost in povečan vnos hrane, predvsem maščob, močno vplivata na razvoj sladkorne bolezni. Zanimivo je, da kar polovico bolnikov odkrijejo po naključju, brez očitnih značilnih znakov sladkorne bolezni tipa 2. Če bolezen ne diagnosticirajo zgodaj in je ne zdravijo pravilno, lahko povzroči hude zaplete. Posledice zapletov se kažejo pri izgubi vida, amputaciji okončin, okvari ledvic in celo pri srčnem infarktu. Vse to lahko preprečimo z zgodnjim odkrivanjem bolezni, z zmanjševanjem vplivov in pravilnim zdravljenjem. Primerno temu je, da spremenimo naš stari življenjski slog, se začnemo gibati in zdravo prehranjevati. Zmanjšanje telesne teže je nujno pri bolnikih s čezmerno telesno težo. Če z vsemi naštetimi ukrepi še vedno ne moremo obvladovati krvnega sladkorja, je potrebna dodatna pomoč zdravljenja s peroralnimi antidiabetiki (POAD) in/ali inzulinom. (1)

1.1 DEFINICIJA SLADKORNE BOLEZNI

Sladkorna bolezen je skupina presnovnih bolezni, katerih skupna značilnost je kronična hiperglikemija, ki nastane kot posledica pomanjkljivega izločanja inzulina in/ali njegovega pomanjkljivega delovanja. Posledica nepravilnega delovanja inzulina je motena presnova ogljikovih hidratov, beljakovin in maščob. Kronična hiperglikemija je povzročitelj kronične okvare, motnje ali odpovedi delovanja različnih organov, še posebno srca in ožilja, pa tudi oči, živcev in ledvic. (2)

1.2 VZROKI ZVIŠANJA KRVNEGA SLADKORJA IN SLADKORNE BOLEZNI

1.2.1 VZROKI ZA ZVIŠAN KRVNI SLADKOR

Osnovna značilnost sladkorne bolezni je trajno zvišana raven krvnega sladkorja. Njegova presnova (presnova je širok pojem za procese v organizmu, ki se tičejo kemičnih in hormonskih sprememb) je pri sladkorni bolezni spremenjena zaradi prešibkega učinkovanja in inzulina. Da bi lažje razumeli nenormalno presnovo krvnega sladkorja pri sladkorni bolezni, bom razložila, kakšna je ta pri človeku brez sladkorne bolezni in kakšna pri nekom, ki jo ima. (3)

1.2.2 PRESNOVA KRVNEGA SLADKORJA PRI ZDRAVEM ČLOVEKU

Za delovanje možganov je bistven krvni sladkor ali glukoza. Kadar je raven glukoze v krvi prenizka, delovanje možganov ni normalno. Prav zato je v krvi nujno potrebna zadostna količina glukoze. Ko pa je le-te preveč, pa škoduje organizmu. Normalno je v naši krvi v zelo ozkih mejah: od 3 ali 4 mmol/L do 6 mmol/L zjutraj na tešče, po obroku pa od 7 do 8 mmol/L. Njena raven je stalna in natančno uravnana. Ravnotežje presnove, ki skrbi za ustrezno raven krvnega sladkorja, je zapleteno in prilagodljivo dogajanje. Način uravnavanja, ki zagotavlja pravšnjo raven krvnega sladkorja, je eden od najstrožje urejenih v človeškem telesu nasploh, glukoza v krvi pa se spreminja v skrajno ozkem pasu. (3)

Kadar se raven krvnega sladkorja zviša, hormon inzulin, ki se izloča iz beta celic v trebušni slinavki, poskrbi, da se tudi zniža. To se npr. zgodi vsakič, ko zaužijemo hrano, ki vsebuje ogljikove hidrate. Po prebavi, ki poteka v tankem črevesu, iz njih nastane krvni sladkor, ki se vsrka v kri, in raven v krvi se zviša. To spodbudi močno izločanje inzulina, ki poskrbi, da krvni sladkor vstopi v celice, v jetrih in mišicah pa se odloži v zalogo glikogena. Tako se raven krvnega sladkorja v dveh urah zniža na izhodno, inzulin pa tudi poskrbi, da se med obrokom samo nekoliko zviša. Zadostno izločanje inzulina je pogoj, da se to lahko dogaja. Ko mine nekaj ur od obroka, krvni sladkor iz hrane ni več na voljo, možgani pa ga potrebujejo, ker so od njega odvisni. Organizem takrat proizvaja krvni sladkor iz škrobnih zalog v jetrih. Inzulin deluje kot zaščitnik teh zalog. Ko raven krvnega sladkorja upade, se

izloča hormon glukagon, ta hormon v jetrih razgradi glikogen v glukozo in zmanjša tudi izločanje inzulina. Oba hormona sta v takem razmerju, da se škrob lahko razkrajaja ravno toliko, da se vzdržuje normalna raven krvnega sladkorja. (3)

Če dolgo ne zaužijemo hrane, zaloga škroba poide in takrat organizem začne uporabljati zaloge beljakovin in delno tudi maščob, ki se v jetrih spremenijo v krvni sladkor. To se dogaja običajno že zjutraj, ko smo tešči, še bolj pa pri stradanju. Tudi tu ima inzulin ključno vlogo, saj je zaščitnik zalog v celem telesu in ne sme dovoliti njihove pretirane razgradnje. Njegova raven v krvi se zniža toliko, da se lahko sprostijo zaloge, iz katerih nastane krvni sladkor (najprej iz škroba, pozneje iz beljakovin), vendar točno toliko, da je raven krvnega sladkorja ravno pravšnja.

Inzulin je hormon, ki spravlja krvni sladkor v celice našega organizma. Izloča se iz beta celic trebušne slinavke. To je organ, ki leži globoko v trebuhu med hrbtenico in želodcem. Opravlja dve nalogi, ki sta povezani s hrano: v prebavila spušča sokove, ki jih potrebujemo za prebavo hrane, in v kri izloča inzulin, ki skrbi za krvni sladkor in energijsko ravnotežje organizma. (3)

Inzulin ima več učinkov, ki so za organizem življenjsko pomembni. Poskrbi, da se energijska hranila iz hrane, ne samo krvni sladkor, tudi beljakovine in maščobe, v s prebavo razgrajenih delcih razporedijo po organizmu točno tja, kamor spadajo, in tako za organizem ni nobene škode. Ves prebitek vnesenih kalorij s hrano usmeri v maščobne zaloge v maščobnem tkivu, poleg tega pa je zaščitnik energijskih zalog v obliki škroba, beljakovin (ki so predvsem v mišicah) in maščob (ki so seveda predvsem v maščobnem tkivu). Organizem ima vgrajen varnostni mehanizem, da med hudo stisko oskrbi svoj najpomembnejši organ, možgane, s krvnim sladkorjem, vendar inzulin to nadzira, tako da ne pride do pretiranega razpada zalog. Ta lahko ima v kratkem zelo škodljive posledice za celoten organizem, ker razpad beljakovin in posebno maščob povzroči v organizmu nemogoče razmere, saj se v telesu nakopičijo kisline. Ko se mora krvni sladkor v organizmu proizvajati za potrebe možganov, se normalno inzulin umakne ravno toliko, kot je treba, in ne preveč, da ne pride do nenadzorovanega razpada zalog energijskih hranil v telesu. Poleg tega skrbi še za obnavljanje in zorenje celic v organizmu, kar se dogaja neprestano, je pa še posebno kritično v obdobju rasti.

1.2.3 OBČUTLJIVOST ZA INZULIN

Določena tkiva in organizem v celoti imajo pri zdravem človeku normalno odzivnost na inzulin, tako da je njegovo delovanje normalno, vsi omenjeni procesi pa se zgodijo brez odstopanja od normalnega oziroma zdravega stanja. Če je občutljivost slabša, je za enak učinek potrebno več inzulina. To imenujemo odpornost za inzulin oziroma inzulinska rezistenca. Debelost je močno povezana z njo. (3)

1.3 RAZLAGA SLADKORNE BOLEZNI

Temeljna težava je, da je pri sladkorni bolezni inzulina za normalno presnovo premalo. Pri sladkorni bolezni tipa 2 sposobnost izločanja inzulina postopno slabi. Posledica je postopno vse višji krvni sladkor, ki najprej zviša takrat, ko je potreba po inzulinu največja – to je po obroku hrane, ko mora inzulin obvladati naval sladkorja iz prebavil. Pozneje se zviša še na tešče, ko ne more več nadzorovati proizvodnje krvnega sladkorja iz škroba v jetrih. Preveč je aktiven tudi hormon glukagon, ki poveča sproščanje glukoze iz škrobnih zalog v jetrih. To se najbolj izrazi z visokim sladkorjem na tešče. (3)

1.3.1 BOLEZENSKE TEŽAVE ZARADI ZVIŠANEGA KRVNEGA SLADKORJA

Zvišan krvni sladkor je vzrok za bolezenske težave. Pri velikem pomanjkanju inzulina je raven krvnega sladkorja visoka ves dan. Najvišja je podnevi zaradi obrokov hrane, vendar je visoka tudi ponoči, ko se krvni sladkor v organizmu proizvaja pretirano. Ko je raven precej višja od 10 mmol/L, prehaja krvni sladkor v seč. Sladkor veže nase vodo in zato se količina seča poveča, organizem pa se odzove s klicem po vnosu dodatne tekočine. Bolnik to občuti kot pogostejše in obilnejše mokrenje, žejo in občutek suhih ust. Če tako stanje traja dolgo, se zaradi izgube energije na račun izgube krvnega sladkorja v seč pridružijo hujšanje, utrujenost, zaspanost in vnetje spolovila, ki ga spremlja srbečica. (3)

1.3.2 KLINIČNA SLIKA, DIAGNOZA, EPIDEMIOLOGIJA SLADKORNE BOLEZNI

Klinični opis

Poliurija, polidipsija in hujšanje, ki ga včasih spremlja motnja ostrine vida, so simptomi hiperglikemije. Ko ta ni dovolj visoka, da bi povzročila glikozurijo, bolnik postane asimptomatičen. Hiperglikemijo lahko spremlja tudi nagnjenost k okužbam. Če hiperglikemijo spremlja ketoacidoza, lahko ta ogroža življenje. (4)

Kronične okvare, nastale zaradi hiperglikemije:

- bolezen očesne mrežnice (retinopatija),
- nefropatija, kar lahko pripelje do odpovedi ledvic,
- poškodbe perifernih živcev na stopalih, z možnostjo amputacije, avtonomna nevropatija, ki vpliva na druge motnje živčevja, in impotentnost.

