

**ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI**  
**FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2019**

**LUKÁŠ BYTEL**

# FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

**Lukáš Bytel**

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

## **FREKVENCE HYPOVITAMINÓZY D V OSTEOLOGICKÉ AMBULANCI V ZÁVISLOSTI NA VĚKU, POHLAVÍ, ROČNÍM OBDOBÍ A SUBSTITUCI VITAMINEM D V KLATOVSKÉM REGIONU**

**Bakalářská práce**

Vedoucí práce: MUDr. Richard Pikner, Ph.D.

PLZEŇ 2019

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI  
Fakulta zdravotnických studií  
Akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lukáš BYTEL**  
Osobní číslo: **Z16B0100P**  
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Frekvence hypovitaminózy D v osteologické ambulanci  
v závislosti na věku, pohlaví, ročním období a substituci  
vitaminem D v klatovském regionu**  
Zadávací katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdra-  
votnictví**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

- Zpracovat seznam odborné literatury na vybrané téma
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah grafických prací:

Rozsah kvalifikační práce:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- **DŽUPA, V., JENŠOVSKÝ, J. (2018). Diagnostika a léčba osteoporózy a dalších onemocnění skeletu. Praha: Karolinum. ISBN 9788024637419.**
- **ROSEN, Clifford J., ed (2013). Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 8th ed. Ames: Wiley-Blackwell. ISBN 9781118453889.**
- **Osteologický bulletin: časopis pro otázky diagnostiky a léčby metabolických onemocnění skeletu. Praha: Panax, 1996-. ISSN 1211-3778.**
- **Klinická biochemie a metabolismus: časopis České společnosti klinické biochemie. Praha: Česká lékařská společnost J.E.Purkyně, 1993-. ISSN 1210-7921.**
- **Diabetologie - Metabolismus - Endokrinologie - Výživa: časopis pro postgraduální vzdělávání. Praha: Tigris, 1998-. ISSN 1211-9326.**
- **Osteoporosis international [online]. London: Springer, 1991-. ISSN 1433-2965. Dostupné z: <https://link.springer.com/journal/198>**

Vedoucí bakalářské práce:

**MUDr. Richard Pikner, Ph.D.**

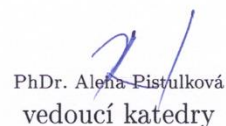
Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: **31. ledna 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **29. března 2019**



PhDr. Lukáš Štich  
děkan



PhDr. Alena Pistulková  
vedoucí katedry

V Plzni dne 1. února 2019

**Čestné prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne .....

.....  
vlastnoruční podpis

# ABSTRAKT

Příjmení a jméno: Bytel Lukáš

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Frekvence hypovitaminózy D v osteologické ambulanci v závislosti na věku, pohlaví, ročním období a substituci vitamínem D v klatovském regionu

Vedoucí práce: MUDr. Richard Pikner, Ph.D.

Počet stran: číslované 52, nečíslované 27

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 83

Klíčová slova: deficit vitamínu D, věk, pohlaví, substituce vitamínem D, roční období

**Úvod:** Hypovitaminóza D je celosvětově velmi rozšířena. V Evropě byl zaznamenán nedostatek vitamínu D u 30-80 % populace, studií se zaměřením na Českou republiku není mnoho. Práce hodnotí vliv věku, pohlaví, ročního období a substituce vitamínem D na hladiny 25-hydroxyvitamínu D u pacientů osteologické ambulance v klatovském regionu. **Metody:** Práce se zabývá retrospektivní statistickou analýzou 7500 sérových hodnot 25-hydroxyvitamínu D pacientů ve věku nad 45 let v období od 1. 7. 2009 do 31. 3. 2018, měřených chemiluminiscentní metodou firmy DiaSorin. **Výsledky:** Práce neprokázala rozdílné hodnoty 25-hydroxyvitamínu D dle pohlaví, prokázala vliv ročního období v době odběru do 75 let věku. Hodnoty 25-hydroxyvitamínu D u pacientů bez substituce jsou nejvyšší v červenci až září a nejnižší v únoru až dubnu, Substituce minimalizuje vliv ročního období. Deficit vitamínu D (pod 50 nmol/l) byl zjištěn u 81.1 % pacientů bez substituce v období únor-duben a dostatečná hodnota (nad 75 nmol/l) u 2,9 %. **Závěr:** Deficit vitamínu D je v České republice významný problém. Stanovení vitamínu D by se mělo optimálně provádět v období od února do dubna, kdy je vliv slunečního osvětlení minimální a nejsou rozdíly dle věku.

# ABSTRACT

Surname and name: Bytel Lukas

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Frequency of Hypovitaminosis D in Osteology Outpatient Department

Depending on Age, Gender, Season and Substitution of Vitamin D in Klatovy Region

Consultant: MUDr. Richard Pikner, Ph.D.

Number of pages: numbered 52, unnumbered 27

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 83

Keywords: vitamin D deficiency, age, gender, substitution of vitamin D, season

**Background:** Vitamin D deficiency is widespread worldwide. In Europe there are insufficient levels of vitamin D noted in 30-80% of population, but not many studies are focusing on the Czech Republic. This work evaluates an influence of age, gender, season and substitution of vitamin D on 25-hydroxyvitamin D levels in osteology outpatient department patients in Klatovy region. **Method:** This retrospective study analyses 25-hydroxyvitamin D serum levels in 7500 patients above 45 years of age from 1.7.2009 to 31.3.2018, measured by chemiluminiscent method by DiaSorin, Inc. **Results:** Author did not prove sex differences in 25-hydroxyvitamin D levels but season influence has been proved in patients below 75 years of age not using any vitamin D substitution. Levels of 25-hydroxyvitamin D of nonsubstituted patients are the highest from July to September and the lowest from February to April. Substitution of vitamin D minimizes seasonal variation. Vitamin D deficiency (less than 50 nmol/l) and sufficiency (more than 75 nmol/l) was detected in 81,1% and 2,9% of patients without substitution from February to April, respectively. **Conclusion:** The vitamin D deficiency is an important issue in the Czech Republic. Assessment of vitamin D levels should be optimally done from February to April, when the influence of sunlight exposure is minimal and there are no differences according to age.

# PŘEDMLUVA

Deficit vitamínu D je celosvětově velmi rozšířen, jeho frekvence v České republice však není dostatečně popsána. Cílem této bakalářské práce bylo zhodnotit vliv věku, pohlaví, ročního období a případného užívání vitamínu D ve formě léčivého přípravku na stav zásobení organismu vitamínem D, a to s využitím dostatečně velkého souboru dat pacientů osteologické ambulance v klatovském regionu.

## **Poděkování:**

Děkuji MUDr. Richardu Piknerovi, Ph.D. za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále děkuji Klatovské nemocnici, a.s. za umožnění sběru dat pro tuto bakalářskou práci, RNDr. Zlatě Doušové Fejfarkové a Ing. Mgr. Martě Studecké za spolupráci při získávání dat a Ing. Stanislavu Kormundovi za zpracování statistické analýzy a rady k její interpretaci. Mé poděkování patří též mé rodině, přátelům a kolektivu Pracoviště klinické biochemie a hematologie Klatovské nemocnice, a.s. za podporu při vypracovávání této práce. Kvalifikační práce byla financována ze zdrojů Klatovské nemocnice, a.s.



# OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ.....	10
SEZNAM TABULEK .....	11
SEZNAM ZKRATEK .....	12
ÚVOD.....	14
TEORETICKÁ ČÁST .....	15
1 ÚVOD DO HISTORIE VITAMINU D.....	15
2 FYZIOLOGIE VITAMINU D .....	17
2.1 Základní formy vitamínu D .....	17
2.2 Transport a metabolická přeměna vitamínu D v organismu.....	18
2.2.1 Aktivace .....	18
2.2.2 Deaktivace .....	18
2.2.3 Regulace metabolismu.....	19
2.2.4 Uložení do zásob.....	20
2.3 Funkce v organismu.....	21
2.3.1 Klasické působení - skeletální .....	21
2.3.2 Neklasické působení - neskeletální.....	22
2.3.3 Hypovitaminóza D.....	23
2.4 Zdroje vitamínu D.....	25
2.4.1 Sluneční záření.....	25
2.4.2 Potrava .....	25
2.4.3 Léčivé přípravky .....	26
2.5 Analyticky významné formy vitamínu D .....	28
3 METODY STANOVENÍ VITAMINU D .....	31
3.1 Imunochemické metody.....	31
3.2 Chromatografické metody .....	32
3.3 Standardizační program .....	32
PRAKTICKÁ ČÁST .....	33
4 CÍL PRÁCE .....	33
5 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY (OTÁZKY).....	33
6 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU.....	34

7	METODIKA PRÁCE .....	35
7.1	Metoda stanovení vitamínu D.....	35
7.2	Statistická analýza .....	36
8	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ .....	37
8.1	Základní statistická deskripce souboru .....	37
8.1.1	Věk a substituce vitamínem D .....	37
8.2	Závislost sérových hodnot 25-hydroxyvitamínu D na pohlaví.....	39
8.3	Souvislost hodnot 25-hydroxyvitamínu D a substituce vitamínem D .....	40
8.4	Souvislost sérových hodnot 25-hydroxyvitamínu D a věku pacientů .....	41
8.5	Závislost hodnoty 25-hydroxyvitamínu D na ročním období.....	42
8.5.1	Hodnoty 25-hydroxyvitamínu D dle věkových kategorií a měsíce odběru.....	43
8.5.2	Porovnání měsíců s nejnižšími a nejvyššími hodnotami 25-hydroxyvitamínu D .....	49
8.6	Zhodnocení stavu zásobení vitamínem D .....	53
8.6.1	Stav zásobení vitamínu D u nesubstituovaných bez ohledu na datum odběru .....	53
8.6.2	Četnost deficitu a dostatečných hodnot 25-OHD v zimních a letních měsících u nesubstituovaných pacientů.....	54
8.6.3	Četnost deficitu a dostatečných hodnot 25-OHD v zimních a letních měsících u substituovaných pacientů .....	57
	DISKUZE .....	60
	ZÁVĚR.....	65
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	
	SEZNAM PŘÍLOH	
	PŘÍLOHY	

# SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Fotolytická přeměna ergosterolu na ergokalciferol a 7-dehydrocholesterolu na cholekalciferol. ....	17
Obrázek 2 Syntéza metabolitů vitamínu D <sub>3</sub> včetně neaktivní formy, 24,25-dihydroxyvitamínu D (24,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> ), a aktivní formy, 1,25-dihydroxyvitamínu D (1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> ). ....	20
Obrázek 3 Mapa stavu zásobení vitamínem D v Evropě.....	24
Obrázek 4 Grafické znázornění věkového rozložení skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů.....	38
Obrázek 5 Grafické znázornění závislosti sérové hodnoty 25-OHD na pohlaví.....	40
Obrázek 6 Grafické znázornění závislosti sérové hodnoty 25-OHD na substituci vitamínem D.....	41
Obrázek 7 Grafické znázornění lineární regrese, závislosti hodnot 25-OHD na věku.....	42
Obrázek 8 Grafické znázornění ročních průběhů mediánů hodnot 25-OHD skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů – kategorie 45–55 let.....	44
Obrázek 9 Grafické znázornění ročních průběhů mediánů hodnot 25-OHD skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů – kategorie 56–65 let.....	46
Obrázek 10 Grafické znázornění ročních průběhů mediánů hodnot 25-OHD skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů – kategorie 66–75 let.....	47
Obrázek 11 Grafické znázornění ročních průběhů mediánů hodnot 25-OHD skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů – kategorie nad 75 let.....	49
Obrázek 12 Grafické znázornění hodnot 25-OHD nesubstituovaných pacientů v zimních a v letních měsících – srovnání věkových skupin.....	51
Obrázek 13 Grafické znázornění hodnot 25-OHD substituovaných pacientů v zimních a letních měsících – srovnání věkových skupin.....	52
Obrázek 14 Grafické znázornění zastoupení kategorií dle stavu zásobení organismu vitamínem D.....	54
Obrázek 15 Grafické srovnání četnosti dostatku a nedostatku zásobení vitamínem D věkových kategorií, v zimních a letních měsících, u nesubstituovaných.....	56
Obrázek 16 Grafické srovnání četnosti deficitu a vážného deficitu zásobení vitamínem D věkových kategorií, v zimních a letních měsících, u nesubstituovaných.....	57
Obrázek 17 Grafické srovnání četnosti dostatku a nedostatku, deficitu a vážného deficitu zásobení vitamínem D věkových kategorií, v zimních a letních měsících, u substituovaných pacientů.....	59

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Klasifikace stavu zásobení organismu vitaminem D dle Endocrine Society .....	23
Tabulka 2 Nejvyšší přípustné denní příjmy vitaminu D jednotlivých věkových skupin podle doporučení Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA).....	28
Tabulka 3 Zkřížené reaktivity testovaných steroidních látek normalizované na 25-OHD <sub>3</sub>	35
Tabulka 4 Statistická deskripce věku pacientů skupin bez substituce a substituovaných vitaminem D.....	37
Tabulka 5 Procentuální rozložení nesubstituovaných a substituovaných pacientů do věkových kategorií.....	38
Tabulka 6 Statistická deskripce – ženy a muži bez substituce vitaminem D .....	39
Tabulka 7 Statistická deskripce skupin pacientů dle substituce vitaminem D .....	41
Tabulka 8 Mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících – kategorie 45-55 let .....	44
Tabulka 9 Mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících – kategorie 56–65 let.....	45
Tabulka 10 Mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících – kategorie 66–75 let.....	47
Tabulka 11 Mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících – kategorie nad 75 let.....	48
Tabulka 12 Mediány sérových hodnot 25-OHD, srovnání v zimních a letních měsících...	50
Tabulka 13 Procentuální zastoupení kategorií podle stavu zásobení vitaminem D .....	53
Tabulka 14 Četnost nesubstituovaných pacientů s dostatečným zásobením vitaminem D v jednotlivých věkových kategoriích v zimních a letních měsících.....	55
Tabulka 15 Četnost nesubstituovaných pacientů s deficitem vitaminu D v jednotlivých věkových kategoriích v zimních a letních měsících.....	56
Tabulka 16 Četnost substituovaných pacientů s dostatečným zásobením vitaminem D v jednotlivých věkových kategoriích v zimních a letních měsících.....	58
Tabulka 17 Četnost substituovaných pacientů s deficitem vitaminu D v jednotlivých věkových kategoriích v zimních a letních měsících.....	58