Nagnjenost k arteriosklerozi povzroča:

- koronarno,
- periferno in
- cerebralno vaskularno bolezen.

Pogosto sta pridruženi:

- hipertenzija in
- dislipidemija.

Bolniki s sladkorno boleznijo spadajo v dve kategoriji – tip 1 ali tip 2. Slednji je mnogo pogostejši, ima praviloma asimptomatičen potek, večino bolnikov pa odkrijejo ravno v tej fazi. Takšna raven hiperglikemije, ki sicer ne povzroča težav, vendar zadostuje za povzročanje kroničnih zapletov, je običajno prisotna že desetletje pred odkritjem bolezn. V tem obdobju bolezen lahko spremljajo tudi hipertenzija, hiperlipidemija in drugi znaki sindroma inzulinske odpornosti, ki delujejo aterogeno. Pri polovici bolnikov zato že lahko najdemo kronične okvare, npr. očitni ali pa skriti znaki arterioskleroze. Bolniki sladkorne bolezn. tipa 2 imajo načeloma izrazito klinično sliko ob diagnozi bolezn.

Pri hudi obliki bolezni imajo lahko bolnik in njegovi bližnji socialne in čustvene težave. (4)

1.3.3 SLADKORNA BOLEZEN TIPA 1

Oblika tipa 1 nastane po uničenju beta celic v endokrinem delu pankreasa in je največkrat povzročena imunsko.

Znaki imunskega razpada (gre za protitelesa proti več antigenom, ki izvirajo iz beta celice) so prisotni že nekaj let pred kliničnim pojavom bolezni. Ozadje bolezni je gensko, vendar ni »gena« za sladkorno bolezen tipa 1. Njeno pojavljanje je povezano s pogostejšo prisotnostjo nekaterih genov, ki kodirajo antigene sistema HLA in so morda udeleženi pri genskem nadzoru imunskega odgovora. Propadanje beta celic je različno hitro. Največkrat je sorazmerno hitro, klinična slika s hiperglikemijo je izrazita, nujnost zdravljenja z inzulinom pa takojšnja. Večina bolnikov zboli do 30. leta. (4)

Posebno pri nekoliko starejših bolnikih je lahko uničevanje beta celic počasnejše, tudi klinična slika ni izrazita, bolniki so lahko celo nekaj let asimptomatični. Kljub temu pride do življenjske odvisnosti od zdravljenja z inzulinom. To so bolniki srednjih let, ki jih najprej obravnavamo, kot da imajo bolezen tipa 2. V nekaj letih pride do poslabševanja hiperglikemije, ki se ne odziva na običajne terapevtske postopke za tip 2, in uvedba inzulinkega zdravljenja postane nujna. (4)

Idiopatična oblika je značilnejša za afro-azijsko populacijo.

1.3.4 SLADKORNA BOLEZEN TIPA 2

Oblika tipa 2 nastane kot odgovor na zmanjšano izločanje ali občutljivost za inzulin. Do hiperglikemije pride, kadar izločanje inzulina ne izravnava odpornosti proti njemu. Obe motnji težita k počasnemu poslabševanju, zato se hiperglikemija sčasoma slabša. Mnogi bolniki, sprva pogosto asimptomatični, sčasoma potrebujejo zdravljenje z inzulinom. Tega ne potrebujejo toliko za preživetje kot za izboljšanje nadzora nad hiperglikemijo. (4)

Potek bolezni je pri posameznih bolnikih zelo različen. Nekateri imajo stabilno blago izraženo hiperglikemijo brez kliničnih težav, pri drugih pride do sorazmerno hitrega slabšanja hiperglikemije, ki zahteva zdravljenje z zdravili, tudi z inzulinom.

Povzročitelj bolezni ni znan. Genska podlaga je očitna, vendar še neraziskana. Tveganje zanj je večje zaradi staranja in naraščajoče debelosti, posebno pri abdominalnem tipu in telesni nedejavnosti. Pojavljanje zasledimo pri ženskah, ki so imele nosečniško sladkorno bolezen ter pri ljudeh s hiperlipidemijo in hipertenzijo. (4)

Večina bolnikov tipa 2 ima hkrati več omenjenih bolezenskih stanj, ki povečujejo verjetnost za pojav sladkorne bolezni, obenem pa so tudi dejavniki tveganja za arteriosklerozo, zato so zelo izpostavljeni kardiovaskularnim zapletom. Tudi mikroangiopatične okvare oči in ledvic, ki nastanejo zaradi hiperglikemije, niso redke. Vzrok je v mnogo let prisotni hiperglikemiji pri nespoznanih asimptomatičnih bolnikih in tudi poznejši sorazmerno slabi metabolni urejenosti zaradi slabe učinkovitosti zdravljenja. (4)

1.3.5 DRUGI TIPI SLADKORNE BOLEZNI

Med drugimi tipi je najpogostejša sladkorna bolezen, ki nastane zaradi bolezni eksokrinega dela trebušne slinavke, posebno zaradi pankreatitisa. Med zdravila, ki privedejo do hiperglikemije pri osebah, nagnjenih k tipu 2, spadajo tiazidni diuretiki, steroidi, nikotinska kislina itd. Bolniki z genetično okvaro beta celic navadno zbolijo mladi, bolezen je v družini pogosta, deduje se avtosomalno dominantno. (4)

1.3.6 SLADKORNA BOLEZEN V NOSEČNOSTI

Intoleranca za glukozo, ki se pojavi med nosečnostjo, je nosečniška sladkorna bolezen ali gestacijski diabetes.

Nosečnicam opravijo presejalni test za sladkorno bolezen med 24. in 28. tednom nosečnosti. Za nosečnice, mlajše od 25 let, ki nimajo čezmerne telesne teže ali diabetesa v družini, testiranje ni obvezno. V takih okoliščinah sladkorna bolezen namreč ni verjetna. Če po zaužitju 50 gramov glukoze pokaže izvid glukoze v krvi $> 7,8$ mmol/L, je treba

napraviti 3-urni OGTT s 100 grami glukoze. Nosečnici se potrdi sladkorna bolezen, če sta dve vrednosti zvišani. (4)

Po končanem dojenju ocenimo stanje tolerance za glukozo po običajnih postopkih in z običajnimi meritvami. Ženske v zrelejših letih imajo večjo možnost pojava sladkorne bolezni tipa 2, če so imele nosečniško sladkorno bolezen. Ta je v osnovi sladkorna bolezen tipa 2, ki zaradi hormonskih sprememb postane očitna med nosečnostjo, a izgine, ko se vzpostavi običajno stanje. (4)

1.3.7 MOTENA TOLERANCA ZA GLUKOZO IN MEJNA BAZALNA GLIKEMIJA

Osebe z večjo koncentracijo glukoze na tešče od normalne, a z manjšo za diagnozo bolezni, imajo mejno bazalno glikemijo (MBG). Take osebe imajo bolj ali manj izražen sindrom inzulinske odpornosti in so predisponirane za nastanek sladkorne bolezni tipa 2. Gre za prehodno stanje v razvoju tipa 2 sladkorne bolezni. Enako velja za osebe, ki imajo po standardizirani obremenitvi z glukozo (OGTT po priporočilih Svetovne zdravstvene organizacije) povečano koncentracijo glukoze v krvi, ki je manjša od diagnostične za sladkorno bolezen. Nekatere od teh oseb imajo lahko koncentracijo glukoze na tešče v normalnem območju. Osebe z MBG so od 2- do 3-krat bolj nagnjene k pojavljanju kardiovaskularnih bolezni (4).

1.4 PREPREČEVANJE NASTANKA SLADKORNE BOLEZNI

Pri ljudeh, ki redno izvajajo telesno dejavnost, so ugotovili bistveno manjšo pogostnost zbolevanja za sladkorno bolezen.

Prospektivna raziskava, opravljena na debelih podganah, ki imajo sindrom, podoben bolezni tipa 2, kaže, da redna telesna dejavnost prepreči razvoj inzulinske odpornosti in nastanek zmanjšane tolerance za glukozo, debelost in povečano vrednost maščob.

Fizično dejavni ljudje imajo boljšo toleranco za glukozo v primerjavi z ljudmi enake starosti in teže, ki se manj gibajo in več presedijo. Priporočljivo je, da ljudje z večjim tveganjem nastanka sladkorne bolezni tipa 2 več časa namenijo telesni dejavnosti. (5)

1.5 DELITEV VITAMINOV

Vitamini spadajo pod organske spojine najrazličnejših struktur in kemijskih lastnosti. Za delovanje človeškega organizma so nujno potrebni v majhnih količinah.

Delujejo kot katalizatorji, saj so organske sestavine hrane in jih potrebujemo v majhnih količinah za zdrav razvoj organizma. Naš organizem jih ne sintetizira v zadostnih količinah, zato jih je treba vnesti v telo s hrano ali drugače.