## SEZNAM ZKRATEK

1,25-(OH) <sub>2</sub> D	1,25-dihydroxyvitamin D, kalcitriol
24,25-(OH) <sub>2</sub> D	24,25-dihydroxyvitamin D
25-OHD	25-hydroxyvitamin D
7-DHC	7-dehydrocholesterol
ANOVA	Analysis Of Variance (statistický test rozptylu hodnot)
BMI	Body Mass Index (index tělesné hmotnosti)
CLIA	Chemiluminiscent Immunoassay (chemiluminiscenční imunoanalýza)
DM1	diabetes mellitus typ 1
DNA	Deoxyribonucleic Acid (deoxyribonukleová kyselina)
EFSA	European Food Safety Agency (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
FGF23	Fibroblast Growth Factor 23 (růstový faktor fibroblastů 23)
IOF	International Osteoporosis Foundation (Mezinárodní nadace pro osteoporózu)
IU	International Unit (mezinárodní jednotka)
LC-MS/MS	Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií)
Max3	tři po sobě jdoucí měsíce s nejvyššími hodnotami 25-OHD
MED	Minimal Erythemat Dose (minimální erythemální dávka)
Min3	tři po sobě jdoucí měsíce s nejnižšími hodnotami 25-OHD
n.s.	není signifikantní
NIH	The National Institutes of Health (americký Národní institut zdraví)
PTH	parathormon

RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (receptor aktivátoru jaderného faktoru kappa-B ligandu)
RXR	Retinoid X Receptor (retinoidní receptor X)
TLR	Toll-like receptor (receptor podobný genu Toll)
TOST	Two One-Sided Tests (statistické testy ekvivalence)
UV	ultrafialové
UVB	ultrafialové záření o vlnových délkách 280-315 nm
VDBP	Vitamin D Binding Protein (protein vázající vitamin D)
VDR	Vitamin D Receptor (receptor vitaminu D)
VDRE	Vitamin D Responding Elements (elementy odpovídající vitaminu D)
VDSP	Vitamin D Standardization Program (Vitamin D standardizační program)
VP	výzkumný problém (otázka)

# ÚVOD

Vitamíny jsou organické sloučeniny, které jsou esenciální pro normální růst a výživu a jsou potřebné v malých množstvích v potravě, jelikož nemohou být syntetizovány tělem. Vitamin D však vzniká v organismu živočichů působením slunečního záření, čímž se této definici poněkud vymyká a zaujímá mezi vitamíny atypické postavení. Jedná se o hormonální prekurzor steroidní povahy, v organismu podléhá několika metabolickým přeměnám, které v důsledku směřují k jeho hormonálně aktivní formě, 1,25-dihydroxyvitaminu D.

Hlavní funkcí vitaminu D v organismu je regulace metabolismu vápníku a fosforu, respektive udržování jejich fyziologické koncentrace v krvi, a to především podporou vstřebávání z potravy přes střevní stěnu a zpětného vstřebávání z moči v ledvinách, čímž vitamin D přispívá ke správné stavbě kostí. Vitamin D ale působí pozitivně na celý organismus, podporuje například fyziologickou funkci imunitního systému, nervové soustavy a jsou pozorovány i jeho protirakovinné účinky. Na druhou stranu při nedostatku vitaminu D může docházet k úbytku kostní hmoty, svalové slabosti, nebo u dětí ke zpomalení růstu a psychického vývoje.

Ačkoli je již výskyt křivice, nejvíce znatelného projevu vážné hypovitaminózy D u dětí, v současné době ve vyspělých zemích ojedinělou záležitostí, nedostatek vitaminu D je celosvětově stále významným tématem, přičemž recentní studie navíc uvádějí nárůst tohoto deficitu v posledních letech. Vzhledem k tomu, že v České republice je nedostatek vitaminu D málo zdokumentován, věnujeme se v této práci problematice možného vlivu věku, pohlaví, ročního období a případné substituce vitaminem D na výskyt hypovitaminózy D v klatovském regionu, jenž hodnotíme v populaci pacientů osteologické ambulance.

Na začátku této práce je předložen teoretický základ k tématu, následovaný analýzou získaných dat v praktické části práce. Analýza dat je zahájena základní deskripcí souboru, vzhledem k předpokladu zanedbatelné významnosti pak hodnotíme vliv pohlaví na sérové hodnoty vitaminu D, aby dále mohla být prováděna analýza výsledků mužů i žen dohromady. Následuje hodnocení možného vlivu substituce vitaminem D, věku pacientů a ročního období v době odběru na zásobení organismu vitaminem D. Nakonec je provedeno celkové zhodnocení stavu zásobení analyzované populace vitaminem D.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 1 ÚVOD DO HISTORIE VITAMINU D

Rachitida neboli křivice, onemocnění kostí způsobené nedostatkem vitamínu D, byla známa již ve starověku, k jejímu detailnímu popisu však došlo až v polovině 17. století. Ačkoli již dříve bylo využíváno léčivých účinků oleje z tresčích jater, teprve v roce 1824 byl tento léčivý přípravek poprvé předepsán právě k léčbě křivice. Od této chvíle uplynulo přes osmdesát let, než byla postulována existence esenciálních složek stravy zabraňujících vzniku nemoci, jako je křivice. V roce 1922 pak McCollum se svými spolupracovníky provedl experiment, jímž prokázali v extraktu z tresčích jater přítomnost antirachitické složky, kterou nazvali vitamin D (Wolf, 2004).

Německý chemik Adolf Windaus získal v roce 1928 Nobelovu cenu v oboru chemie, a to za výzkum struktury sterolů a jejich vztahu k vitamínům. Hlavním vitamínem zájmu pro něj byl právě vitamín D (Nobel Media AB, 2018). K objevu struktury vitamínu D přispělo mnoho dalších vědců, z nejvýznamnějších jmenujme například H. Steenbocka, A. F. Hesse nebo O. Rosenheima (Wolf, 2004).

Souběžně s experimenty s olejem z tresčích jater byl objeven i zcela odlišný způsob léčby křivice – tedy fototerapie ultrafialovým zářením (UV). Tradičně bylo známo, že pobyt na čerstvém vzduchu a slunci napomáhá prevenci křivice. Koncem 20. let 20. století pak bylo pozorováním rachitických dětí potvrzeno, že sluneční záření, konkrétně jeho ultrafialová složka, může vyléčit křivici stejně dobře, jako olej z tresčích jater (Wolf, 2004).

Během následujících deseti let proběhlo několik studií, využívajících ozařování steroidních látek UV světlem s cílem objevit prekurzor vitamínu D. V tomto smyslu došlo k identifikaci dvou látek: ergosterolu – prekurzoru rostlinné formy vitamínu D, pojmenované ergokalciferol (či vitamín D<sub>2</sub>) – a 7-dehydrocholesterolu, vyskytujícího se v kůži savců, jehož iradiační produkt byl nazván cholekalciferol (též vitamín D<sub>3</sub>). Kompletní kaskádu fotochemických a termických reakcí vedoucích od ergosterolu k ergokalciferolu osvětlil až v roce 1955 Velluz (Wolf, 2004). Konečný, biologicky aktivní metabolit vitamínu D<sub>3</sub>, 1,25-dihydroxycholekalciiferol, byl izolován a identifikován v roce 1971 (Holick et al., 1971), v roce 1980 byl pak popsán přesný sled reakcí vedoucích k fotoprodukcii cholekalciiferolu v kůži (Wolf, 2004).



Hormonální aktivita vitamínu D ve spojitosti se zachováním kalciofosfátové homeostázy v kostech a krvi je dnes již dobře známa. V posledních letech však prošlo poznání o vitamínu D významnou změnou, jelikož se ukázalo, že jeho hormonálně aktivní metabolit 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25-(OH)<sub>2</sub>D; kalcitriol) hraje nejen významnou roli v regulaci vápníkového metabolismu, a zasahuje do regulace genové transkripce řady genů (Pike et al., 2016). Receptor pro vitamin D (VDR) je exprimován ve většině tkání, předpokládá se, že vitamin D může skrze tento receptor regulovat až 5% lidského genomu (Rejnmark et al., 2017). Proto je také vitamínu D věnovaná řada publikací a studií, které se zabývají asociací mezi nízkými hodnotami vitamínu D a chorobami jako jsou kardiovaskulární onemocnění, diabetes, nádory, obezita, infekce, neuropsychiatrická a autoimunitní onemocnění (Theodoratou et al., 2014; Rejnmark et al., 2017).

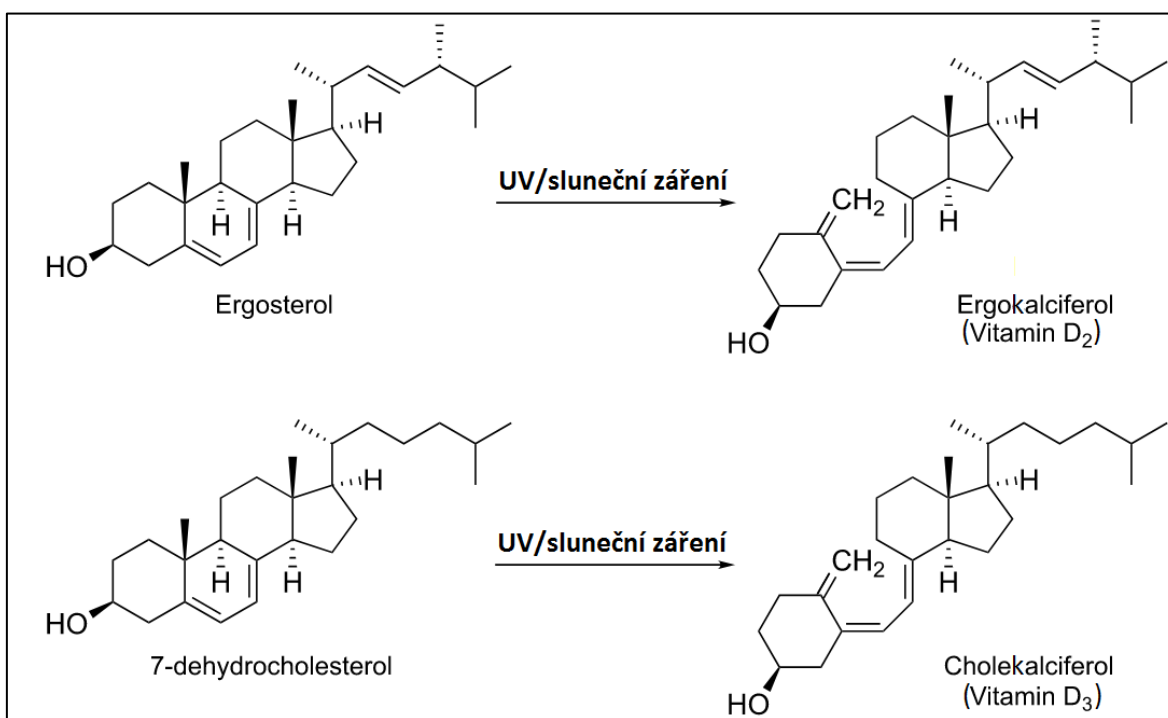
## 2 FYZIOLOGIE VITAMINU D

Pojmem vitamín D označujeme v tucích rozpustný prohormon steroidní povahy, který se vyskytuje v mírně strukturálně odlišných formách u rostlin, kvasinek i živočichů (Murray et al., 2002).

### 2.1 Základní formy vitamínu D

Existuje několik forem vitamínu D. Z provitaminu ergosterolu, vyskytujícího se v houbách a kvasinkách (Dohnal et al., 2008), vzniká působením ultrafialové složky slunečního záření vitamin D<sub>2</sub>, zatímco v kůži živočichů dochází po vystavení ultrafialovému záření ke vzniku vitamínu D<sub>3</sub> z provitaminu 7-dehydrocholesterolu (7-DHC), který je zde bohatě obsažen. Tyto dvě hlavní formy vitamínu D jsou odlišné jen ve složení postranního řetězce (viz Obrázek 1), kdy u ergosterolu je tento řetězec nenasycený a má o jednu vedlejší methylovou skupinu více (Murray et al., 2002).

**Obrázek 1** Fotolytická přeměna ergosterolu na ergokalciferol a 7-dehydrocholesterolu na cholekalciferol.



Zdroj: 'Vitamin D', 2019; upraveno

## 2.2 Transport a metabolická přeměna vitamínu D v organismu

Ať už se jedná o vitamín D přijatý potravou, vitamín D produkovaný v kůži, který volně difunduje do cirkulace přes stěny kapilár, nebo jejich metabolity, vzhledem k lipofilní povaze těchto steroidních látek musí být krví transportovány ve vazbě na specifický globulin, vitamín D vázající protein (VDBP) (Speeckaert et al., 2006).

### 2.2.1 Aktivace

Hlavním cílem vitamínu D v krevním oběhu jsou játra. Zde v endoplazmatickém retikulu dochází k jeho hydroxylaci na uhlíku 25 enzymem vitamín D 25-hydroxylázou. Po opětovné asociaci s VDBP je 25-hydroxyvitamín D (25-(OH)D) vyloučen zpět do oběhu, kde zaujímá největší zastoupení mezi všemi formami vitamínu D (Murray et al., 2002). Kromě jater však putuje vitamín D krevním oběhem i ke všem ostatním tkáním těla, přičemž o některých je známo, že taktéž obsahují enzym vitamín D 25-hydroxylázu, a tudíž vykazují autokrinní produkci 25-OHD. Hollis a Wagnerová (2013) přikládají tomuto podceňovanému a dosud nedostatečně prozkoumanému procesu vysokou významnost.