Vitamine razvrščamo v dve skupini. V prvi skupini so lipofilni vitamini A, D, E in K, v drugi skupini pa so vodotopni vitamini tiamin (B1), riboflavin (B2), niacin (B6), pantenonska kislina, folna kislina, biotin, B12 in C. Glede na vodotopnost se ti dve skupini razlikujeta v posameznih temeljnih bioloških lastnostih. Vodotopne vitamine v presežku izločimo s sečem, saj se v organizmu ne shranjujejo, tudi če je teh preveč. Vitamini, topni v maščobi, pa se v telesu shranjujejo, zato teh ne sme biti preveč, saj to privede do hipervitaminoze (predvsem vitamina A in D). (6)

1.6 VITAMIN D

Kalciferol ali vitamin D služi pri absorbiranju fosforja in kalcija v prebavilih, kar popravlja in uravnava rast kosti. Zaradi pomanjkanja vitamina D lahko pride do rahitisa in napak v razvoju kosti. (7)

Vitamin D skupaj s svojimi presnovki kemično spada med sekosteroide.

V raztopini prevladujeta dve konformaciji, iztegnjena in stisnjena, ki sta v dinamičnem ravnotežju. Fiziološko pomembnejša je cis-trans izomerizacija kalciola okrog dvojne vezi C5-C6, ki pod vplivom UV-žarkov poteka v koži. Verjetno je to eden od varovalnih

mehanizmov, ki organizem varujejo pred hipervitaminozo D, kajti nastali 5E-kalciol je bistveno manj aktiven kot 5Z-kalciol. (6)

Pri raziskavi naveze med delovanjem vitamina D in njegovo zgradbo so ugotovili, da naj bi imela manj pomembno vlogo hidroksilna skupina na atomu C3. Za največjo učinkovitost sta najpomembnejši hidroksilni skupini na C1 in C25, ki morata biti prisotni hkrati. (6)

Analogi brez ene in druge skupine so in vitro skoraj neaktivni, in vivo pa se lahko presnavljajo v aktivne presnovke. Dvojna vez in dodatna hidroksilna skupina v stranski verigi sekosteroidnega obroča pri sesalcih ne vplivata na biološko aktivnost, druge modifikacije stranske verige (podaljševanje, krajšanje, dodatna hidroksilacija) pa jo močno zmanjšajo. (6)

1.6.1 BIOSINTEZA VITAMINA D

V organizmu v idealnih razmerah (zadostna izpostavljenost soncu) nastaja kalciol, kar naj bi zadostovalo potrebam našega organizma. Druga bistvena značilnost kalciola je njegova bioaktivacija jeter in ledvic, vse to pa poteka z dvema zaporednima hidroksilacijama. Pod vplivom sončne svetlobe se kalciol sintetizira v koži iz 7-dehidroholesterol. Dehidroholesterol se pretvori v vitamin D₃, če je koža izpostavljena zadostni količini sončne svetlobe. Prav zato pa je koža prava zakladnica dehidroholesterol. (6)

Največja količina 7-dehidroholesterol je v *stratum spinosum in stratum basale*; večina nastanka vitamina D₃ običajno poteka tam. Okoli 15 % razpoložljivega 7-dehidroholesterol se pretvori v previtamin D₃ s pomočjo sončne svetlobe po približno 30 minutah obsevanja. Pri daljšem obsevanju (npr. 10 ur) se koncentracija previtamina D₃ ne povečuje. (6)

Najboljša pretvorba se zgodi pri valovni dolžini 295 nm, pri čemer se od 65 do 71 odstotkov vitamina D₃ spremeni v 7-dehidroholesterol. Ni pa znano, ali bi večja izpostavljenost sončni svetlobi lahko vplivala na nastanek hipervitaminoze D. Nastajajoči vitamin D₃, ki je nastajal v koži, se veže na vitamin vezočo se beljakovino in vstopa v

obtok. Pretvorba vitamina D in previtamina D naj bi pomembno vplivala na kožno rezervo vitamina D3. (6)

1.6.2 ABSORPCIJA IN PRENOS VITAMINA D

V našem telesu ni točno določenega mehanizma za absorbiranje vitamina D, ki sega vnese peroralno. Vse to je predvidljivo, saj večina vitamina D3 nastaja v koži in ta količina naj bi zadostila potrebam telesa brez absorpcije v črevesju. Prav njo pa spodbujajo mleko, maščobe in soli žolčnih kislin. Potek absorpcije deluje vzdolž celotnega tankega črevesja s pasivno difuzijo. Skoraj celoten absorbiran vitamin D (približno 90%) se veže na hilomikronske limfe, preostanek vitamina (približno 9,5%) pa na alfa-globulin. Prav ta je verjetno identičen specifični beljakovini, ki veže vitamin D v krvi.

Vitamin D v limfi se prenaša v nesterificirani obliki. Zaradi hidrofilne hidroksilne skupine jena mestu 3, na površju hilomikronov. Na DBP (vitamin D vezoča se beljakovina) se zaradi lege preprosto veže nanj. V obtoku se vsaj del na hilomikrone vezanega vitamina D prenese na DBP, ko hilomikroni razpadejo, pa se preostali del sprosti. Preostanek hilomikronov potuje v jetra, skupaj z vezanim vitaminom D.

V naši krvi vitamin D in njegovi presnovki krožijo vezani na DBP. Vitamin D vezani protein ima slabšo afiniteto za kalciol kot za kalcidiol. Koncentracija DBP v krvi je večja kot normalna koncentracija kalcidiola, zaradi česar tudi pri največjih fizioloških plazemskih koncentracijah več kot 90% plazemskega DBP kroži po krvi brez vezanega kalcidiola. Koncentracija v plazmi vitamin vezanega proteina je odvisna od koncentracije vitamina D, ki pa se pri hormonskem zdravljenju spremeni, prav tako se spremeni tudi med nosečnostjo.(6)

1.6.3 PORAZDELITEV IN SHRANJEVANJE VITAMINA D

Koncentracije kalciola in kalcidiola v plazmi in ravni v različnih organih niso točno znane. Največ kalciola je v maščobnem tkivu, nato v plazmi, jetrih, pljučih in srcu. V organih, kot so ledvica, jetra, pljuča, aorti in srce, pa je največ kalcidiola. Ti organi so nagnjeni h

kalcifikaciji in hipervitaminozi D. Razlika v porazdelitvi nastane predvsem zato, ker je kalcidiol vezan večinoma na DBP, medtem ko je kalciol porazdeljen med DBP in lipoproteini. Glavni presnovek kalciola v plazmi je kalcidiol, sledi mu 24-hidroksikalcidiol. (6)

V serumu se raven 24-hidroksikalcidiola in kalcidiola preko celega leta konstantna, najnižja je pozimi, najvišja pa poleti, med junijem in avgustom. Vse to je povezano z močjo sončnih žarkov. Ugotovitve so razumljive, saj je večina ljudi poleti bolj izpostavljena UV-sevanju pa tudi UV-žarki so takrat močnejši. Kontrastna s tem pa je raven kalcitriola. Ta je v serumu razmeroma stalna, kar se vidi pri obstoju zelo učinkovitega regulatornega mehanizma, ki ga ne zasledimo pri 24-hidroksikalcidiolu. (6)

Vitamin D se v nasprotju z vitamini A, E in K ne shranjuje v jetrih, tam ga je le majhen delež. Glavna naloga jeter pri presnovi vitamina D je nastanek kalcidiola, ki je predvsem v ekstracelularnih tekočinah. Kakšne so točne naloge jeter pri izločanju razpadnih produktov z žolčem in njegovi inaktivaciji, ni povsem znano. Skeletno mišičje in maščobno tkivo sta z aplikacijo radioaktivno označenega vitamina D pokazala, da sta najpomembnejša organa, saj se tam shranjuje vitamin D. Kromatografija radioaktivnih vzorcev je pokazala, da je v maščobnem tkivu predvsem nespremenjeni kalciol, medtem ko mišice vsebujejo predvsem kalcidiol. (6)

1.6.4 BIOLOŠKI PROCESI, KI JIH NADZORUJE VITAMIN D

Za vzdrževanje homeostaze Ca^{2+} je najbolj odgovoren vitamin D in to je tudi njegova glavna vloga. Vpliva na pomembne organe, kot so ledvice, okostje, tanko črevo. V okostju mobilizira in vgrajuje minerale, v tankem črevesju spodbuja absorpcijo Ca^{2+} in fosfata, v ledvicah pa re-absorbira te ione. Ti procesi so povezani z uravnavanjem in vzdrževanjem normalne plazemske koncentracije Ca^{2+} in fosfata. Veliko vlogo in nadzor ima Ca^{2+} pri procesih, kot so strjevanje krvi, mišično krčenje in prenos živčnih impulzov. (6)

Mehanizmi, ki nadzirajo sintezo in delovanje kalcitriola, močno spominjajo na mehanizme, ki jih poznamo pri klasičnih steroidnih hormonih. Splošni model za hormonsko aktivnost predvideva obstoj specifičnih celic v tarčnem organu, ki imajo zelo specifične receptorske beljakovine za hormon. Ko se hormon veže nanj, se premakne v kromatin, kjer spodbudi

prepis določenih genov mRNA in s tem poveča sintezo ustreznih beljakovin. Ugotovili so, da kalcitriol ustreza vsem tem zahtevam. V črevesnih celicah spodbuja sintezo od vitamina D odvisne, kalcij vezoče beljakovine (CaBP). Količina črevesnega CaBP je natančno sorazmerna količini kalcitriola, ki je tam. Danes poznamo tri vrste CaBP, ki se razlikujejo po molekularni masi in vezavni kapaciteti za Ca^{2+} . Obstaja velika družina znotraj celičnih beljakovin, ki vežejo Ca^{2+} , vendar večina od njih ni odvisna od vitamina D. Specifične receptorske beljakovine niso samo v najbolj znanih tarčnih organih vitamina D (črevesje, kosti, ledvica, koža), ampak tudi drugod: v mlečnih žlezah, trebušni slinavki, obščitničnih žlezah, hipofizi in posteljici. Receptorji v mlečnih žlezah verjetno služijo za uravnavanje vsebnosti Ca^{2+} v mleku. Pri živalih pomanjkanje vitamina D povzroči motnje v izločanju inzulina. Obstajajo tudi znaki, da 24-hidroksikalcidiol in kalcitriol vplivata na izločanje PTH. Citosolske receptorje za kalcitriol so našli tudi v človeških mononuklearnih limfocitih in v nekaterih vrstah malignih celic. Dokazano je, da kalcitriol lahko pospeši diferenciacijo malignih celic pri levkemiji. Med nosečnostjo in dojenjem se črevesni prenos Ca^{2+} poveča predvsem zaradi povečane sinteze CaBP. (6)

1.6.5 HIPERVITAMINOZA D

Izpostavljenost kože svetlobi oziroma soncu in nastajanje vitamina D, ki ob tem nastaja endogeno v koži, nikoli ne učinkuje toksično. Če pa bi vitamin D v telo vnesli v prevelikih količinah, lahko pride do zastrupitve, kar se kaže v krčih, driski, glavobolu, bolečinah v trebuhu, izgubi teka in slabosti. Poveča se serumska koncentracija Ca^{2+} , kar lahko privede do kalcifikacije tkiv, še posebej ledvic, srca, pljuč in arterij, zato je treba med kakršnim koli zdravljenjem z vitaminom D nadzorovati ravni Ca^{2+} v seču in serumu. (6)

1.6.6 HIPOVITAMINOZA D

Pomanjkanje vitamina D se klinično pokaže s hipokalcemijo, hipofosfatimijo ali splošno dimineralizacijo kosti, bolečinami v kosteh, spontanimi frakturami in oslabeledostjo mišic. Če primanjkuje vitamina D, to povzroča premajhno absorpcijo kalcija in fosfatov. Nižja raven kalcija v plazmi je dražljaj za izločanje paratireoidnega hormona (PTH). S povečanim izločanjem PTH se poveča raven kalcija v plazmi, vendar na račun kalcija v kosteh. Pri odraslih se te spremembe imenujejo ostomalacija. Otroci lahko utrpijo deformacije skeleta

in zaostanek rasti, še posebej pri dolgih kosteh. Zbolijo lahko tudi za rahitisom, ki je metabolno obolenje kosti. Ta nastane zaradi premajhne izpostavljenosti sončni svetlobi ali zaradi premajhnega vnosa in/ali resorpcije vitamina D v črevesju. Kostni lahko postanejo mehke ali celo deformirane, če jim primanjkuje fosfatov in kalcija. V takem primeru se lahko nepravilno razvijejo ali poškodujejo tudi zobje. (8)

Otroci potrebujejo veliko več vitamina D kot odrasli, ker njegovo pomanjkanje lahko povzroči deformacijo kosti. Otroci, ki rastejo in živijo na območjih z manj sonca, morajo preventivno jemati vitamin D.

Pri odraslih se redko pojavi hipovitaminoza D, ki se kaže kot osteomalacija. Pogosto se pojavi kot posledica pri hudih motnjah absorpcije vitamina D ali pa pri povečanih potrebah v posebnih stanjih, kot so dojenje ali nosečnost. (8) Pomanjkanje je opazno pri starejših, ki so premalo na soncu. Koža starejših tudi izgublja sposobnost ustvarjanja vitamina D iz provitamina. Pomanjkanje vitamina D je možno tudi pri ženskah, ki so bile noseče nekajkrat zapovrstjo, in sicer zaradi nezadostne količine kalcija.

1.6.7 METABOLIZEM VITAMINA D

Absorpcija kalcija iz prebavnega sistema pospeši vitamin D, zraven pa vpliva tudi na kopičenje in absorpcijo Ca^{2+} v kosteh. Vitamin D sam po sebi ni aktivna substanca, da bi izzvala vse te učinke, zato se mora najprej prek niza reakcij v ledvicah in jetrih spremeniti v aktivni končni produkt 1,25-dihidroksiholekalciferol, ki ga imenujemo tudi 1,25-(OH)₂-D₃. (9)

1.6.8 REGULACIJA SINTEZE VITAMINA D

Pigmentacija kože igra pomembno vlogo v regulaciji fotolize vitamina D.

Ljudje, ki živijo ob ekvatorju, so nenehno izpostavljeni sončni svetlobi, zato imajo povečano pigmentacijo. To je posledica prilagoditev okolju in jih varuje pred nastankom kožnega raka. Obstaja le malo dokazov, da se je kožna pigmentacija razvila z namenom, da prepreči intoksikacijo vitamina D (tj. zastrupitev z vitaminom D). Vzrok za to je, da se

previtamin D₃, ki se tvori v koži, lahko izomerizira do vitamina D₃ ali pa absorbira UV-radiacijo in se nato izomerizira v dvabiološko inaktivna fotoizomera: lumisterol in tahisterol. (9)

Sončna svetloba lahko uravnava popoln iznos vitamina D₃ v koži s fotodegradacijo previtamina D₃. To pojasni, zakaj ni nobenih primerov hiperkalcemije, povzročene z vitaminom D intoksikacijo, povezane s kronično izpostavljenostjo sončni svetlobi. (9)

1.6.9 POVEZANOST SLADKORNE BOLEZNI TIP 2 IN VITAMINA D

Znanstveniki so v svojih študijah raziskovali povezavo med možnim razvojem diabetesa tipa 2 in vitamina D. Vitamin D je bistven za pravilno delovanje celic, ki proizvajajo inzulin v pankreasu, pomembno pa pripomore tudi k pravilni telesni izrabi. (10)

Inzulin je hormon, ki ima ključno vlogo pri transportu sladkorja iz krvi v telesne celice, kjer se ta potrebuje za energijo in normalno rast celic. Znanstveniki so testirali, ali vitamin D izboljša telesno občutljivost na inzulin in presnovo krvnega sladkorja. Ko poraste raven sladkorja v krvi in postane telo neobčutljivo na inzulin, se razvije diabetes tipa 2. (10)

Kadar so preiskovanci dnevno prejeli večje količine vitamina D, so imeli za kar 18% manjšo možnost razvoja sladkorne bolezni tipa 2.

Dodatki vitamina D lahko kljub odstopanju zavirajo nastanek diabetesa tipa 2 tudi pri ljudeh z rizičnimi dejavniki (npr. čezmerna telesna teža), čeprav imajo te večjo možnost razvoja bolezni. (10).

2 NAMEN DELA

V diplomski nalogi bomo določili in ugotovili meritve rezultatov koncentracije vitamina D in glukoze pri bolnikih s sladkorno boleznijo. V 24-urnem laboratoriju kliničnega centra bomo preučili serumske vzorce preiskovancev, ki so obiskovali diabetološko ambulanto Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana med letoma 2014 in 2015. Podatke bomo obdelali s programom Excel in metodami opisne statistike. Preverili bomo koncentracijo vitamina D v odvisnosti od koncentracije glukoze.

Namen diplomske naloge je:

- Ugotoviti, ali je koncentracija vitamina D pri bolnikih s sladkorno boleznijo manjša kot pri tistih, ki nimajo sladkorne bolezni.
- Potrditi, ali ovreči hipotezo, da se koncentracija vitamina D manjša z večanjem koncentracije glukoze v krvi.
- Preveriti, ali so koncentracije vitamina D manjše pri tistih diabetikih, ki imajo večje koncentracije glukoze.
- Ugotoviti, ali se s starostjo koncentracija vitamina D spreminja.
- Izračunati specifičnost in občutljivost ter razmejitveno vrednost za vitamin D na naši skupini preiskovancev.

Preiskovanke in preiskovance smo razdelili v različne skupine na podlagi določenih meril in jih s pomočjo statičnih analiz primerjali med seboj.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 OPIS PREISKOVALNE SKUPINE

V raziskavo smo vključili preiskovance s sladkorno boleznijo tipa 2, ki so jim ob rednih kontrolah v diabetološki ambulanti določili koncentracijo glukoze v krvi, mi pa smo določili še koncentracijo vitamina D v serumu. V ta namen smo izoblikovali skupino 266 preiskovancev, od tega je bilo 132 moških in 134 žensk, povprečno starih 67,6 leta, s standardnim odklonom 14,7 leta, v razponu od 19 do 95 let. Kot kontrolno skupino smo izoblikovali skupino 552 preiskovancev, od tega je bilo 215 moških in 337 žensk, povprečno starih 55,4 leta, s standardnim odklonom 22,4 leta, v razponu od 0,2 do 91 let, ki so prišli na redno kontrolo in niso imeli sladkorne bolezni, niti nobene znane metabolične, srčno-žilne ali endokrinološke bolezni.

3.2 METODE

3.2.1 DOLOČANJE GLUKOZE

Koncentracijo glukoze smo naredili v 24-urnem laboratoriju Kliničnega inštituta za klinično kemijo in biokemijo (KIKKB) z rutinsko metodo na analizatorju Advia 1800.

3.2.1.1 Encimska metoda GOD-PAP

Aldehidna skupina glukoze se oksidira v prisotnosti glukoza oksidaze (GOD) v glukonsko kislino. V reakciji nastali vodikov peroksid lahko določimo v prisotnosti encima peroksidaze in kromogena 4-aminofenazona (PAP). Absorbanco merimo kolorimetrično pri 540 nm.

Interference: hemoliza (> 2,5 g/L), lipemija, proteini (< 50 g/L, znižanje; > 100 g/L, zvišanje).

Vzorec: serum, plazma (heparin, EDTA, NaF/K-oksalat)

Stabilnost vzorca: do 24 ur pri 18–28°C, 7 dni pri 2–8°C in do 1 leta pri –18°C.

3.2.1.2 REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE

Preglednica I: Reagenti, kalibrator, proizvajalec

| <i>Advia 1800</i> Reagent, pribor | Kat. št. | Proizvajalec |
|--------------------------------------|----------|--------------|
| Glucose hexokinase II | 04903429 | Siemens |
| Bayer Chemistry Calibrator | 09784096 | Siemens |
| Lypho. Assyed Chemistry L1 | C-310-5 | Bio Rad |
| Lypho. Assyed Chemistry L2 | C-315-5 | Bio Rad |

Številke lotov reagentov, kontrol in kalibratorjev so sledljive v mapi Evidenca reagentov, deloma jih prikazuje preglednica I.