Důležitost vitamínu D v organismu spočívá především v jeho enzymatické přeměně na hormonálně aktivní 1,25-(OH)<sub>2</sub>D. Ke vzniku kalcitriolu dochází hydroxylací 25-OHD mitochondriálním enzymem 25-OHD 1-hydroxylázou, který se vyskytuje v ledvinných kanálcích (Murray et al., 2002). Produkce 1,25-OHD v ledvinách je spojena s řízením kalciofosfátového metabolismu a jeho efektu na tenké střevo. Mimo to se tato hydroxyláza vyskytuje prakticky ve všech ostatních tkáních kromě tenkého střeva. Lokální přeměna 25-OHD na 1,25-(OH)<sub>2</sub>D ve tkáních je zodpovědná za neskeletální efekty vitamínu D (Dirks et al., 2018).

### 2.2.2 Deaktivace

Pro zachování koncentrace hormonálně aktivního 1,25-(OH)<sub>2</sub>D v optimálním rozmezí, potřebném k udržení vápníkové homeostázy a rovnováhy kostního metabolismu, podstupuje 1,25-(OH)<sub>2</sub>D i jeho prekurzor 25-OHD v ledvinách hydroxylaci na uhlíku 24, čímž vznikají inaktivní formy se zanedbatelnou afinitou k VDBP (Dirks et al., 2018). 1,24,25-trihydroxyvitamín D a 24,25-dihydroxyvitamín D (24,25-(OH)<sub>2</sub>D) tedy představují počátek degradace molekuly vitamínu D v organismu.

Alternativní cestou deaktivace intermediárních metabolitů vitamínu D je tvorba jejich C-3 epimerů se sníženým účinkem, tedy změna orientace hydroxylové skupiny na

třetím uhlíku kruhu A z alfa polohy na beta polohu. Ačkoli zatím nebyl identifikován enzym zodpovědný za vznik C-3 epimerů vitamínu D, studie se shodují v tom, že produkce C-3 epimerů je nevratný proces (Bailey et al., 2013).

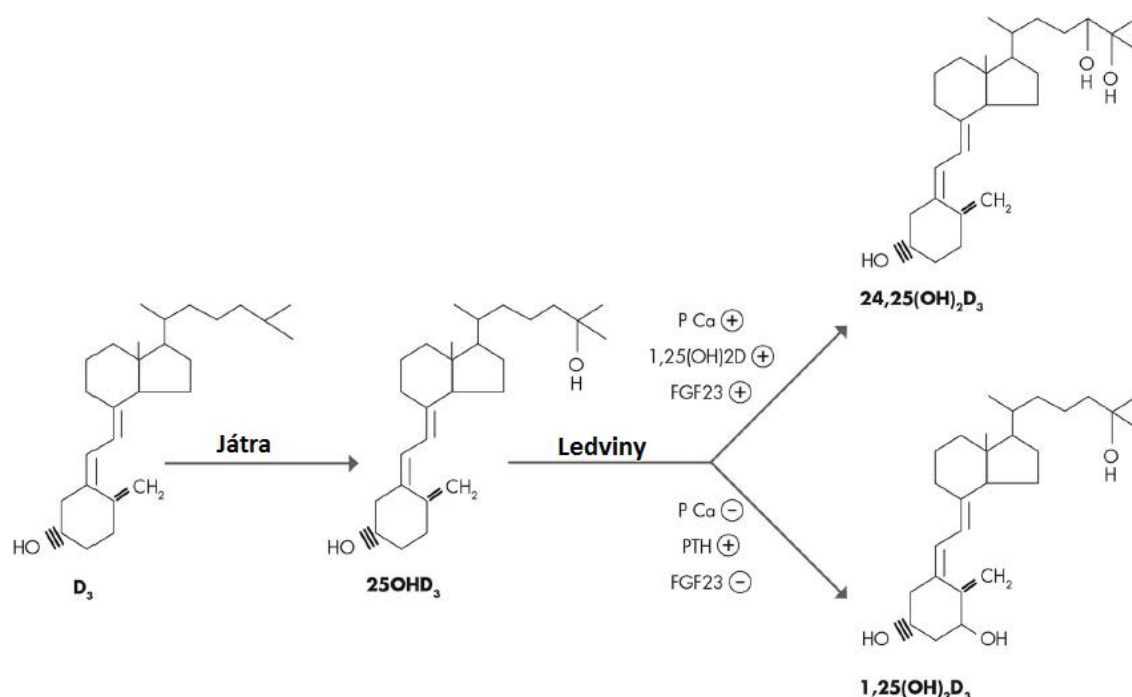
Degradace metabolitů vitamínu D pokračuje až po oxidaci na 24. uhlíku, vznikající ve vodě rozpustná kyselina kalcitriolová je následně vylučována (Reddy a Tserng, 1989).

### **2.2.3 Regulace metabolismu**

Metabolismus vitamínu D je úzce regulován, nejdůležitější je regulace kroků zprostředkovaných enzymy 1-hydroxylázou a 24-hydroxylázou, jejichž disbalance může být nebezpečná. Příliš vysoké nebo nízké koncentrace 1,25-(OH)<sub>2</sub>D vedou k hyperkalcémii, respektive hypokalcémii. Proto je snaha udržet koncentrace 1,25-(OH)<sub>2</sub>D v téměř ideálním rozmezí, ačkoli koncentrace 25-OHD v séru pacienta již mohou být nedostatečné. Parathormon (PTH) svým působením zvyšuje sérovou koncentraci 1,25-dihydroxyvitamínu D stimulací činnosti 1-hydroxylázy a inhibicí 24-hydroxylázy. Růstový faktor fibroblastů 23 (FGF23), produkovaný kostmi, naopak inhibuje 1-hydroxylázu a stimuluje 24-hydroxylázu, čímž stimuluje katabolismus vitamínu D. Zvýšená koncentrace vápníku potlačuje aktivitu 1-hydroxylázy jednak přímým působením, jednak regulací produkce PTH, což oboje vede k nižší koncentraci 1,25-(OH)<sub>2</sub>D. Nedostatek fosfátu vede k opačnému efektu, stimulací 1-hydroxylázy a inhibicí 24-hydroxylázy. 1,25-dihydroxyvitamin D pak ve zvýšené koncentraci sám potlačuje svou produkci 1-hydroxylázou a podporuje svou vlastní degradaci stimulací 24-hydroxylázy. V souvislosti s aktivací vitamínu D v buňkách mimo ledviny lze pozorovat odlišný mechanismus kontroly produkce 1,25-(OH)<sub>2</sub>D. Jelikož se v těchto buňkách nevyskytují receptory pro PTH, nejvýznamnějším regulačním faktorem je zde dostupnost 25-hydroxyvitamínu D (Dirks et al., 2018).

Souhrnné schéma metabolické aktivace a deaktivace vitamínu D a regulace těchto pochodů znázorňuje Obrázek 2.

**Obrázek 2** Syntéza metabolitů vitamínu D<sub>3</sub> včetně neaktivní formy, 24,25-dihydroxyvitamínu D (24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), a aktivní formy, 1,25-dihydroxyvitamínu D (1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>).



Tento proces probíhá na úrovni jater, ledvin a periferní tkáně, a je regulován zejména parathormonem (PTH), koncentrací 1,25-(OH)<sub>2</sub>D a růstovým faktorem fibroblastů 23 (FGF23). Sérové koncentrace vápníku a fosforu jsou taktéž významnými modulátory aktivity 1 $\alpha$ -hydroxylázy a 24,25-hydroxylázy svým vlivem na hladiny PTH a FGF23.

Zdroj: Rosen et al., 2012; upraveno

#### 2.2.4 Uložení do zásob

Ačkoli většina 25-hydroxyvitamínu D cirkuluje v krvi, studium vzorků lidské a zvířecí tkáně odhalilo, že tuková hmota je významným úložištěm vitamínu D v těle (Mawer et al., 1972; Didriksen et al., 2015). Novější studie obézní populace potvrdily souvislost mezi množstvím tukové hmoty v těle a sérovou koncentrací 25-hydroxyvitamínu D, přičemž nárůst indexu tělesné hmotnosti (BMI) byl spojen s poklesem sérové koncentrace 25-OHD (Dalle Carbonare et al., 2018). Celkové množství vitamínu D v organismu, a stejně tak i jeho metabolitů, je zřejmě v důsledku lipofilní charakteristiky těchto molekul z významné části ukládáno a zadržováno v tukové tkáni, což se projevuje zvýšenou potřebou příjmu vitamínu D u obézních lidí. Pokusy na krysách, kterým byl podáván vitamin D, dokázaly rychlé ukládání vitamínu D do tukové tkáně s následným uvolňováním do cirkulace v průběhu několika měsíců, uvolňování bylo pak urychleno při hladovění (Mallard et al., 2016). Výskyt

tohoto jevu, respektive využitelnost tukových zásob vitamínu D při sníženém příjmu u lidí však zatím není dostatečně prozkoumána.

## **2.3 Funkce v organismu**

Biologická aktivita vitamínu D, respektive jeho hormonálně aktivního metabolitu 1,25-(OH)<sub>2</sub>D, je zprostředkována vazbou na intracelulární receptor vitamínu D (VDR). Navázání vitamínu D způsobí změnu konformace VDR proteinu, který pak vytváří heterodimer s jiným jaderným receptorem, retinoidním X receptorem (RXR). Tento VDR/RXR heterodimer aktivuje transkripci cílového genu vazbou na tzv. elementy odpovídající vitamínu D (VDRE) v místě promotoru cílového genu. Jedná se o vysoce komplexní mechanismus, do kterého je zapojeno velké množství dalších koregulatorů (Christakos et al., 2016).

### **2.3.1 Klasické působení – skeletální**

Zásadní role vitamínu D spočívá v regulaci metabolismu vápníku a fosfátu, tedy v udržení kalciofosfátové homeostázy. Nejvíce vápníku v těle je uloženo v kostech, sloužíc jako hlavní složka dodávající pevnost a zároveň jako rezervní zásoba. Kostní metabolismus je tak pevně spjat s homeostázou vápníku, v případě nedostatečného příjmu vápníku z potravy dochází v zájmu zachování normokalcémie k jeho uvolňování z kostí působením zvýšených koncentrací 1,25-(OH)<sub>2</sub>D a PTH. Pokud je ale příjem vápníku ve stavu pozitivní bilance nebo rovnováhy, normální hladiny 1,25-(OH)<sub>2</sub>D podporují vstřebávání vápníku a fosfátů (a pravděpodobně i magnézia) ze střeva, což zajišťuje dostatečný přísun pro mineralizaci kostí (Christakos et al., 2016).

Vápník vstupuje do organismu prostřednictvím střevní stěny, kde je absorbován jak mechanismem transcelulárního (aktivního), tak paracelulárního (pasivního) transportu. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D podporuje aktivní transport, některé zvířecí studie prokázaly i pozitivní vliv 1,25-(OH)<sub>2</sub>D na paracelulární permeabilitu (Christakos et al., 2016).

Dalším mechanismem udržujícím kalciofosfátovou homeostázu, na který má vliv 1,25-dihydroxyvitamin D, je reabsorpce vápníku a fosfátu v ledvinných tubulech. Přibližně 65 % vápníku je z primární moči reabsorbováno pasivně v proximálních tubulech ledvin, aktivní resorpce v distálních tubulech je pozitivně regulována 1,25-(OH)<sub>2</sub>D a PTH. Proximální tubuly ledvin jsou taktéž hlavním místem aktivace vitamínu D a reabsorpce fosfátu, v těchto případech však 1,25-(OH)<sub>2</sub>D působí antagonisticky – inhibuje enzym 1-hydroxylázu a zvyšuje expresi FGF23 (Christakos et al., 2016).

V kostní tkáni podporuje 1,25-(OH)<sub>2</sub>D tvorbu osteokalcinu a působí anabolicky na osteoblasty, ale zároveň také stimuluje produkci RANKL (receptor aktivátoru jaderného faktoru kappa-B ligandu) v osteoprogenitorových buňkách, který stimuluje tvorbu osteoklastů (Christakos et al., 2016).

### **2.3.2 Neklasické působení – neskeletální**

Potvrzení přítomnosti VDR i ve většině neskeletálních tkání člověka (Skrobot et al., 2018) poukazuje na jeho širokou roli v lidském organismu. Významným neskeletálním efektem vitamínu D je jeho působení na imunitní systém. Již v době před objevením antibiotik byl pozorován pozitivní vliv slunečního ozařování ve vysokých nadmořských výškách na průběh onemocnění tuberkulózou (Rosen et al., 2012). Při rozvoji vrozené imunitní odpovědi na přítomnost patogenu dochází k aktivaci Toll-like receptorů (TLR), především na povrchu monocytů, makrofágů a dendritických buněk, což vede k produkci antimikrobiálních peptidů. Bylo prokázáno, že produkce jednoho z těchto peptidů, katelicidinu, účinného mimo jiné právě v boji proti původci tuberkulózy, je indukována endogenním 1,25-(OH)<sub>2</sub>D, vznikajícím z 25-OHD přímo v makrofázích (Bikle, 2009).

Funkce specifického imunitního systému spočívá ve schopnosti T a B lymfocytů reagovat na předložený antigen produkcí cytokinů a imunoglobulinů, působících proti zdroji tohoto antigenu. Bylo prokázáno inhibiční působení vitamínu D na specifický imunitní systém, přesněji že 1,25-(OH)<sub>2</sub>D potlačuje proliferaci B lymfocytů, a zpomaluje přeměnu B lymfocytů na plazmatické buňky, čímž omezuje produkci imunoglobulinů. Dále pak 1,25-(OH)<sub>2</sub>D podporuje vznik regulačních T lymfocytů a potlačuje produkci Th1 lymfocytů, schopných aktivace makrofágů a podpory další proliferace T lymfocytů, čímž posunuje rovnováhu ve prospěch Th2 lymfocytů (Bikle, 2009). Schopnost vitamínu D potlačovat imunitní reakci je výhodná zejména v případě výskytu autoimunitních onemocnění. Mnohé studie potvrzují pozitivní vliv substituce vitamínu D na průběh systémového lupus erythematoses a Crohnovy choroby, méně početné studie pak sledují vliv na průběh roztroušené sklerózy či revmatoidní artritidy (Dankers et al., 2017).