3.2.1.3 KALIBRACIJA

Kalibriramo najmanj toliko časa, kot priporoča proizvajalec, ob vsaki menjavi reagenta oziroma po potrebi. KIKKB ima splošni SOP o kalibraciji analitskih sistemov.

3.2.2 DOLOČANJE VITAMINA D

Koncentracijo vitamina D smo naredili v laboratoriju, kjer za kvantitativno določanje uporabljajo 25(OH)D direktno kompetitivno kemiluminiscenčno imunološko metodo (CLIA).

3.2.2.1 Kemiluminiscenčna metoda

Med prvo inkubacijo se 25(OH)D disociira od vitamin D vezavnega proteina in se veže na specifična protitelesa, ki so pritrjena na trdni fazi (suspenzija z delci protiteles 25(OH)D proteini, fosfatni pufer in < 0,1 ProClin). Po desetih minutah dodamo raztopino konjugata (vitamin D vezan na izoluminolni derivat–25(OH)D z izoliranim derivatom ter

fosfatni pufer z dodatkom 10-odstotnega etanola, surfaktantov in konzervansov) in reakcijski pufer (pufer z 10-odstotnim etanolom, surfaktantom in konzervansom). Sledi druga, prav tako desetminutna inkubacija, nato pa spiranje, s katerim odstranimo nevezan material. Na koncu dodamo reagent aktivator, ki sproži svetlobno kemiluminiscenčno reakcijo. Svetlobni signal izmerimo s pomočjo fotopomnoževalca, ki ga poda v relativnih svetlobnih enotah (RLU). Signal je obratno sorazmeren s koncentracijo 25(OH)D prisotnega T v vzorcu.

3.2.2.2 Reagenti

Za teste smo uporabili komplet reagentov znamke BECKAM COULTER®. Vsi reagenti so vloženi v posebna stojala – integrale. En komplet reagentov zadostuje za izvedbo 50 testov.

Priprava reagentov

Reagent je pripravljen za takojšnjo uporabo. Preden ga vložimo v inštrument, ga je treba dobro premešati. Shranili smoga v pokončnem položaju v hladilniku pri 2 do 10°C. Da smo preprečili razgradnjo vitamina D, smo reagent shranili v neprozorno rjavo pakiranje. Reagent je obstojen do datuma, navedenega na etiketi, če je shranjen pri temperaturi od 2 do 10 °C, stabilen pa ostaja 28 dni od prvega dneva uporabe. Približen čas do prvega rezultata je 39 minut. Poškodovanega reagenta ne uporabljamo.

Priprava vzorcev

Uporabimo lahko človeški serum, plazmo z dodatkom litijevega heparinata. Kadar analizo opravimo v 72 urah od odvzema krvi, vzorce shranjujemo pri sobni temperaturi od 15 do 30°C, v nasprotnem primeru pa jih zamrznemo (-20°C ali manj). Zamrznjene vzorce lahko hranimo do enega leta. Vzorec lahko odmrznemo samo trikrat.

3.2.2.3 Kalibracija analizatorja

Kalibracija je primerjanje odziva instrumenta s standardom. Njen namen je zmanjševanje sistemskih napak in služi tudi za ugotavljanje vrste povezave z izdelavo kalibracijske krivulje z namenom računanja neznanih koncentracij analita iz odzivov metode. Kalibracijo je treba opraviti po 28 dneh in/ali vsakič, ko je uporabljen nov komplet reagentov, po vsakem servisiranju analizatorja in kadar so kontrolne vrednosti kalibratorjev zunaj dovoljenih mej.

Merilno območje

Beckam Coulter® ACCESS IMMUNOASSAY SYST®25OH Vitamin D TOTAL Assay omogoča merjenje koncentracij med 7 in 120 ng/mL oziroma med 17,5 in 300 nmol/L.

3.2.2.4 Postopek analize

Meritve smo opravili na analizatorju ACCESS IMMUNOASSAY SYSTEM® proizvajalca Beckam Coulter®. Za zagotovitev pravilne izvedbe testa smo morali dosledno slediti navodilom proizvajalca.

Potek testa v analizatorju je naslednji:

1. Vstavljanje vzorca, kalibratorja ali kontrole v reakcijski modul.
2. Dodatek magnetnih delcev in pufra v reakcijski modul.
3. Inkubacija.
4. Dodatek konjugata v reakcijski modul.
5. Inkubacija.
6. Spiranje z izpiralnim pufrom.
7. Dodatek start reagentov in merjenje oddane svetlobe.

3.2.2.5 Interpretacija rezultatov

Analizator avtomatsko izračuna koncentracijo 25(OH)D v vzorcu. Ta koncentracija je izražena v ng/ml. Za pretvorbo koncentracij v standardne enote je potreben naslednji izračun:

$$\text{ng/mL} * 2,5 = \text{nmol/L}$$

3.2.2.6 Pričakovane vrednosti

Orientacijske referenčne vrednosti

Pomembno je, da vsak laboratorij določi svoje referenčno območje, ki temelji na njegovi tipični populaciji. Za 25(OH)D je znano, da lahko različni faktorji vplivajo na njegovo koncentracijo, zato tudi nimamo enotnih referenčnih vrednosti, ampak samo priporočila zanje. Priporočila iz literature sledijo naslednji razvrstitvi in so prikazana v preglednici II:

Preglednica II: Referenčne vrednosti vitamina D

| Stanje vitamina D | Koncentracija 25(OH)D | |
|--------------------------------|------------------------|---------------|
| | Pomanjkanje vitamina D | < 20 ng/mL |
| Nezadostna količina vitamina D | 20–30 ng/mL | 50–75 nmol/L |
| Zadostna količina vitamina D | 30–100 ng/mL | 75–250 nmol/L |
| Potencialna toksičnost | > 100 ng/mL | > 250 nmol/L |

3.2.2.7 Specifične karakteristike analizatorja

Povzeli smo podatke, ki jih navaja proizvajalec. (11)

Občutljivost

Analitična občutljivost je definirana kot najmanjša količina analita, ki jo lahko natančno zaznamo. Občutljivost se izraža kot koncentracija analita, pri kateri je koeficient variacije 20%. Občutljivost metode za določanje 25(OH)D je 2 ng/mL (5 nmol/L).

Natančnost

Za določitev natančnosti metode smo izmerili koncentracijo 25(OH)D v 110 vzorcih, ki so vsebovali različne količine analita.

Specifičnost

Analitična specifičnost je sposobnost metode za natančno določitev specifičnega analita v prisotnosti potencialno motečih snovi v vzorcu. Študije so pokazale, da naslednje snovi pri spodnjih koncentracijah ne vplivajo veliko na rezultat določanja:

- bilirubin ≤ 40 mg/dL
- hemoglobin ≤ 50 g/dL
- trigliceridi ≤ 3280 mg/dL
- holesterol ≤ 500 mg/dL

4 REZULTATI

Koncentracije glukoze in vitamina D se niso porazdeljevale normalno, kar je prikazano v spodnjih štirih preglednicah III, IV, V, VI.

Preglednica III: Izračun porazdelitve rezultatov glukoze v kontrolni (K – 552) in preiskovani skupini (P – 266).

| Velikost vzorca | K – 552 | P – 266 |
|--|--------------------------------|--------------------------------|
| Najnižja vrednost (koncentracija glukoze mmol/L) | 2,8 | 6,2 |
| Najvišja vrednost (koncentracija glukoze mmol/L) | 6,1 | 20,2 |
| Aritmetična sredina (koncentracija glukoze mmol/L) | 5,01 | 8,7759 |
| 95% interval zaupanja aritmetične sredine | 4,96–5,06 | 8,43–9,13 |
| Mediana (koncentracija glukoze mmol/L) | 5 | 7,7 |
| 95% interval zaupanja mediane | 4,99–5,10 | 7,40–7,90 |
| Varianca | 0,33 | 8,41 |
| Standardni odklon | 0,57 | 2,89 |
| Relativni standardni odklon | 0,11 (11,41%) | 0,33 (33,04%) |
| Standardna napaka povprečja | 0,02 | 0,18 |
| Koeficient asimetrije | -0,36 (P=0,0007) | 1,74 (P<0,0001) |
| Koeficient od sploščenosti | 0,49 (P=0,0374) | 2,84 (P<0,0001) |
| D'Agostino-Pearson test normalne porazdelitve | stopnja značilnosti (P=0,0004) | stopnja značilnosti (P<0,0001) |

Preglednica IV: Primerjava rezultatov koncentracij vitamina D med skupino preiskovancev (P– 266) in kontrolno skupino (K– 553).

| Velikost vzorca | K – 552 | P – 266 |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| Najnižja vrednost (koncentracija vitamina D nmol/L) | 10 | 10 |
| Najvišja vrednost (koncentracija vitamina D nmol/L) | 165 | 77 |
| Aritmetična sredina | 49,18 | 31,56 |
| 95% interval zaupanja aritmetične sredine | 46,71–51,65 | 29,46–33,66 |
| Mediana (koncentracija vitamina D nmol/L) | 46 | 27,5 |
| 95% interval zaupanja mediane | 43–49 | 25–29 |
| Varianca | 874,22 | 301,72 |
| Standardni odklon | 29,57 | 17,37 |
| Relativni standardni odklon | 0,60 (60,12%) | 0,55 (55,04%) |
| Standardna napaka povprečja | 1,26 | 1,07 |
| Koeficient asimetrije | 1,203 (P<0,0001) | 0,73 (P<0,0001) |
| Koeficient od sploščenosti | 3,79 (P<0,0001) | -0,37 (P=0,2145) |
| D'Agostino-Pearson test normalne porazdelitve | stopnja značilnosti (P<0,0001) | stopnja značilnosti (P<0,0001) |