Studie vlivu 1,25-OHD a jeho analoga na rozvoj diabetu typu 1 (DM1) naznačují, že suplementace vitamínem D by mohla mít přínos pouze v časném stádiu nemoci, kdy ještě může protektivní působení vitamínu D proti ireverzibilní destrukci β buněk Langerhansových ostrůvků zabránit plnému rozvoji onemocnění (Dankers et al., 2017).

V souvislosti s diabetem byla též pozorována schopnost 1,25-(OH)<sub>2</sub>D stimulovat sekreci inzulínu, avšak mechanismus tohoto působení nebyl objasněn (Bikle, 2009).

Studie na zvířatech a lidských buňkách odhalily potenciální protirakovinné působení 1,25-(OH)<sub>2</sub>D, spočívající v antiproliferativním a antidiferenčním působení vitamínu D na většinu typů buněk, krom jiného stimulací produkce inhibitorů buněčného cyklu. V keratinocytech byl pozorován pozitivní vliv 1,25-(OH)<sub>2</sub>D na reparaci DNA (deoxyribonukleové kyseliny) poškozené působením ultrafialového záření (Bikle, 2009).

Ve svalové tkáni podporuje 1,25-(OH)<sub>2</sub>D tvorbu a diferenciaci svalových vláken i intracelulární homeostázu vápníku, čímž zvyšuje svalovou sílu (Holick et al., 2011).

Nedávné studie pak poukazují na další vlivy vitamínu D na lidský organismus. Ku příkladu byla pozorována inverzní souvislost sérové koncentrace vitamínu D s výskytem depresí u žen před porodem a po porodu (Trujillo et al., 2018), nebo pozitivní vliv vitamínu D na mužskou plodnost (de Angelis et al., 2017).

### 2.3.3 Hypovitaminóza D

Deficit vitamínu D v organismu je v současné době definován jako sérová koncentrace 25-OHD nižší než 50 nmol/L (Pilz et al., 2019). Tato hranice je přijímána i několika evropskými společnostmi, včetně Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA). Univerzální shoda pak panuje v názoru, že sérová koncentrace 25-OHD nižší než 25-30 nmol/l je nežádoucí, jelikož při tak výrazném deficitu se významně zvyšuje riziko výskytu křivice a osteomalacie (Cashman et al., 2017; Pilz et al., 2019). V současné době je rozšířen konsensus doporučující u starší populace se zvýšeným rizikem zlomenin a pádů cílové hladiny koncentrací 25-OHD přesahující 75 nmol/l, a alespoň 50 nmol/l pak pro ostatní dospělou populaci (Dalle Carbonare et al., 2017). Klasifikace stavu zásobení organismu vitamínem D podle příručky vydané Endocrine Society zobrazuje Tabulka 1, ale některá doporučení jsou o něco mírnější (Lips et al., 2019).

**Tabulka 1 Klasifikace stavu zásobení organismu vitamínem D dle Endocrine Society**

Klasifikace stavu zásobení vitamínem D	Sérová koncentrace 25-OH D [nmol/l]
Vážný deficit	0,0 – 25,0
Deficit	25,1 – 50,0
Nedostatek	50,1 – 74,9
Dostatek	75,0 – 250,0
Nadbytek (toxicita)	> 250,0

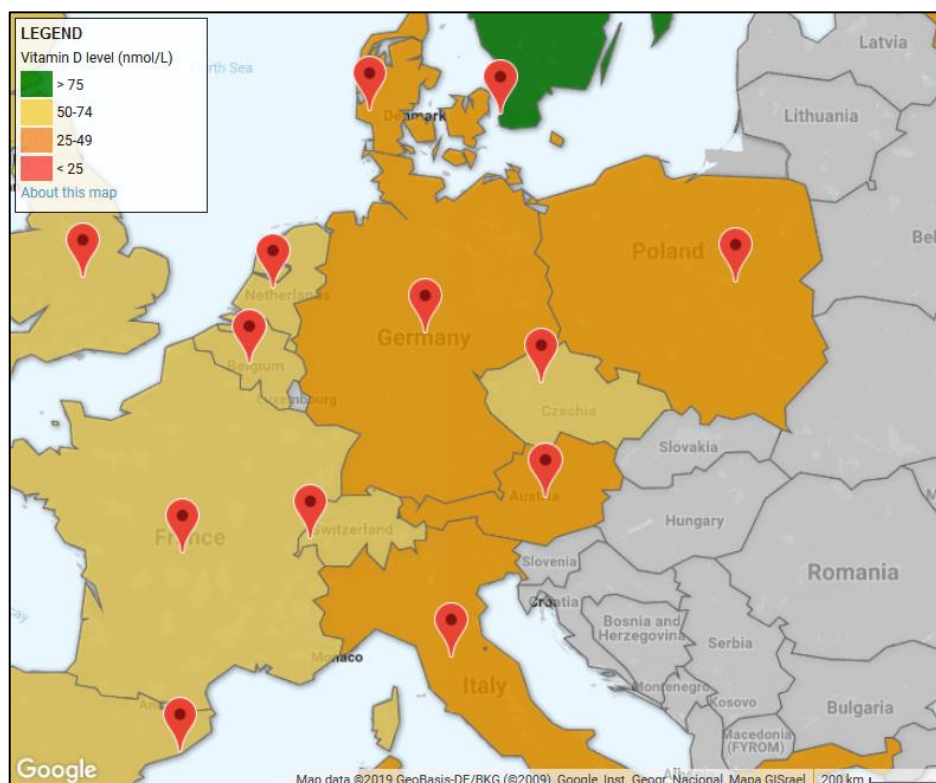
Zdroj: vlastní zpracování dle Holick et al., 2011



### 2.3.3.1 Prevalence

V návaznosti na zmíněnou klasifikaci Holick et al. (2011) odhadují, že deficitem vitamínu D trpí 20-100 % populace seniorů v USA, Kanadě a Evropě. Interaktivní mapa Mezinárodní nadace pro osteoporózu (IOF; viz Obrázek 3) naznačuje relativně lepší stav zásob vitamínu D pacientů České republiky v porovnání s okolními státy, výpovědní hodnota je však významně snížena kvůli použití výsledků jediné studie české populace, která nebyla zaměřena přímo na studium vitamínu D a navíc disponovala jen malým vzorkem pacientů (47 žen po menopauze). Naopak data sousedních států, pocházející z rozsáhlejších studií (4784 pacientů z pěti studií v Německu, 1167 pacientů dvou studií v Rakousku a 339 pacientů dvou polských studií), informují o převládajícím deficitu vitamínu D v těchto zemích (např. v Polsku až 83,2 % hodnot 25-OHD pod 50 nmol/l). Ačkoli pro zhodnocení celosvětového stavu zásobení vitamínem D není dostatek reprezentativních a koherentních informací, dostupná data naznačují převahu insuficience a deficitu vitamínu D (Wahl et al., 2012).

**Obrázek 3** Mapa stavu zásobení vitamínem D v Evropě



Zobrazení stavu zásobení organismu dospělých pacientů vitamínem D (Vitamin D level) v zimním období, barevně rozlišené do kategorií na základě váženého průměru výsledků hodnot 25-OHD studií v těch státech Evropy, kde byla dostupná data (s vyznačením poloh hlavních měst těchto států).

Zdroj: International Osteoporosis Foundation, 2017 (dle Wahl et al., 2012)

## 2.4 Zdroje vitamínu D

### 2.4.1 Sluneční záření

Hlavním zdrojem vitamínu D pro živočichy jsou paprsky ultrafialového záření o vlnových délkách 280-315 nm (UVB), pocházející především ze slunce. Jejich působením dochází k fotolýze 7-dehydrocholesterolu v plazmatické membráně buněk epidermis, přesněji k rozštěpení B jádra struktury, čímž vzniká previtamin D<sub>3</sub>. Previtamin D<sub>3</sub> je pak vlivem tepla izomerizován na vitamin D<sub>3</sub>, cholekalciferol (Holick et al., 2007).

Dospělý člověk v plavkách je schopen při celotělovém vystavení UV záření o tzv. minimální erythemální dávce (MED – dávka způsobující mírné zrudnutí kůže za 24 h po opalování) vyprodukovat množství vitamínu D ekvivalentní perorálnímu příjmu 10 000-25 000 IU (mezinárodních jednotek) vitamínu D. Schopnost kůže produkovat vitamin D je však ovlivněna mnoha faktory, například pigmentací kůže, použitím opalovacího krému nebo kombinací zeměpisné šířky, ročního období a denní doby (např. v polohách nad a pod 33° v zimě neprochází atmosférou téměř žádné UVB záření) (Holick et al., 2011). S přibývajícím věkem navíc klesá množství 7-DHC v epidermis, což je také jednou z možných příčin snížené produkce vitamínu D (MacLaughlin a Holick, 1985). Příručka Polské společnosti pro pediatrickou endokrinologii a diabetologii (Rusińska et al., 2018) uvádí, že v centrální Evropě je produkce vitamínu D v kůži efektivní pouze od května do září, a to mezi 10. a 15. hodinou, kdy stačí expozice alespoň 18 % povrchu těla (tj. obnažená předloktí a dolní končetiny) na přibližně 15 minut k obdržení poloviny MED, což může vést k syntéze vitamínu D v množství ekvivalentním konzumaci 2000-4000 IU.

### 2.4.2 Potrava

Dalším možným zdrojem vitamínu D je pro živočichy potrava. Ergosterol, vyskytující se v buněčných membránách hub (Dohnal et al., 2008), prochází při ozáření UV paprsky také fotolýzou B jádra, čímž dochází ke vzniku ergokalciferolu, vitamínu D<sub>2</sub>, vstřebatelného stěnou tenkého střeva. Tímto způsobem lze přijmout i vitamin D<sub>3</sub> (Murray et al., 2002) a jeho hydroxylované metabolity (Nechama et al., 1977). Ve střevě je vitamin D pravděpodobně absorbován nejen pasivní difuzí, ale i mechanismem zapojujícím membránové přenašeče, především transportéry cholesterolu. Některé výzkumy naznačují, že při požití vitamínu D společně s tuky se za účasti žlučových kyselin zlepšuje absorpce vitamínu D (Silva a Furlanetto, 2017).

Bohužel jen několik potravin přirozeně obsahuje vitamin D<sub>2</sub> nebo D<sub>3</sub>, a to většinou v malém množství – kromě hub například mořské ryby (losos, tuňák, či již dříve zmíněný olej z tresčích jater, který obsahuje 400-1000 IU vitaminu D v jedné lžičce) nebo vaječný žloutek. Některé státy proto přistupují k plošné fortifikaci potravin vitaminem D. V Kanadě a USA je vitamin D uměle přidáván do mléka a některých sýrů, jogurtů a pomerančových džusů. Většina evropských zemí naproti tomu na svém území fortifikaci potravin vitaminem D nepovoluje v reakci na významný nárůst intoxikací dětí vitaminem D z potravy v 50. letech 20. století. Výjimkou jsou například Švédsko a Finsko, kde je také přidáván vitamin D do mléka (Holick et al., 2011).

### **2.4.3 Léčivé přípravky**

Jelikož je endogenní produkce i příjem vitaminu D v potravě často nedostatečný, je zapotřebí mít na paměti možnost substituční terapie vitaminem D ve formě léčivého přípravku. S ohledem na nesourodost současných obecných zásad a doporučení nadnárodních autorit a mezinárodních vědeckých společností, zabývajících se otázkou substituce vitaminu D, Pilz a kolektiv ve svém nejnovějším přehledovém článku z počátku roku 2019 v tomto směru uvádějí, že suplementace vitaminu D je vhodná u osteoporotických pacientů a u pacientů s naměřenou sérovou koncentrací 25-OHD pod 50 nmol/l. Jelikož by novorozenci neměli být vystavováni přímému slunečnímu záření, v důsledku čehož nejsou schopni adekvátní produkce vitaminu D v kůži, a také proto, že mateřské mléko neobsahuje dostatečné množství vitaminu D, zdravotnické organizace se shodují v doporučení podávat dětem v průběhu prvního roku života preventivně 400 IU vitaminu D denně (Dalle Carbonare et al., 2017). Ve studiích, kdy byly pacientům podávány denní dávky vitaminu D podle doporučení autorit zabývajících se veřejným zdravím (15 µg, 600 IU), cholekalciferol efektivněji zvyšoval sérové koncentrace 25-OHD než ergokalciferol. Vitamin D<sub>3</sub> se tak jeví být výhodnější formou pro substituci vitaminu D v populaci (Tripkovic et al., 2017).

#### **2.4.3.1 Typy přípravků**

V současné době je na trhu řada potravinových doplňků, obsahujících vitamin D v dávkách od 200 do 1000 IU (100 IU = 2,5 µg; 1 µg = 40 IU), ať v denním či týdenním dávkování, často kombinovaný s vápníkem či vitaminem K. Zcela výjimečně existují i preparáty s vyšším obsahem vitaminu D, až např. 50 000 IU, které jsou určeny k dávkování 1x za měsíc a déle, a u kterých je třeba dbát zvýšené opatrnosti, neboť při denním užívání mohou snadno vést k předávkování vitaminem D.

Jediným registrovaným a dostupným léčivým přípravkem v České republice je cholekalciferol v kapkách pod názvem Vigantol, kde jedna kapka obsahuje 500 IU cholekalciferolu. Kombinované přípravky vápníku a vitamínu D, popřípadě s vitamínem K2 jsou významně efektivnější ve snížení rizika zlomenin u starších lidí oproti podávání samotného vitamínu D (Smith a Gallagher, 2017). V České republice jsou pak registrovány i přípravky obsahující aktivní formu vitamínu D, 1,25-dihydroxyvitamin D či jeho nefyziologický prekurzor 1- $\alpha$ -hydroxycholecalciferol, a dále různé analogy vitamínu D, a to jak přírodní, tak syntetické, které mohou disponovat lepšími terapeutickými vlastnostmi než jejich fyziologické předlohy (Caccamo et al., 2018).