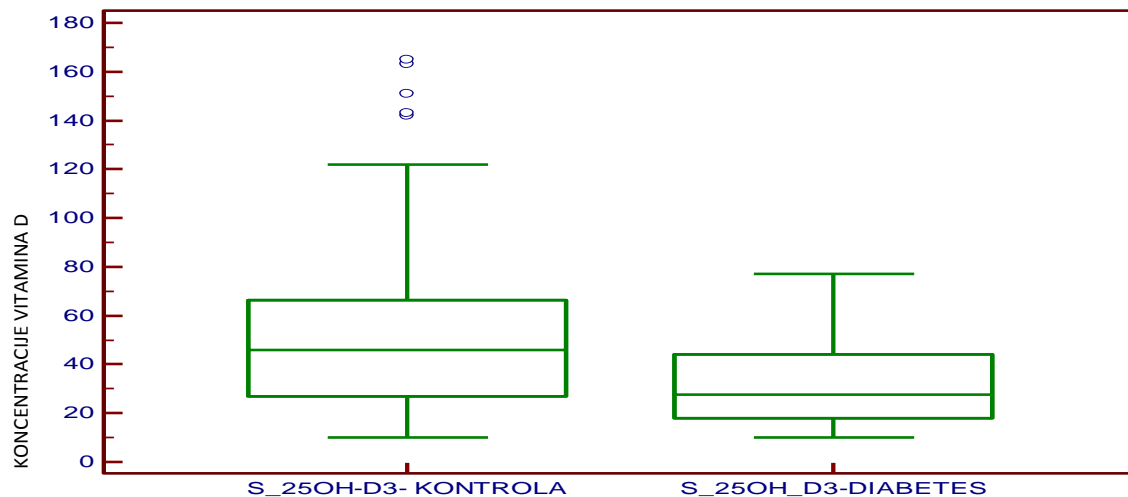
Preglednica V: Delež rezultatov vitamina D v posamezni percentili pri skupini preiskovancev in kontrolni skupini.

| Percentil | K – 552 | 95% interval zaupanja | P – 266 | 95% interval zaupanja |
|-----------|---------|-----------------------|---------|-----------------------|
| 2,5 | 10 | 10,0000 | 10 | 10,0000 |
| 5 | 10,15 | 10,0000 - 12,0000 | 10 | 10,0000 |
| 10 | 14 | 13,0000 - 16,0000 | 10 | 10,0000 - 14,0000 |
| 25 | 27 | 22,0000 - 29,0000 | 18 | 15,0000 - 20,0000 |
| 75 | 67 | 63,0000 - 71,0000 | 44 | 39,0000 - 48,0000 |
| 90 | 86 | 81,0133 - 93,0000 | 58 | 54,0000 - 62,0000 |
| 95 | 99,85 | 94,4058 - 107,8739 | 66 | 60,6899 - 71,6927 |
| 97,5 | 112,675 | 104,0671 - 121,3734 | 71,85 | 66,9233 - 74,9557 |

Zaradi nenormalne razporeditve koncentracij vitamina D smo uporabili Mann-Whitneyjev test za izračun razlik med obema skupinama. Mediani vrednosti se statistično signifikantno razlikujeta. Izračun prikazuje preglednica IV, grafično pa je prikazano na grafu 1.

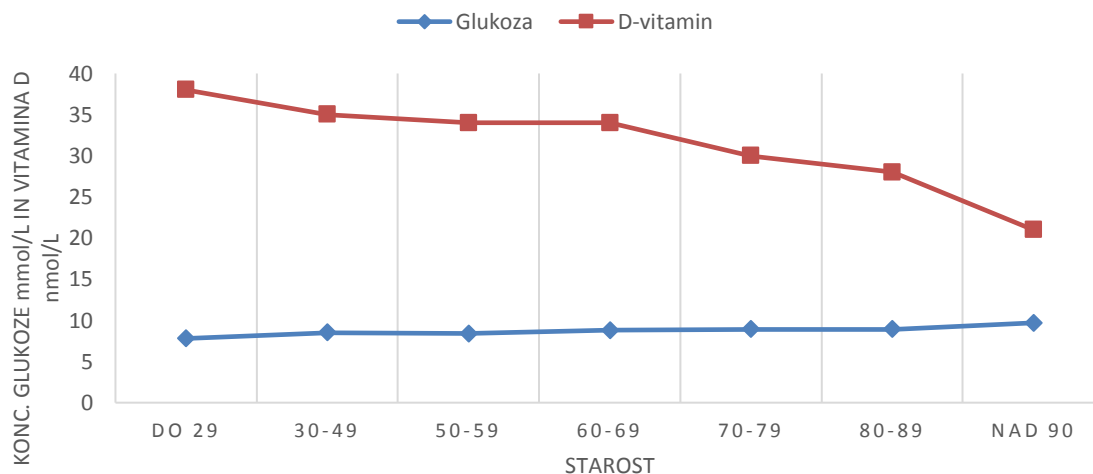
Preglednica VI: Izračun signifikantnosti razlik koncentracij vitamina D.

| | Vzorec 1 | Vzorec 2 |
|---|--------------------|--------------------|
| Velikost vzorca | 552 | 266 |
| Najnižja vrednost (koncentracija vitamina D nmol/L) | 10 | 10 |
| Najvišja vrednost (koncentracija vitamina D nmol/L) | 165 | 77 |
| Mediana (koncentracija vitamina D nmol/L) | 46 | 27,5 |
| 95% interval zaupanja mediane | 43,0000 to 49,0000 | 25,0000 to 29,0000 |
| Interkvartni razpon | 27,0000 to 66,5000 | 18,0000 to 44,0000 |
| Mann-Whitneyjev test (neodvisni vzorci) | | |
| Povprečna uvrstitev prve skupine | | 457,9556 |
| Povprečna uvrstitev druge skupine | | 308,9455 |
| Mann-Whitneyjev U-test | | 46668,5 |
| Testna statistika Z | | 8,451 |
| Dvostranska verjetnost | | $P < 0,0001$ |



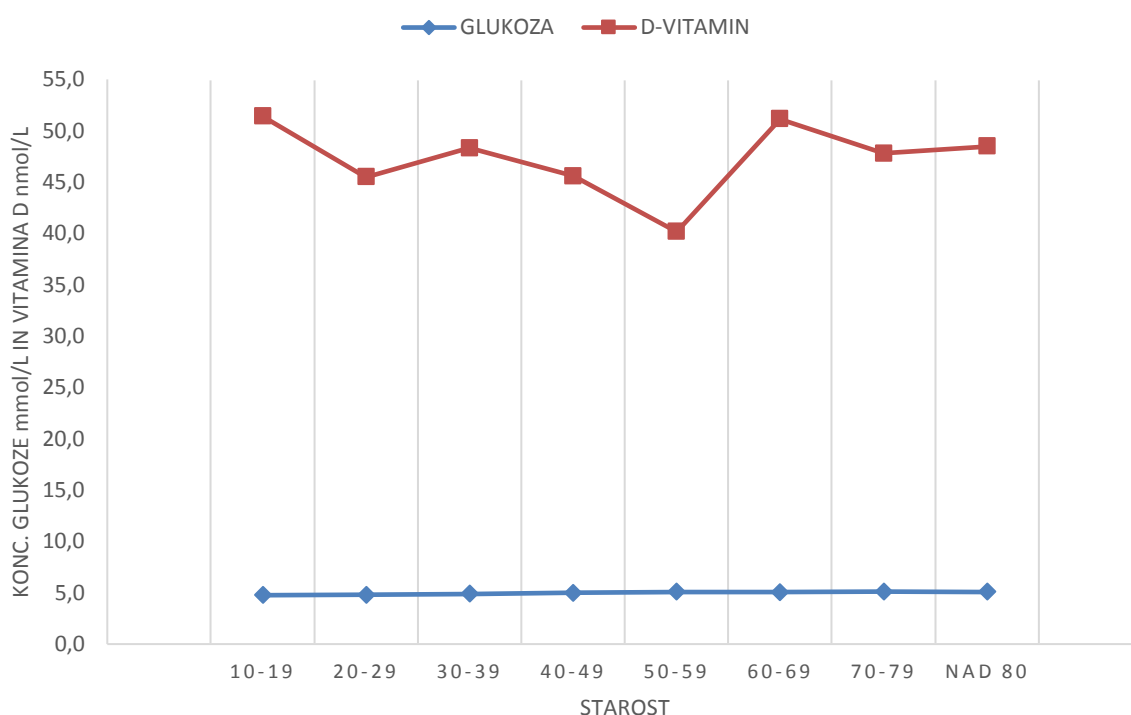
Graf 1: Grafični prikaz koncentracij vitamina D pri kontrolni in preiskovani skupini.

Nato smo izračunali odvisnost koncentracije glukoze in vitamina D pri skupini preiskovancev v odvisnosti od starosti. Koncentracija glukoze v skupini diabetikov počasi raste, medtem ko koncentracija vitamina D upada, kar vidimo tudi na grafu 2.



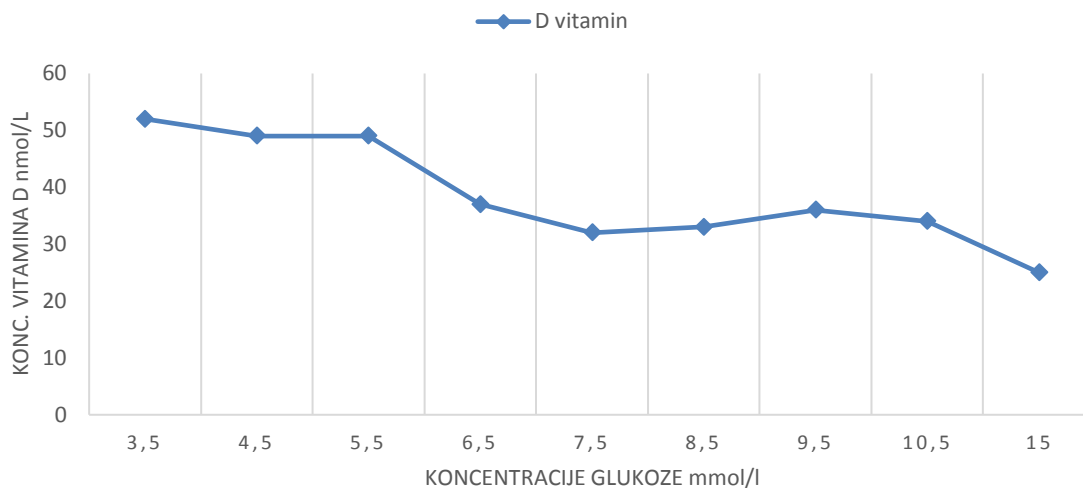
Graf 2: Koncentracija glukoze in vitamina D pri skupini preiskovancev v odvisnosti od starosti.

Koncentracija vitamina D v kontrolni skupini ne kaže nobenega trenda, ampak niha. Vzroka tega nihanja ne poznamo, ker je koncentracija odvisna od letnega časa odvzema krvi in s tem izpostavljenosti soncu, vnosa hranil, ki jim je dodan vitamin D, in nasploh prehrane. V našem primeru je zaznati upad v starosti od 45 do 55 let in nato porast v starosti od 65 do 75 let. Verjetno je porast posledica tega, da so upokojenci, ko gredo v pokoj, več izpostavljeni soncu.



Graf 3: Upad koncentracije vitamina D v odvisnosti od koncentracije glukoze po starosti.

Koncentracija vitamina D pričakovano upada v odvisnosti od koncentracije glukoze. Upad prikazuje graf 4.



Graf 4: Upad koncentracije vitamina D v odvisnosti od koncentracije glukoze.

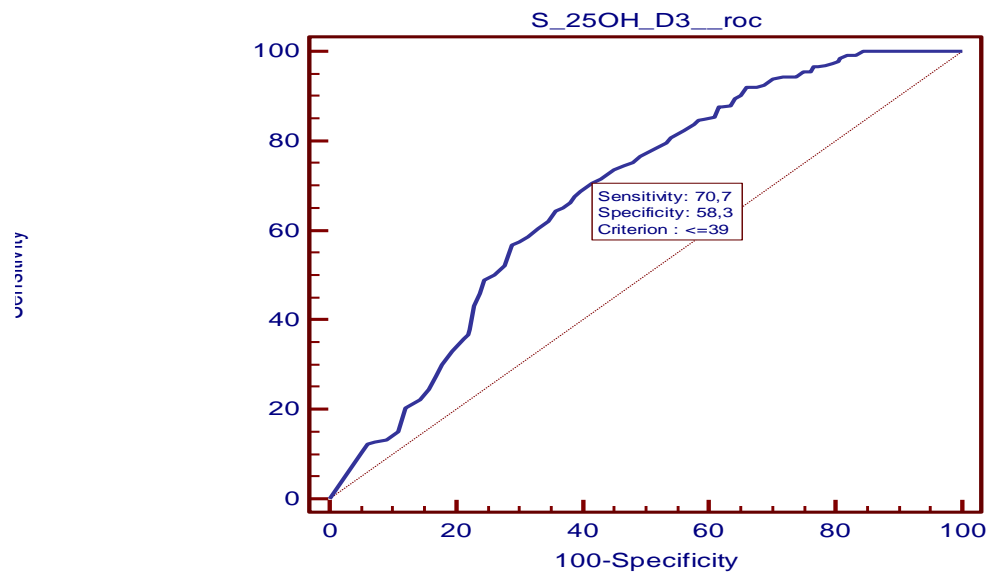
Iz naših podatkov smo izračunali tudi občutljivost in specifičnost ter površino pod krivuljo ROC, to je AUC. V našem primeru smo dobili razmejitveno vrednost za vitamin D 39 nmol/L pri 70,7-odstotni občutljivosti in 58,3-odstotni specifičnosti.

| | |
|-----------------------------|----------------|
| Spremenljivka | S_25OH_D3__roc |
| Klasifikacija spremenljivke | Diagnoza |

| | | |
|--------------------|--------------|-----|
| Velikost vzorca | | 818 |
| Pozitivna skupina: | Diagnoza = 1 | 266 |
| Negativna skupina: | Diagnoza = 0 | 552 |

| | |
|--------------------------|---------|
| Razširjenost bolezni (%) | neznano |
|--------------------------|---------|

| | |
|----------------------------------|----------------|
| Površina pod krivuljo ROC (AUC) | 0,682 |
| Standardna napaka a | 0,0187 |
| 95% Interval zaupanja b | 0,649 to 0,714 |
| Z-statistika | 9,745 |
| Stopnja pomembnosti P (Area=0.5) | <0,0001 |



Graf 5: Prikaz občutljivosti in specifičnosti ter razmejitvene vrednosti za vitamin D.

5 RAZPRAVA

Zadnje ocene so pokazale, da naj bi bilo v Sloveniji 120.000 bolnikov, ki naj bi zboleli za presnovno boleznijo, imenovano diabetes tipa 2. To je kronična bolezen, ki jo je vedno več. Prav za tipom 2 zboli kar 90% ljudi in je starostna oblika te bolezni.

Veliko govorimo o pandemičnem pomanjkanju vitamina D po vsem svetu. Podatki namreč kažejo, da naj bi imela premajhne zaloge vitamina D kar milijarda svetovnega prebivalstva. Na stari celini naj bi imelo premalo vitamina D od 30 do 50% prebivalstva, vzrok za to pa je, ker veliko časa preživimo v službah in v prostorih, kjer ni dovolj sončne svetlobe. (12)

Manjše vrednosti vitamina D je zaznati med starejšimi, študije pa kažejo tudi zmanjšane vrednosti pri mlajših.(12) Večji posluš moramo imeti za ženske po menopavzi, saj je prav v tem obdobju zaznati premajhne količine vitamina D pri tistih, ki naj bi imele v preteklosti zlom ali osteoporozo.(13)

V diplomski nalogi smo želeli ugotoviti dogajanje in povezanost med sladkorno boleznijo tipa 2 in vitaminom D. Analizirali smo 266 bolnikov s sladkorno boleznijo med 19. in 95. letom. V tej skupini je bilo 132 moških in 134 žensk. Kontrolno skupino je sestavljalo 552 posameznikov, ki niso imeli metabolne bolezni, stari pa so bili od 0,2 do 91 let. V skupini je bilo 215 moških in 337 žensk. Povprečna koncentracija glukoze v skupini bolnikov je bila 7 mmol/L, najnižja vrednost je bila 6,2 mmol/L, najvišja pa 20,2 mmol/L. Povprečna koncentracija glukoze v kontrolni skupini je bila 5 mmol/L, najvišja vrednost je bila 6,1 mmol/L, najnižja pa 2,8 mmol/L. Povprečna koncentracija vitamina D v preiskovalni skupini je bila 31,6 nmol/L, najvišja vrednost je bila 77 nmol/L, najnižja pa 10nmol/L. Koncentracije pri kontrolni skupini pa so bile: srednja vrednost 49,2 nmol/L, najnižja vrednost 10 nmol/L, najvišja pa 165 nmol/L. Izkazalo se je, da se koncentraciji vitamina D in glukoze ne razporejata po normalni porazdelitvi, kar se vidi pri mediani za glukozo, ki je 5 mmol/L pri zdravi skupini in 7,7 mmol/L pri preiskovani skupini. To se kaže tudi pri standardnem odklonu 0,5 pri zdravih in 2,9 pri preiskovanih. Izračunana stopnja značilnosti je nižja $P < 0,0001$. Pri vitaminu D je bila mediana v zdravi skupini 46 nmol/L, pri preiskovani pa 27,5 nmol/L. Razlikujeta se tudi standardna odklona, in sicer pri zdravih

29,6 in preiskovanih 17,4. Test normalnosti pokaže, da se koncentracija vitamina D ne razporeja po ključu normalne porazdelitve, saj je bila izračunana stopnja značilnosti nižja od 0,05 ($P < 0,0001$). Pri nadaljnji statistični obdelavi smo uporabili neparametrične teste, saj smo imeli opravka s skupino, pri kateri koncentracije niso sledile normalni porazdelitvi. Testirali smo s pomočjo neparametričnega Mann-Whitneyjevega testa. Rezultat je pokazal, da je vrednost P enaka 0,0001, kar pomeni, da obstaja statistična razlika znotraj naših skupin za koncentracijo vitamina D.

Bolniki s sladkorno boleznijo so imeli manjšo koncentracijo vitamina D, iz česar lahko sklepamo, da se z večanjem glukoze manjša vitamin D.

Pri raziskovanju mehanizma med sladkorno boleznijo tipa 2 in vitamina D so nam pomagale tudi različne raziskave po svetu.