#### **2.4.3.2 Dávkování**

K dosažení ideálního dávkovacího režimu při substituci vitamínu D existuje několik možných přístupů, přičemž doporučení mezinárodních organizací, zabývajících se touto otázkou, se shodují v potřebě odlišit doporučení pro děti, adolescenty, dospělé a starší populaci. Denní dávkování vitamínu D je pokládáno za režim nejbližší napodobující fyziologickou produkci vitamínu D. Bohužel, udržení dlouhodobé adherence ke každodenní aplikaci vitamínu D je v klinické praxi často obtížné, především pak u dětí a starší populace. Podávání vyšších dávek vitamínu D v delších časových intervalech (týdny, měsíce) proto přináší větší šanci na zvýšení compliance k léčbě a dosažení vyšší průměrné hodnoty 25-OHD v séru. Studie naznačují, že u dětí lze s výhodou využít měsíční podávání vysokých dávek vitamínu D, na rozdíl od dospělých a především starších lidí, kde se tento přístup jeví neefektivní, či dokonce může vést ke zvýšení výskytu zlomenin (Dalle Carbonare et al., 2017).

Doporučení týkající se výše dávek vhodných k substituci vitamínu D nejsou konzistentní. Pro dosažení protektivního účinku vitamínu D na kosti je podle EFSA optimální sérová koncentrace celkového 25-OHD rovna 50 nmol/l. K udržení této hladiny by měl být podle EFSA denní příjem vitamínu D do jednoho roku života 10  $\mu$ g/den (400 IU), ve vyšším věku pak 15  $\mu$ g/den (600 IU). V případě managementu léčby osteoporotických pacientů pak lze doporučit dávku 20  $\mu$ g (800 IU) vitamínu D na den (Pilz et al., 2019).

Endocrine Society v Doporučení pro klinickou praxi pak oproti ostatním vědeckým skupinám zvláště vymezuje skupinu pacientů ohrožených nedostatkem vitamínu D, u nichž doporučuje v případě naměření koncentrace 25-hydroxyvitamínu D pod 50 nmol/l

suplementovat vitamin D takovými dávkami, aby bylo dosaženo sérové koncentrace 25-OHD alespoň 75 nmol/l. Přesněji by takto ohrožení dospělí měli být léčeni týdenními dávkami 1250 µg (50,000 IU), případně denními dávkami 150 µg (6000 IU) vitaminu D, po dobu osmi týdnů s následným udržovacím režimem 37.5–50 µg (1500–2000 IU) vitaminu D denně (Holick et al., 2011). U obézních pacientů, pacientů s malabsorpčními syndromy a pacientů užívajících léčiva snižující účinek suplementace vitaminu D se pak předpokládá potřeba dávku vitaminu D ještě dvakrát až třikrát navýšit (Pilz et al., 2019).

### 2.4.3.3 Toxicita

Z klinického hlediska je intoxikace vitaminem D charakterizována hyperkalcémií, která je však v souvislosti s předávkováním vitaminem D velice vzácná, neboť riziko intoxikace významně stoupá až s koncentracemi 25-OHD překračujícími 375 nmol/l (Pilz et al., 2019). Hlavní zdravotnické agentury proto vydaly doporučení pojednávající o nejvyšších přípustných příjmech vitaminu D, příkladem je uvedena Tabulka 2 dle doporučení EFSA (Pilz et al., 2019).

**Tabulka 2 Nejvyšší přípustné denní příjmy vitaminu D jednotlivých věkových skupin podle doporučení Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA)**

Věková skupina	0-6 měsíců	6-12 měsíců	1-10 let	11 a více let	Těhotenství, Laktace
Maximální příjem vitaminu D za den [µg (IU)]	25 (1000)	35 (1400)	50 (2000)	100 (4000)	100 (4000)

Zdroj: vlastní zpracování dle Pilz et al., 2019

## 2.5 Analyticky významné formy vitaminu D

Ergokalciferol a cholekalciferol (označované souhrnně jako vitamin D) jsou biologicky inaktivní, jsou velice rychle metabolizovány na své 25-hydroxylované metabolity, nebo ukládány do tukové tkáně. Sérové hladiny těchto forem vitaminu D tak silně kolísají. Není proto klinicky významné je stanovovat (Galior et al., 2018).

Nejvýznamnější a nejvíce zastoupenou formou vitaminu D v cirkulaci je 25-hydroxyvitamin D (Murray et al., 2002). Stanovení jeho sérové koncentrace je dnes rutinně využíváno při hodnocení stavu vitaminu D v organismu. Je zároveň dobrým ukazatelem dietního příjmu i endogenní produkce vitaminu D v organismu (Cashman et al.,

2017). Biologický poločas 25-OHD je přibližně 2-3 týdny (Holick, 2009). Jeho transformací vzniká buď hormonálně aktivní 1,25-dihydroxyvitamin D, nebo inaktivní metabolit 24,25-dihydroxyvitamin D. Ve vodném prostředí krve je hydrofobní 25-OHD transportován z většiny ve vazbě na specifický transportér, vitamin D vázající protein (VDBP), menší množství je navázáno na albumin (přibližně 10 %). Pouze méně než 0,1 % celkového cirkulujícího 25-hydroxyvitaminu D tvoří volnou frakci, která je biologicky dostupná (Chun et al., 2014). V současnosti rutinně používané metody stanovují pouze celkovou koncentraci 25-OHD v séru nebo plazmě, proto změny v koncentraci VDBP či albuminu významně ovlivní naměřenou koncentraci vitaminu D. (Tsuprykov et al., 2018). Při poruchách jaterní funkce dochází k omezení syntézy VDBP a albuminu, což vede ke snížení koncentrace celkového 25-OHD v séru (Bikle et al., 1986). Fyziologicky dochází k filtraci komplexů vitamin D-VDBP a vitamin D-albumin skrz glomeruly do moči, a v proximálních tubulech ledvin jsou zpětně vychytávány transmembránovým transportním systémem megalin/kubilin. Onemocnění ledvin s poškozením tubulů jsou proto také spojena se sníženou celkovou sérovou koncentrací 25-hydroxyvitaminu D v důsledku ztrát těchto komplexů močí (Tsuprykov et al., 2018). V těhotenství pak dochází k opačným projevům – jelikož zvýšená produkce pohlavních hormonů zvyšuje koncentraci VDBP, zvýší se i měřený celkový 25-hydroxyvitamin D (Bikle et al., 1984). Na celkovou koncentraci 25-OHD má vliv nejen množství VDBP v krvi, ale také různá míra jeho schopnosti vázat vitamin D, způsobená odlišnostmi v genotypu. Byla prokázána souvislost mezi přítomností odlišných izoform VDBP a sérovou koncentrací 25-OHD, kostní densitou a lomivostí kostí u dětí a adolescentů (Pekkinen et al., 2014). Podle recentních studií však koncentrace volné frakce zůstává v těchto pozměněných stavech organismu v podstatě neměnná, lépe koreluje s kostní densitou a přesněji vypovídá o příjmu a stavu zásob vitaminu D v organismu, než celková sérová koncentrace 25-OHD. Ideálním přístupem k hodnocení skutečného stavu vitaminu D v organismu se tedy jeví být hodnocení koncentrací volné frakce i celkového 25-OHD zároveň (Johnsen et al., 2014; Tsuprykov et al., 2018).

Hormonálně aktivní je molekula 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Poločas tohoto metabolitu v cirkulaci je však pouze 4-6 hodin, jeho sérové koncentrace jsou tisíckrát nižší než u prekurzoru a jsou navíc velmi úzce regulovány, což činí stanovení koncentrace 1,25(OH)<sub>2</sub>D pro tento účel nevhodným. Může však napomoci k diferenciální diagnostice některých získaných či vrozených poruch vápníkového metabolismu, při nichž dochází ke změně produkce 1,25(OH)<sub>2</sub>D (Holick, 2009).

24,25-(OH)<sub>2</sub>D je hormonálně neaktivní metabolit, který vzniká z 25-OHD. Biologický poločas tohoto metabolitu v organismu je přibližně 7 dní (El-Khoury et al., 2011). Jeho stanovení se využívá v diferenciální diagnostice vzácných forem hyperkalcémie (Kaufmann et al., 2014).

Ze všech významných metabolitů vitamínu D mohou změnou konfigurace na 3. uhlíku vznikat tzv. C-3 epimery, které mohou být i nadále metabolizovány stejnou cestou, jako jejich původní formy (Kamao et al., 2004). Klinický význam C-3 epimerizace tkví především ve snížení fyziologické funkce epimerizovaných metabolitů vitamínu D, epimerizací 1,25-(OH)<sub>2</sub>D totiž dochází k omezení či úplnému vymizení některých jeho skeletálních a extraskeletálních efektů (Bailey et al., 2013). U dospělých a adolescentů byla zjištěna sérová koncentrace 3-epi-25-hydroxyvitamínu D v průměru 8,25 nmol/l a je klinicky nevýznamná. Existence C-3 epimerů metabolitů vitamínu D je ale významná v séru novorozenců, kde v prvních 12 měsících života mohou představovat až 30% celkové hodnoty 25-OHD (Strathmann et al., 2012). Protože většina v současnosti rutinně využívaných metod analýzy 25-OHD není schopna odlišit zkříženou reaktivitu s ostatními metabolity vitamínu D (Bailey et al., 2013), i v důsledku interferencí s C-3 epimery tak může dojít k nesprávnému zhodnocení stavu vitamínu D v organismu (Strathmann et al., 2012).

Díky rostoucí dostupnosti nových analytických metod a pokrokům v poznání enzymů metabolizujících vitamin D dnes víme o existenci velkého množství dalších metabolitů, z nich některé byly již kvantifikované v lidském séru a jejich klinický význam není dosud zřejmý (Tuckey et al., 2019).

### **3 METODY STANOVENÍ VITAMINU D**

S rozvojem poznání v oblasti patofyziologie vitamínu D pozorují klinické laboratoře v posledních letech nárůst požadavků na vyšetření sérové hladiny tohoto vitamínu. V současnosti je za analyt podávající nejlepší informaci o stavu vitamínu D v organismu považován 25-hydroxyvitamin D. Jeho celková sérová koncentrace je v dnešní době rutinně stanovována především metodami automatizované imunoanalýzy nebo kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) (Galior et al., 2018).

#### **3.1 Imunochemické metody**

První metody automatizované imunoanalýzy pro stanovení 25-hydroxyvitamínu D se v klinické praxi začaly používat v roce 2001. Většina významných diagnostických společností přišla se svou vlastní metodou, avšak téměř všechny tyto metody využívají principu kompetitivní imunochemické reakce, přesněji chemiluminiscenční imunoanalýzy (CLIA) (Herrmann et al., 2016). Díky tomu spolu tyto metody sdílejí i nepřesnosti stanovení koncentrace 25-OHD, vyplývající z nedostatečné specifity imunochemické reakce. Výsledky analýzy mohou být falešně zvýšeny i sníženy v důsledku zkřížené reaktivity s ostatními metabolity vitamínu D zejména v horních a spodních koncích rozsahu měření, kdy je znalost přesné koncentrace nejdůležitější pro správnou diagnostiku hypovitaminózy D či intoxikace vitamínem D. Další nepřesnosti výsledků automatizované imunoanalýzy mohou plynout například z rozdílných standardizačních postupů jednotlivých výrobců, z rozdílů v zastoupení ostatních komponent séra jednotlivých populačních skupin (např. zdraví lidé, dialyzovaní pacienti, těhotné ženy) (Herrmann et al., 2016), nebo z nedostatečné efektivity reakce uvolňující 25-OHD z vazby na VDBP před samotnou imunochemickou reakcí (Tolan et al., 2018). Navzdory tomu je v současné době naprostá většina rutinních stanovení celkové sérové koncentrace 25-hydroxyvitamínu D prováděna s použitím automatizovaných imunochemických metod, především pro jejich vysokou výkonnost a automatickou manipulaci se vzorkem, díky čemuž jsou klinické laboratoře schopny uspokojit rostoucí poptávku po stanovení vitamínu D s minimálními nároky na personál (Galior et al., 2018).

Základním požadavkem pro použitelnost metody je schopnost ekvimolárního stanovení 25-hydroxyvitamínu D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub>, a dodržování pravidel stanovených ve standardizačním programu.



### **3.2 Chromatografické metody**

Stanovení koncentrace vitamínu D metodami LC-MS/MS nabízí ve srovnání s imunochemickými metodami vyšší přesnost, specifitu a senzitivitu. Díky schopnosti zároveň přesně stanovit koncentraci 25-hydroxymetabolitů vitamínu D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub> ve vzorku je od roku 2011 LC-MS/MS považována za tzv. metodu zlatého standardu, tedy referenční metodu pro stanovení celkové sérové koncentrace 25-hydroxyvitamínu D (Tai et al., 2010). Metodami LC-MS/MS analýzy je možné kvantifikovat i ostatní klinicky významné metabolity vitamínu D, jako jsou 1,25-dihydroxyvitamin D, 24,25-dihydroxyvitamin D, případně jejich C-3 epimery (Galior et al., 2018). Nevýhodou LC-MS/MS stanovení je ale vysoká pořizovací cena přístroje, což jej činí nedostupným pro většinu klinických laboratoří (Kocak et al., 2015). V porovnání s automatizovanou imunochemickou analýzou navíc stanovení metodou LC-MS/MS trvá poměrně delší dobu a je náročnější na manuální práci se vzorkem, proto zatím nedošlo k většímu rozšíření této metody pro rutinní využití v klinických laboratořích (Galior et al., 2018).

### **3.3 Standardizační program**

Jelikož zhodnocení stavu vitamínu D v organismu je založeno na stanovení hladiny 25-hydroxyvitamínu D a jejím srovnání s konkrétním referenčním rozmezím, je za potřebí provádět standardizaci metod používaných k tomuto stanovení. S cílem dosažení srovnatelnosti výsledků různých metod od různých výrobců byl v roce 2010 založen Vitamin D standardizační program (VDSP), na němž se v současnosti podílí přes 16 univerzit a národních i nadnárodních organizací z celého světa, v čele s americkým Národním institutem zdraví (NIH) (Herrmann et al., 2016). V rámci tohoto programu byly vyvinuty postupy nejen pro standardizaci metod současně užívaných ke stanovení vitamínu D, ale i pro standardizaci již existujících hodnot získaných při dřívějších studiích (Cashman et al., 2017).

# **PRAKTICKÁ ČÁST**

## **4 CÍL PRÁCE**

Cílem této bakalářské práce bylo zhodnotit možný vliv věku, pohlaví, ročního období a substituce vitamínem D na výskyt hypovitaminózy D v populaci pacientů osteologické ambulance v klatovském regionu.

## **5 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY (OTÁZKY)**

Pro zpracování této bakalářské práce byly formulovány následující výzkumné problémy, otázky (VP):

- VP 1: Liší se věk pacientů podle toho, zda užívali či neužívali vitamin D v době odběru?
- VP 2: Sérové hodnoty 25-hydroxyvitaminu D se liší v závislosti na pohlaví pacientů.
- VP 3: Existuje souvislost mezi sérovou hodnotou 25-hydroxyvitaminu D a užíváním vitaminu D ve formě léčivého přípravku v době odběru.
- VP 4: Existuje souvislost mezi sérovými hodnotami 25-hydroxyvitaminu D a věkem pacientů v době odběru.
- VP 5: Existuje souvislost mezi ročním obdobím v době odběru a sérovou hodnotou 25-hydroxyvitaminu D u pacientů neužívajících vitamin D.
- VP 6: Jaká je četnost nedostatečného a dostatečného zásobení vitamínem D dle věku, s ohledem na období odběru a užívání či neužívání substituce?

## 6 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Byla provedena retrospektivní analýza výsledků laboratorních stanovení sérových hodnot 25-OHD ze všech prvních (vstupních) odběrů pacientů osteologické ambulance Klatovské nemocnice, a.s., kteří byli v době odběru starší než 45 let, výběr datového souboru tedy nebyl optimální pro případnou aplikaci závěrů na celou populaci České republiky. Analyzovaná data byla shromážděna v období od 1. 7. 2009 do 31. 3. 2018.

Ze souboru byly vyřazeny výsledky pacientů užívajících přípravek Alpha D3 (analog vitamínu D nestanovitelný použitou metodou) a výsledky pacientů bez dohledatelné informace o užívání léčivých přípravků s obsahem vitamínu D.

Pro statistické zpracování byl tímto postupem získán základní soubor záznamů o substituci vitamínem D, pohlaví, věku, datu odběru, a sérové koncentraci 25-OHD, čítající 7500 pacientů.

Rozdělení databáze na skupiny nesubstituovaných a substituovaných pacientů bylo provedeno na základě zjištěného neužívání nebo užívání denního příjmu nejméně 200 IU vitamínu D ve formě léčivého přípravku, například Vigantol, Calcichew D3, Caltrate, Fosavance, Kombi-Kalz, nebo jejich kombinace, v době odběru vzorku. Většina pacientů tak užívala mezi 200 až 400 IU vitamínu D denně.

Pro další statistické zpracování byla všechna získaná data anonymizována.

## 7 METODIKA PRÁCE

### 7.1 Metoda stanovení vitamínu D

K laboratornímu stanovení celkového 25-OHD byl použit analyzátor LIAISON<sup>®</sup> XL a souprava reagensů LIAISON<sup>®</sup> 25 OH Vitamin D TOTAL Assay společnosti DiaSorin.

Jedná se o metodu přímé kompetitivní CLIA pro kvantitativní stanovení celkového 25-OHD v séru. V průběhu první inkubace je 25-OHD uvolněn ze své vazebné bílkoviny a váže se na specifickou protilátku na pevné fázi. Po 10 minutách je přidán značený vitamin D (navázaným derivátem isoluminolu). Po další desetiminutové inkubaci je nenavázaný materiál odstraněn v promývacím cyklu. Následně je přidáno startovací činidlo, čímž se odstartuje záblesková chemiluminiscenční reakce. Světelný signál, měřený fotonásobičem, je nepřímě úměrný koncentraci 25-OHD v měřeném roztoku (DiaSorin, 2016).

Rozsah měření použitou soupravou je 10,0 až 375 nmol/l, hodnoty nižší než 10 nmol/l jsou uváděny jako < 10 nmol/l, pro stanovení hodnot vyšších než 375 nmol/l je prováděno ředění vzorku (DiaSorin, 2016).

Protilátka použitá v tomto testu vykazuje zkříženou reaktivitu vůči mnoha dihydroxylovaným metabolitům vitamínu D (DiaSorin, 2016). Zkřížené reaktivity testovaných steroidních látek, normalizované na 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>, přehledně zobrazuje Tabulka 3. V případě stanovení 25-hydroxyvitamínu D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub> je tato reaktivita žádoucí a optimální, u ostatních testovaných látek je klinicky nevýznamná.

**Tabulka 3 Zkřížené reaktivity testovaných steroidních látek normalizované na 25-OHD<sub>3</sub>**

testovaná látka	25-OHD <sub>2</sub>	25-OHD <sub>3</sub>	Vitamin D <sub>2</sub>	Vitamin D <sub>3</sub>	1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	3-epi-25-OHD <sub>3</sub>
zkřížená reaktivita	100,0%	100,0%	1,9%	1,9%	6,7%	9,3%	1,3%

Zdroj: příbalová informace DiaSorin, 2016

V průběhu sledovaného období nedošlo ke změně používané analytické metody.

## 7.2 Statistická analýza

Retrospektivní analýza byla provedena exportem výsledků stanovení sérových hodnot 25-OHD z období od 1.7.2009 do 31.3.2018 z laboratorní databáze s využitím software Envis® LIMS (DS Soft, 2019) do tabulky programu Microsoft Excel (Microsoft, 2016). Do tabulky byly následně doplněny informace o neužívání, případně užívaném druhu a dávkování léčivých přípravků s obsahem vitamínu D k datu odběru, získané vyhledáváním anamnézy užívaných léčivých přípravků ve zdravotnické dokumentaci osteologické ambulance s využitím software FONS Akord (STAPRO, 2019).

Statistická analýza byla provedena s užitím programu SAS (SAS Institute, 2017). Grafy byly zpracovány pomocí programu STATISTICA (StatSoft, 2018) a programu Microsoft Excel. Program STATISTICA nenabízí českou mutaci textu, proto byly grafy vytvořené prostřednictvím tohoto programu publikovány v originálním znění a v popisku vždy přehledně popsány.

Pro měřené parametry v celém souboru a v jednotlivých skupinách a podskupinách byly počítány základní statistické údaje jako průměr, směrodatná odchylka, rozptyl, medián, mezikvartilové rozpětí, minimum, maximum. Vybrané statistické údaje byly též zpracovány graficky do tzv. Box & Whisker plot grafů, Koláčových grafů nebo Histogramů. Normalita dat byla testována pomocí Kolmogorov-Smirnov testu.

Rozdíl kategorických proměnných mezi zkoumanými skupinami byl testován pomocí Chi-square testu. Rozdíl spojitých proměnných mezi zkoumanými skupinami byl vzhledem k vyššímu počtu testovaných skupin testován pomocí Kruskal-Wallis testu. Vzhledem k povaze dat bohužel nebylo možno pro srovnání vývoje vitamínu D v čase užít repeated analýzu rozptylu nebo párové testy. Testy ekvivalence četností a průměrů mezi zkoumanými skupinami byly testovány pomocí TOST (Two One Sided Tests). Pro zjištění závislosti zkoumaných znaků, vzhledem k negausovskému rozdělení těchto proměnných, byl použit Spearmanův koeficient korelace. Vybrané vztahy byly popsány pomocí lineární regrese.

Statistická významnost byla stanovena na hranici  $\alpha = 5 \%$ .

## 8 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

### 8.1 Základní statistická deskripce souboru

Pro statistické zpracování byl získán základní soubor dat čítající 7500 pacientů, z čehož bylo 6545 žen a 955 mužů. Základní soubor byl rozdělen do skupin na pacienty nesubstituované vitaminem D (77,7 %, 5828 pacientů, z toho 5024 žen a 804 mužů) a pacienty substituované vitaminem D o minimální dávce 200 IU (a většinou nepřekračující 400 IU) denně v době odběru (22,3 %, 1672 pacientů, z toho 1521 žen a 151 mužů).

#### 8.1.1 Věk a substituce vitaminem D

Testovali jsme, zda se liší věk pacientů nesubstituovaných a substituovaných vitaminem D. Datový soubor vykazoval neparametrické rozložení dat, což bylo dáno omezením vstupního věku hranicí 45 let. Rozdíl ve věku mezi skupinami nesubstituovaných a substituovaných vitaminem D byl testován pomocí neparametrického ANOVA testu (Wilcoxon Two Sample Test), který prokázal statisticky významný rozdíl věku mezi těmito skupinami ( $p$ -hodnota  $< 0,0001$ ) (viz Tabulka 4).

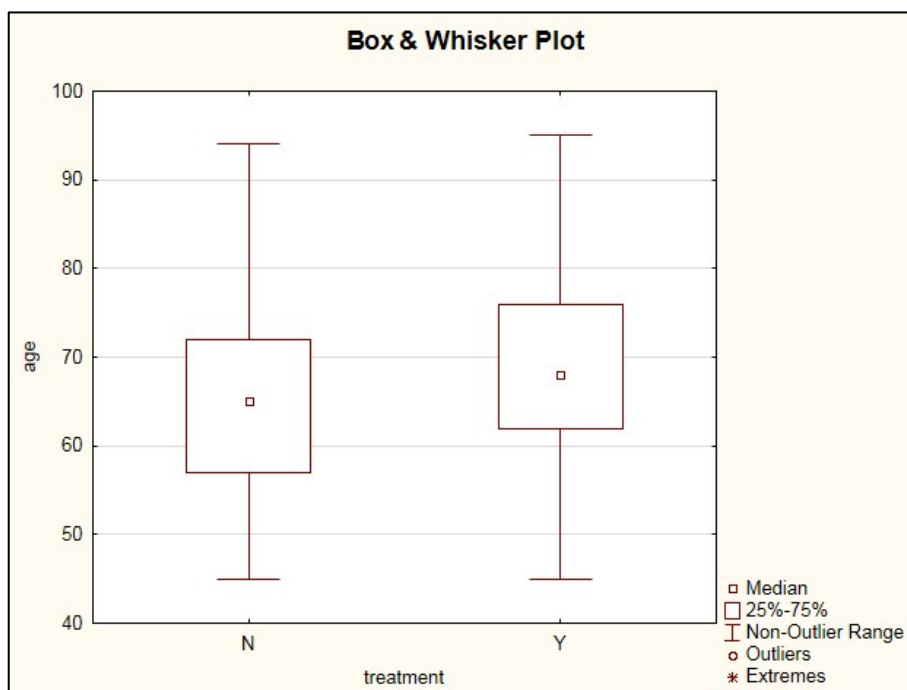
**Tabulka 4** Statistická deskripce věku pacientů skupin bez substituce a substituovaných vitaminem D

substituce	věk [roky]				
	Minimum	25. percentil	medián	75. percentil	maximum
NE	45	57	65	72	94
ANO	45	62	68	76	95

Zdroj: vlastní data

Substituovaní pacienti byli starší. Rozdíl mediánů věku mezi skupinami byl 3 roky (65 a 68 let), věkové maximum se lišilo o jeden rok (viz Obrázek 4).

**Obrázek 4 Grafické znázornění věkového rozložení skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů**



Věkové rozložení (age) [roky] skupin nesubstituovaných (treatment N) a substituovaných (treatment Y) pacientů, s vyznačením hodnot mediánu (Median), rozpětí 25. až 75. percentilu (25%-75%), rozpětí vousů (Non-Outlier Range) (v tomto případě je rovno nejnižšímu a nejvyššímu věku), odlehlých hodnot (Outliers) a extrémně odlehlých hodnot (Extremes).

Zdroj: vlastní data

Pro další analýzy jsme rozdělili nesubstituované i substituované pacienty do tří věkových kategorií po deseti letech a kategorie pacientů starších 75 let. Tabulka 5 popisuje v rámci skupin dle substituce věkové rozložení pacientů, z nichž skoro 2/3 byly vyšetřeny ve věkovém rozmezí mezi 56. a 75. rokem (65,6 % skupiny bez substituce a 65,7 % skupiny substituovaných).

**Tabulka 5 Procentuální rozložení nesubstituovaných a substituovaných pacientů do věkových kategorií**

substituce	věková kategorie			
	45-55 let	56-65 let	66-75 let	nad 75 let
NE	19,0 %	34,8 %	30,8 %	15,4 %
ANO	9,2 %	29,0 %	36,7 %	25,2 %

Substituovaných pacientů n=1672, nesubstituovaných pacientů n=5828.

Zdroj: vlastní data

## 8.2 Závislost sérových hodnot 25-hydroxyvitaminu D na pohlaví

K analýze možné souvislosti sérových hodnot 25-OHD a pohlaví byla zvolena pouze skupina pacientů bez substituce vitaminem D, neboť užívání vitaminu D by mohlo ovlivnit toto zhodnocení.

Větší zastoupení v této skupině měly ženy v počtu 5024 (86,2 %), proti zastoupení mužů v počtu 804 (13,8 %). Mediány a další statistickou deskripci sérových hodnot 25-OHD u mužů a žen shrnuje Tabulka 6.