Raziskovalce na Finskem je zanimala povezava vitamina D s pojavnostjo sladkorne bolezni tipa 2 z njenimi rizičnimi dejavniki. Dve leti so testirali 4097 ljudi, starih od 40 do 69 let. Pomemben podatek je, da so poznali zdravstven karton preiskovancev. Karton je vseboval starost, težo, višino, telesno dejavnost, kajenje, krvni pritisk in izobrazbo. Preiskovance so razdelili v skupine, v katere so postopoma dodajali rizike sladkorne bolezni. Več kot je bilo rizikov, večja verjetnost je bila nastanek sladkorne bolezni tipa 2. Zanimiv podatek je tudi, da na koncentracijo vitamina D vplivata lega dežele in izpostavljenost soncu. Ob koncu so poudarili, da se njihovi rezultati skladajo z začetno hipotezo, da se z večanjem vitamina D manjša možnost nastanka sladkorne bolezni tipa 2, a vseeno bi bile potrebne nadaljnje raziskave, da bi v celoti pojasnile vlogo vitamina D pri sladkorni bolezni. (14)

Pri raziskavi na Škotskem jih je zanimalo, ali lahko večji peroralni odmerek vitamina D vpliva na sladkorno bolezen tipa 2. Vzorce preiskovancev so odvzeli na tešče, ob tem pa so jim izmerili tudi krvni tlak. Izhodiščna koncentracija vitamina D pri 45 % preiskovancev je bila 50 nmol/L. Končni rezultat so izmerili 34 preiskovancem s povprečno starostjo 64 let. Njihova osnovna koncentracija vitamina D je bila 38,3 nmol/L, peroralni odmerek pa je povečal osnovno koncentracijo vitamina D za 15,3 nmol/L in ob tem izboljšal pretok arterij. Nadomestek vitamina D naj bi občutno znižal tudi sistolični krvni tlak, in sicer za

14 mmHg. Ugotovili so, da je pomanjkanje vitamina D med zimo na Škotskem bolj izrazito, peroralni nadomestek pa naj bi izboljšal stanje sladkorne bolezni. Tudi za to trditev bi bilo potrebnih več raziskav. (15)

Študija, narejena med letoma 1973 in 1980 na Finskem, je vključevala moške in ženske med 49. in 74. letom, ki na začetku niso imeli sladkorne bolezni. Po 22 letih spremljanja so znotraj skupine zaznali veliko novih primerov sladkorne bolezni. Ugotovili so, da naj bi imeli moški celo nekoliko večjo koncentracijo vitamina D kot ženske, zaradi česar je pri moških manjša verjetnost nastanka sladkorne bolezni. Pri moških je bila razlika med največjim in najmanjšim deležem koncentracije vitamina D 0,28, pri ženskah pa 1,14, to pa je bilo zaznati po tem, ko so jim zdravniki prilagodili rizike. Rezultati raziskave potrjujejo hipotezo, da velika koncentracija vitamina D zagotavlja zaščito pred nastankom sladkorne bolezni tipa 2.

Vsekakor je sladkorna bolezen tihi ubijalec sodobnega časa, zato je pomembno, da ji namenimo dovolj pozornosti, da jo omejimo, ne smemo pa pozabiti na vitamin D, ki je pri tej bolezni zelo pomemben dejavnik. (16)

Zanimivo je, da naj bi se koncentracija in sposobnost sinteze vitamina D z leti manjšala. V zrelejših letih je pretvorba kalcidiola v kalcitriol zmanjšana, saj ledvice postanejo manj učinkovite zaradi znižane dejavnosti encima α -hidroksilaze. (17, 18) S temi raziskavami so ugotovili, da 20-letnik, ki je bil pod vplivom sevanja sonca, kot 70-letni človek proizvede za 25% več vitamina D. (19)

O povezanosti sladkorne bolezni tipa 2 in vitamina D so poročali v mnogih študijah po svetu. Negativno povezavo med koncentracijo vitamina D in koncentracijo glukoze v krvi so odkrili v eni od študij, ki so jo opravili eno uro po vnosu 75g glukoze. (20) Številne presečne študije nakazujejo status vitamina D pri tipu 2, ki kažejo povezanost manjše koncentracije vitamina D z diabetesom tipa 2 in z glukozno intoleranco. (21) V skoraj vseh raziskavah so imeli preiskovanci s sladkorno boleznijo tipa 2 manjše vrednosti vitamina D v primerjavi z zdravo skupino. Vpliv vitamina D na tveganje za pojav sladkorne bolezni ni popolnoma razjasnjen. (22) V povezavi s premajhnimi količinami vitamina D sta bili navedeni slaba funkcija celic trebušne slinavke in inzulinska rezistenca. Receptor VDR je

prisoten v beta celicah pankreasa. Njegova odstranitev naj bi poslabšala sposobnost izločanja inzulina na živalskih poskusih. To nakazuje na pomembno vlogo vitamina D pri regulaciji funkcije beta celic. (23) Povezanost diabetesa in vloge vitamina D potrebuje še dodatne raziskave. (22)

Veliko je dejavnikov, ki vplivajo na nastanek sodobne bolezni, kot je sladkorna bolezen, eden od njih je tudi vitamin D. Izkazalo se je, da kadar se koncentracije vitamina D v krvi manjšajo, se večja koncentracija glukoze v krvi. Sistem vplivnosti vitamina D na sladkorno bolezen ni popolnoma znan, zato bi bilo treba narediti več raziskav.

6 SKLEP

Cilj diplomske naloge je bil raziskati, ali je koncentracija vitamina D pri bolnikih s sladkorno boleznijo manjša kot pri tistih, ki nimajo sladkorne bolezni. Potrditi ali ovreči smo želeli hipotezo, da se koncentracija vitamina D manjša z večanjem koncentracije glukoze v krvi odvzetega vzorca. Želeli smo tudi preveriti, ali so koncentracije vitamina D manjše pri tistih diabetikih, ki imajo večje koncentracije glukoze. Zanimalo nas je tudi, ali se s starostjo koncentracija vitamina D spreminja.

- Preiskovanci s sladkorno boleznijo tipa 2 imajo manjše koncentracije vitamina D kot preiskovanci brez sladkorne bolezni.
- Koncentracija vitamina D pada z naraščajočo koncentracijo glukoze.
- Koncentracija vitamina D pada s starostjo preiskovancev s sladkorno boleznijo tipa 2.
- Koncentracija vitamina D pri kontrolni skupini preiskovancev je večja kot pri preiskovancih s sladkorno boleznijo tipa 2 in nima trenda padanja.

Razmejitvena vrednost za vitamin D je 39 nmol/L pri izračunani občutljivosti 70,7% in specifičnosti 58,3%.

Naša raziskava ponuja splošen pregled stanja v odnosu med sladkorno boleznijo tipa 2 in vitaminom D. Za analizo bi potrebovali več podatkov o bolnikih, pomemben podatek bi bil življenjski slog posameznika, ki je pomemben dejavnik za nastanek sladkorne bolezni.

7 LITERATURA

1. Labeks Group. Sladkorna bolezen tipa 1, sladkorna bolezen tipa 2. <http://labeks.com/blog/>. Dostopano: 1.2.2016.
2. Kranjc I, Pečovnik Balon B: Interna medicina za Visoko zdravstveno šolo, Visoka zdravstvena šola, Maribor, 2000: 270–271.
3. Medvešček M, Pavčič M: Sladkorna bolezen tipa 2 : kako jo obvladati in živeti z njo : sto receptov za zdravo prehrano, Ljubljana : Littera picta, 2009: 12–15.
4. Koselj M, Medvešček M, Mrevlje, F: Sladkorna bolezen tipa 2. Priročnik za zdravnike, Ljubljana : samozal., 1999 ([Ljubljana] : Littera picta: 3–10.
5. Medvešček M, Mrevlje F, Koselj M: Sladkorna bolezen tipa 2 : priročnik za zdravnike, Ljubljana : samozal., 2005 ([Ljubljana] : Littera picta): 15–19.
6. Osredkar, Joško, Marc, Janja. "Vitamin D in presnovki." Medicinski razgledi letnik 35, številka 4 (1996) str. 543–565.
7. Wikipedia. Vitamin D. http://sl.wikipedia.org/wiki/Vitamin_D. Dostopano: 3.4.2016.
8. Viraj S, Štrigl K. Seminarska naloga: Vitamini. Ljubljana: Fakulteta za farmacijo, 2007/2008. 5.
9. Univerza v Mariboru. Fiziologija vitamina D. www.mf.unimb.si/slike/Gradivo/.../Fiziologija%20vitaminaD.doc. Dostopano: 15.12.2015.
10. EZdravje. Kalcij in vitamin D proti diabetesu tipa 2. <http://www.ezdravje.com/novice/zdravje-in-dobro-pocutje/kalcij-in-vitamin-d-proti-diabetesu-tipa-2/4037/>. Dostopano: 16.3.2016.

11. Beckman Coulter. Access Immunoassey system 25(OH) vitamin D total. https://www.beckmancoulter.com/ucm/idc/groups/validatedcustomer/@wsr/@literature/documents/document/glb_bci_155959.pdf. Dostopano dne: 5.6.2016.
12. Holick MF: Vitamin D Deficiency. *The New England Journal of Medicine* 2007; 357: 266–81.
13. Gaugris S, Heaney RP et al.: Vitamin D inadequacy among post-menopausal women: a systematic review. *Q J Med* 2005; 98: 667–676.
14. *Epidemiology*. Serum Vitamin D and Subsequent Occurrence of Type 2 Diabetes. http://journals.lww.com/epidem/Abstract/2008/09000/Serum_Vitamin_D_and_Subsequent_Occurrence_of_Type.8.aspx. Dostopano: 21.2.2016.
15. *Diabetic medicine*. Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-491.2007.02360.x/full>. Dostopano: 21.1.2016.
16. *Diabetes Care*. Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentration and Subsequent Risk of Type 2 Diabetes. <http://care.diabetesjournals.org/content/30/10/2569>. Dostopano: 14.4.2016.
17. Neuprez A, Bruyere O et al: Vitamin D inadequacy in Belgian postmenopausal osteoporotic women. *BMC Public Health* 2007; 7: 64.
18. Munir J, Birge SJ. Vitamin D deficiency in pre- and postmenopausal women. *Menopause Management* 2008; 17(5): 10–21.
19. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2004; 80: 1678S-88S.

20. Hidayat R, Setiati S, Soewondo P. The Association Between Vitamin D Deficiency and Type 2 Diabetes Mellitus in Elderly Patients. *Acta Medica* 2010; 42: 123–9.
21. Liu E, Meigs J Betal. Plasma 25-Hydroxyvitamin Disassociated with markers of the insulin resistant phenotype in nondiabetic adults. *Journal of Nutrition* 2009; 139(2): 329–334.
22. Pittas AG, Lau Jetal. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. Asystematic review and meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007; 92: 2017–2029.
23. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li Tetal. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006; 29(3): 650–656.