**Tabulka 6** Statistická deskripce – ženy a muži bez substituce vitaminem D

pohlaví	počet pacientů	sérová hodnota 25-OHD [nmol/l]				
		minimum	25. percentil	medián	75. percentil	maximum
ženy	5024	5,8	28,5	41,5	56,5	200,8
muži	804	10,0	29,5	42,8	59,4	112,2

Zdroj: vlastní data

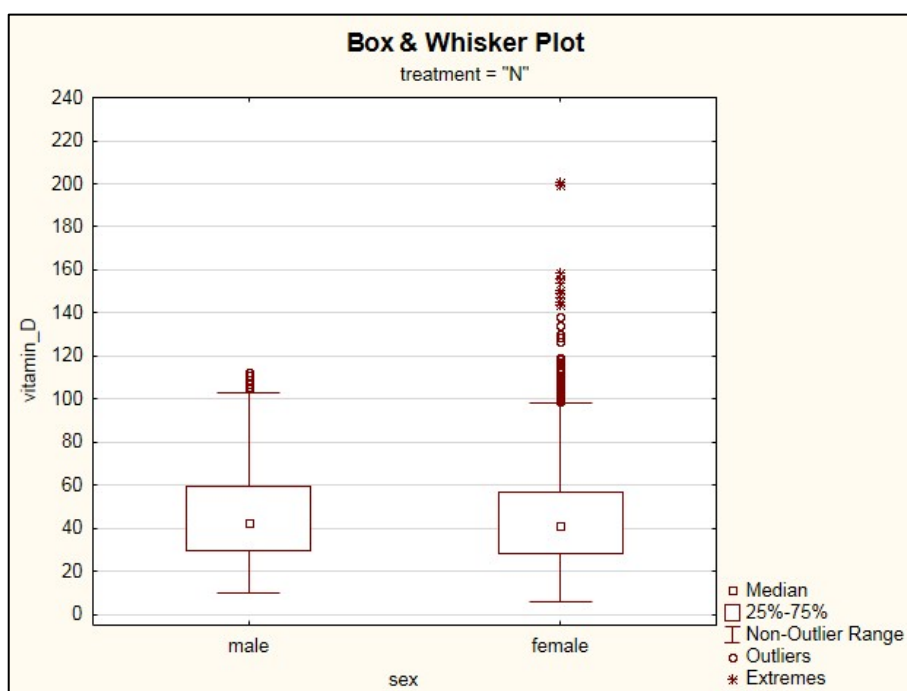
Rozdíl mezi pohlavími byl testován pomocí neparametrického ANOVA testu (Wilcoxon Two Sample Test), který prokázal hraniční, statisticky nevýznamný rozdíl ( $p$ -hodnota = 0,0731) sérových hodnot 25-OHD mezi skupinami mužů a žen, proto byl následně proveden test ekvivalence k posouzení shody.

U testu ekvivalence jsme vzali v úvahu možnou chybu stanovení 25-OHD na úrovni +/- 10 % z průměru, tj. +/- 4,431 nmol/l. Test ekvivalence sérových hodnot 25-OHD mezi skupinami mužů a žen prokázal na této úrovni chyby stanovení statisticky významnou shodu ( $p$ -hodnota = 0,0002). Hodnoty 25-OHD se statisticky významně neliší, v dalších statistických hodnoceních jsme proto analyzovali obě pohlaví dohromady.

Tuto shodu demonstruje i Obrázek 5, kde lze nalézt rozdílnosti pouze na úrovni odlehlých a extrémně odlehlých hodnot. Ačkoli v oblasti odlehlých hodnot bylo u žen více vyšších hodnot, rozdíl mediánů sérových hodnot 25-OHD mezi pohlavími je pouze 1,3 nmol/l.



**Obrázek 5 Grafické znázornění závislosti sérové hodnoty 25-OHD na pohlaví**



Závislost sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l] na pohlaví pacientů (sex; male = muž, female = žena) nesubstituovaných vitaminem D (treatment = "N"), s vyznačením hodnot mediánu (Median), rozpětí 25. a 75. percentilu (25%-75%), rozpětí vousů (Non-Outlier Range), odlehlých hodnot (Outliers) a extrémně odlehlých hodnot (Extremes).

Zdroj: vlastní data

### 8.3 Souvislost hodnot 25-hydroxyvitaminu D a substituce vitaminem D

Nejdříve jsme testovali distribuci hodnot 25-OHD u nesubstituovaných i substituovaných pacientů pomocí Kolmogorova-Smirnova testu normality. Test prokázal, že hodnoty 25-OHD neměly normální rozložení dat, a to statisticky významně u substituovaných ( $p$ -hodnota < 0,0100) i nesubstituovaných pacientů ( $p$ -hodnota < 0,0100).

Následně jsme pomocí neparametrického ANOVA testu (Wilcoxon Two Sample Test) prokázali statisticky významně vyšší sérové hodnoty 25-OHD u substituovaných pacientů v porovnání s nesubstituovanými pacienty ( $p$ -hodnota < 0,0001).

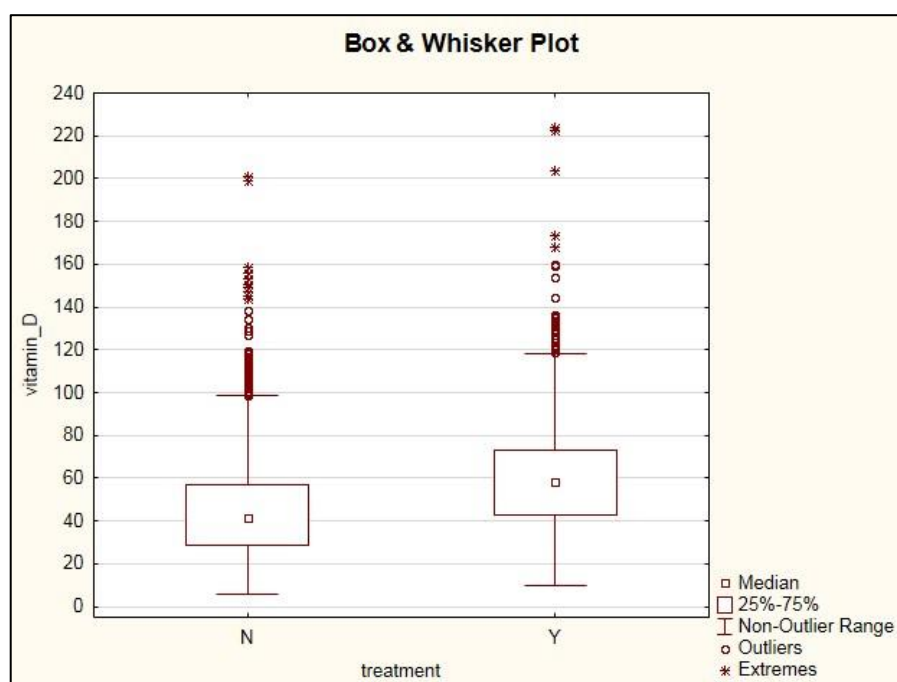
Jak znázorňuje Tabulka 7 a také Obrázek 6, mediány hodnot 25-OHD se lišily o 16,2 nmol/l (41,8 a 58,0 nmol/l). Vyšší sérové hodnoty 25-OHD substituovaných pacientů se vyskytují v celém rozsahu naměřených hodnot. 90 % sérových hodnot 25-OHD nesubstituovaných pacientů bylo nižších než 72,0 nmol/l a 50 % hodnot bylo pod 41,8 nmol/l. V případě substituovaných pacientů 50 % dosáhlo hodnoty nad 58,0 nmol/l, ale jen 25 % dosáhlo sérových hodnot 25-OHD nad 73,0 nmol/l.

**Tabulka 7** Statistická deskripce skupin pacientů dle substituce vitaminem D

substituce	sérová hodnota 25-OHD [nmol/l]						
	min.	25. percentil	medián	75. percentil	90. percentil	95. percentil	max.
NE	5,8	28,8	<b>41,8</b>	56,8	<b>72,0</b>	81,8	200,8
ANO	10,0	42,8	<b>58,0</b>	<b>73,0</b>	91,5	102,3	223,8

Zdroj: vlastní data

**Obrázek 6** Grafické znázornění závislosti sérové hodnoty 25-OHD na substituci vitaminem D



Závislost sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l] na substituci vitaminem D (treatment; N = nesubstituovaní, Y = substituovaní) s vyznačením hodnot mediánu (Median), rozpětí 25. a 75. percentilu (25%-75%), rozpětí vousů (Non-Outlier Range), odlehlých hodnot (Outliers) a extrémně odlehlých hodnot (Extremes).

Zdroj: vlastní data

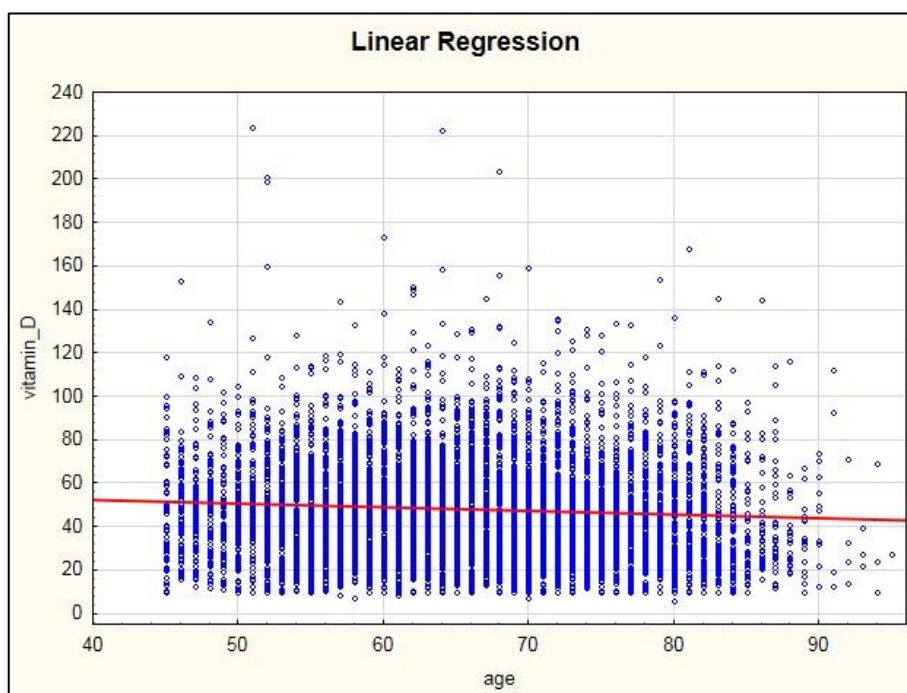
#### 8.4 Souvislost sérových hodnot 25-hydroxyvitaminu D a věku pacientů

Pro hodnocení možné souvislosti sérových hodnot 25-OHD a věku v době vstupního vyšetření byla použita pouze skupina nesubstituovaných pacientů, neboť užívání vitaminu D je pravděpodobněji ve vyšším věku a mohlo by ovlivnit toto hodnocení.

Závislost hodnoty 25-OHD jsme testovali pomocí Spearmanova pořadového korelačního testu. Byla zjištěna velmi slabá negativní korelace ( $r = -0,161$ ) mezi sérovými

hodnotami 25-OHD a věkem pacientů v době odběru, která byla statisticky významná ( $p$ -hodnota  $< 0,0001$ ). Pomocí lineární regrese jsme stanovili míru závislosti hodnot 25-OHD na věku pacientů. Jak z rozložení sérových hodnot 25-OHD v grafu (Obrázek 7), tak z hodnoty Spearmanova pořadového koeficientu vyplývá, že závislost hodnot 25-OHD na věku pacientů byla minimální. Protože ale vlivem věku klesá schopnost tvorby 7-DHC v kůži, posuzovali jsme vliv věku v dalších analýzách v rámci věkových kategorií po deseti letech (45-55 let, 56-65 let, 66-75 let) a nad 75 let věku, a to i s ohledem na roční období.

**Obrázek 7 Grafické znázornění lineární regrese, závislosti hodnot 25-OHD na věku**



Závislost sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l] na věku (age) [roky] nesubstituovaných pacientů obou pohlaví dohromady, se zobrazením křivky lineární regrese (rovnice křivky:  $25\text{-OHD} = 66,23874 - 0,33835 \cdot \text{věk}$ ;  $p$ -hodnota  $< 0,0001$ ).

Zdroj: vlastní data

## 8.5 Závislost hodnoty 25-hydroxyvitaminu D na ročním období

Dále jsme se snažili zhodnotit možný vliv ročního období na sérové hodnoty vitaminu D. Protože nemáme k dispozici opakovaná měření hodnot jednotlivých pacientů v jednotlivých měsících, bylo zvoleno více přístupů ke zhodnocení vztahu hodnot 25-OHD k ročnímu období. Vzhledem k tomu, že jsme předpokládali možný vliv jak ročního období, tak věku pacientů (změna chování, snížení schopnosti tvorby vitaminu D), rozdělili jsme skupinu nesubstituovaných pacientů do kategorií jednak podle měsíce data odběru, jednak

podle věku pacientů (kategorie 45-55 let, 56-65 let, 66-75 let a nad 75 let). Tyto výsledky jsme porovnávali i se skupinou substituovaných pacientů, členěnou obdobně.

### **8.5.1 Hodnoty 25-hydroxyvitaminu D dle věkových kategorií a měsíce odběru**

V rámci analýzy v následujících pododdílech jsme zjistili významné rozdíly hodnot 25-OHD mezi substituovanými a nesubstituovanými pacienty v jednotlivých měsících, kromě letního období ve věkových kategoriích 45-55 let a 56-65 let. Tyto věkové kategorie také vykazovaly u nesubstituovaných typický bifázický průběh s minimem ve 2.-4. měsíci a maximem v 7.-9. měsíci. V rámci skupiny substituovaných a skupiny nesubstituovaných se hodnoty mezi měsíci signifikantně lišily. Výjimku tvořily letní měsíce (7.-9. měsíc) v kategoriích 45-55 a 56-65 let a také věková skupina nad 75 let, kde se hodnoty mediánů u substituovaných pacientů mezi jednotlivými měsíci významně nelišily. Kategorie nad 75 let také nevykazovala charakteristický bifázický průběh mediánů hodnot 25-OHD.

Výše uvedené rozdíly jsou velmi pravděpodobně dány vlivem ročního období. Identifikovali jsme proto tři po sobě jdoucí měsíce s nejnižšími (dále nazývané zimní měsíce; v tabulkách Min3, značené \*), a tři s nejvyššími mediány hodnot 25-OHD (dále nazývané letní měsíce; v tabulkách Max3, značené #) ve skupině nesubstituovaných pacientů, a tyto nálezy jsme dále ověřovali porovnáním hodnot 25-OHD a stavu zásobení vitaminem D mezi těmito dvěma obdobími (viz oddíl 8.5.2, a podkapitola 8.6).

#### **8.5.1.1 Věková kategorie 45-55 let**

Ve věkové skupině 45–55 let byly analyzovány výsledky 1259 pacientů (1106 nesubstituovaných a 153 substituovaných vitaminem D).

Neparametrický ANOVA test (Wilcoxon Two Sample Test) prokázal u nesubstituovaných pacientů statisticky významnou odlišnost hodnot 25-OHD mezi jednotlivými měsíci ( $p$ -hodnota  $< 0,0001$ ), u substituovaných pacientů se pak hodnoty 25-OHD mezi měsíci lišily taktéž, i když s menší statistickou významností ( $p$ -hodnota = 0,0375).

Hodnoty 25-OHD se mezi skupinami nesubstituovaných a substituovaných pacientů významně lišily v 1.-6. měsíci, a nelišily v 7.-12. měsíci (neparametrický ANOVA test) (viz Tabulka 8). Roční průběh mediánů hodnot 25-OHD měl u skupiny nesubstituovaných pacientů bifázický charakter s minimem hodnot ve 2.-4. měsíci a maximem v 7.-9. měsíci (viz Tabulka 8 a Obrázek 8).

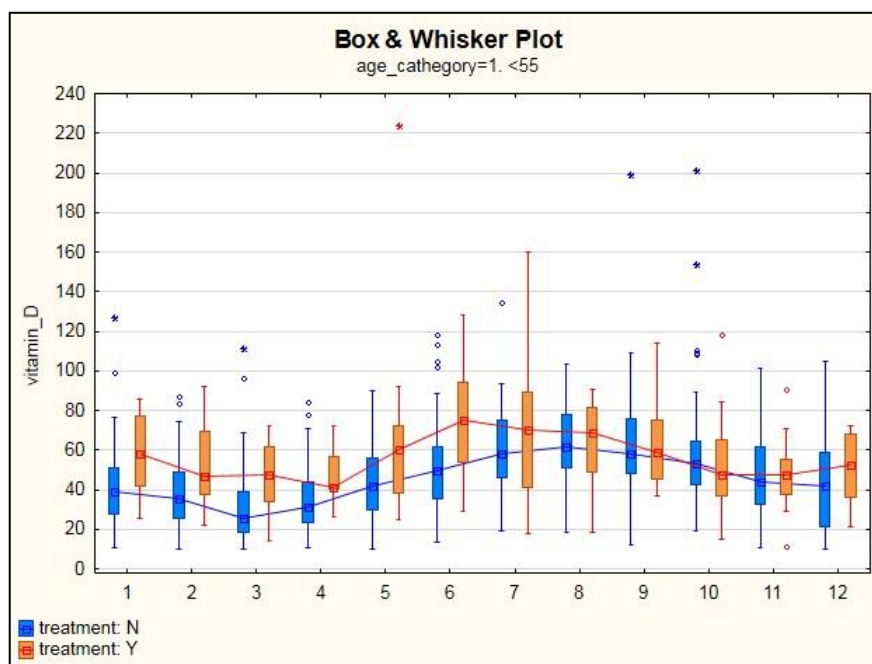
**Tabulka 8 Mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících – kategorie 45-55 let**

měsíc	nesubstituovaní		substituovaní		<i>p</i> -hodnota testu rozdílu
	počet pacientů	medián 25-OHD [nmol/l]	počet pacientů	medián 25-OHD [nmol/l]	
1.	108	38,9	11	58,0	0,0031
2.*	90	<b>35,5</b>	11	47,0	0,0188
3.*	86	<b>25,9</b>	14	47,3	0,0016
4.*	76	<b>31,4</b>	9	41,5	0,0316
5.	83	41,8	14	60,0	0,0170
6.	94	49,7	13	75,0	0,0034
7.#	76	<b>58,5</b>	7	70,5	n.s. (0,4126)
8.#	92	<b>61,9</b>	14	68,7	n.s. (0,5660)
9.#	83	<b>58,0</b>	14	59,0	n.s. (0,7738)
10.	100	53,0	21	47,5	n.s. (0,3210)
11.	136	44,1	17	47,5	n.s. (0,8823)
12.	82	42,0	8	52,4	n.s. (0,1461)

Mediány hodnot 25-OHD [nmol/l] pacientů v jednotlivých měsících (\* = „zimní“ měsíce, # = „letní“ měsíce), ve skupinách nesubstituovaných (n = 1106) a substituovaných (n = 153) vitamínem D, s vyjádřením statistické významnosti rozdílu skupin nesubstituovaných a substituovaných v jednotlivých měsících (*p*-hodnota; n.s. = není signifikantní rozdíl).

Zdroj: vlastní data

**Obrázek 8 Grafické znázornění ročních průběhů mediánů hodnot 25-OHD skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů – kategorie 45–55 let**



Sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l], skupiny nesubstituovaných (treatment: N) a substituovaných (treatment: Y) pacientů, průběh roku roku po měsících (month).

Zdroj: vlastní data

### 8.5.1.2 Věková kategorie 56-65 let

Ve věkové skupině 56–65 let byly analyzovány výsledky 2515 pacientů (2030 nesubstituovaných a 485 substituovaných vitamínem D), jednalo se tedy o nejpočetnější věkovou skupinu.

Neparametrický ANOVA test rozdílu prokázal v rámci skupiny nesubstituovaných i substituovaných pacientů statisticky významnou odlišnost hodnot 25-OHD mezi jednotlivými měsíci ( $p$ -hodnota < 0,0001).

Neparametrický ANOVA test prokázal statisticky významné rozdíly hodnot 25-OHD mezi skupinami nesubstituovaných a substituovaných pacientů ve všech měsících kromě 7. až 9. měsíce (viz Tabulka 9). Průběh mediánů hodnot 25-OHD má ve skupině nesubstituovaných pacientů bifázický charakter s minimem v 1.-3. měsíci a maximem v 7.-9. měsíci (viz Tabulka 9 a Obrázek 9).

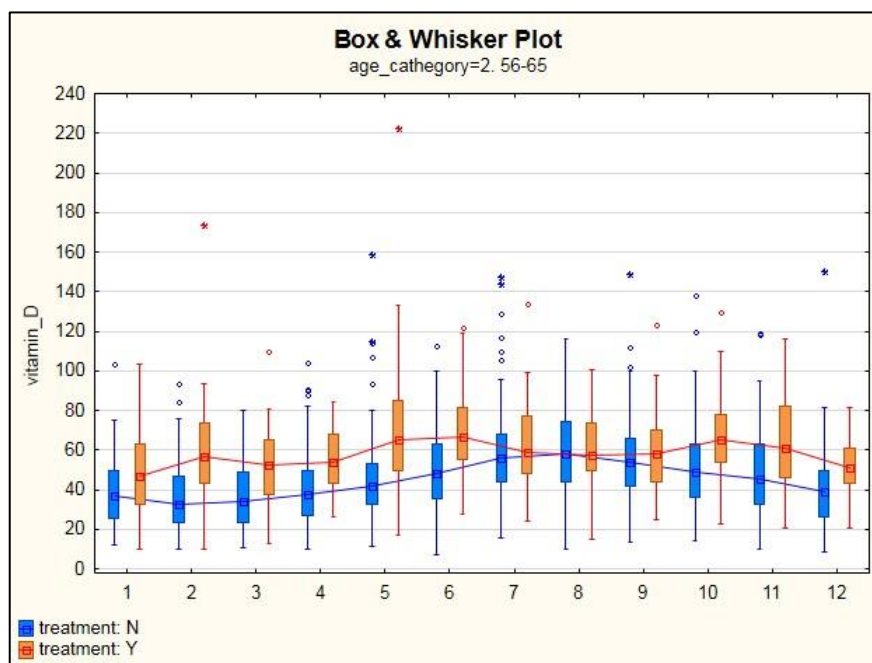
**Tabulka 9 Mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících – kategorie 56–65 let**

měsíc	nesubstituovaní		substituovaní		$p$ -hodnota testu rozdílu
	počet pacientů	medián 25-OHD [nmol/l]	počet pacientů	medián 25-OHD [nmol/l]	
1.*	197	<b>37,0</b>	31	46,8	0,0136
2.*	155	<b>32,5</b>	37	57,0	< 0,0001
3.*	191	<b>34,0</b>	48	52,6	< 0,0001
4.	153	38,0	35	53,8	< 0,0001
5.	180	42,0	38	65,1	< 0,0001
6.	165	48,5	41	66,8	< 0,0001
7.#	148	<b>56,0</b>	31	59,2	<b>n.s.</b> (0,1923)
8.#	155	<b>58,5</b>	41	57,5	<b>n.s.</b> (0,7698)
9.#	144	<b>53,7</b>	33	58,2	<b>n.s.</b> (0,1545)
10.	178	49,1	48	65,5	< 0,0001
11.	206	45,7	67	61,0	< 0,0001
12.	158	39,2	35	51,3	< 0,0001

Mediány hodnot 25-OHD [nmol/l] pacientů v jednotlivých měsících (\* = „zimní“ měsíce, # = „letní“ měsíce), ve skupinách nesubstituovaných ( $n = 2030$ ) a substituovaných ( $n = 845$ ) vitamínem D, s vyjádřením statistické významnosti rozdílu skupin nesubstituovaných a substituovaných v jednotlivých měsících ( $p$ -hodnota; n.s. = není signifikantní rozdíl).

Zdroj: vlastní data

**Obrázek 9 Grafické znázornění ročních průběhů mediánů hodnot 25-OHD skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů – kategorie 56–65 let**



Sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l], skupiny nesubstituovaných (treatment: N) a substituovaných (treatment: Y) pacientů, průběh roku roku po měsících (month).  
Zdroj: vlastní data

### 8.5.1.3 Věková kategorie 66-75 let

Ve věkové skupině 66–75 let byly analyzovány hodnoty 2408 pacientů (1795 nesubstituovaných a 613 substituovaných vitamínem D).

Neparametrický ANOVA test prokázal v rámci skupiny nesubstituovaných i substituovaných pacientů statisticky významnou odlišnost hodnot 25-OHD mezi jednotlivými měsíci ( $p$ -hodnota < 0,0001).

Neparametrický ANOVA test prokázal ve všech měsících statisticky významně vyšší hodnoty 25-OHD u substituovaných pacientů oproti nesubstituovaným (viz Tabulka 10). U obou skupin je zachovaný, ačkoli méně výrazný bifázický charakter průběhu spojnic mediánů s minimy ve 2.-4. měsíci a maximy v 7.-9. měsíci (viz Tabulka 10 a Obrázek 10).

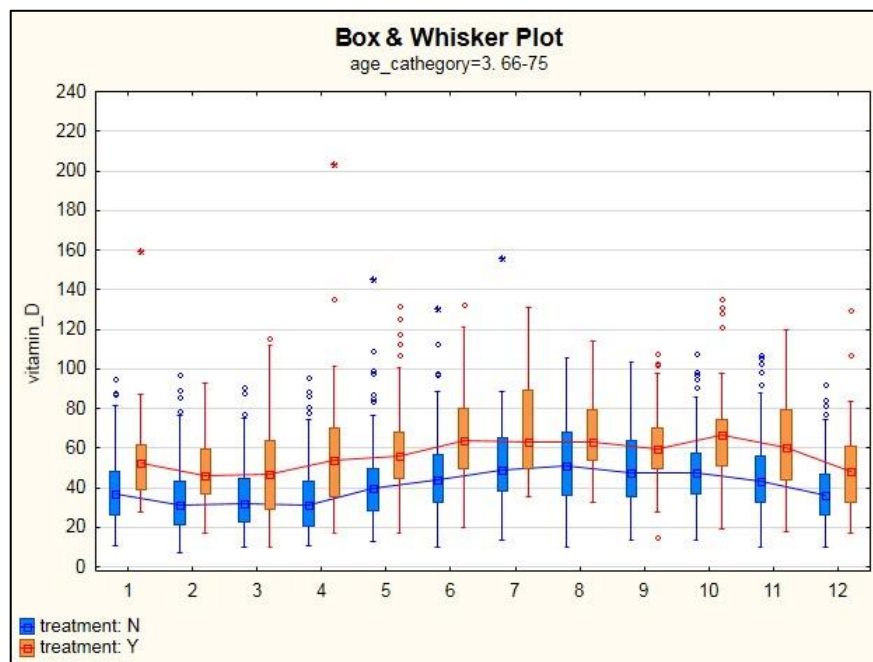
**Tabulka 10 Mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících – kategorie 66–75 let**

měsíc	nesubstituovaní		substituovaní		p-hodnota testu rozdílu
	počet pacientů	medián 25-OHD [nmol/l]	počet pacientů	medián 25-OHD [nmol/l]	
1.	162	36,9	42	52,5	< 0,0001
2.*	145	<b>31,2</b>	38	45,9	< 0,0001
3.*	164	<b>31,8</b>	50	47,1	< 0,0001
4.*	133	<b>31,2</b>	53	54,2	< 0,0001
5.	161	39,5	47	55,8	< 0,0001
6.	146	44,4	50	63,8	< 0,0001
7.#	129	<b>48,8</b>	46	63,0	< 0,0001
8.#	134	<b>50,9</b>	38	63,4	0,0014
9.#	130	<b>47,8</b>	66	59,7	0,0010
10.	169	47,8	54	66,8	< 0,0001
11.	201	43,0	70	60,4	< 0,0001
12.	121	36,5	59	48,0	0,0010

Mediány hodnot 25-OHD [nmol/l] pacientů v jednotlivých měsících (\* = „zimní“ měsíce, # = „letní“ měsíce), ve skupinách nesubstituovaných (n = 1795) a substituovaných (n = 613) vitaminem D, s vyjádřením statistické významnosti rozdílu skupin nesubstituovaných a substituovaných v jednotlivých měsících (p-hodnota; n.s. = není signifikantní rozdíl).

Zdroj: vlastní data

**Obrázek 10 Grafické znázornění ročních průběhů mediánů hodnot 25-OHD skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů – kategorie 66–75 let**



Sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l], skupiny nesubstituovaných (treatment: N) a substituovaných (treatment: Y) pacientů, průběh roku roku po měsících (month).

Zdroj: vlastní data



#### 8.5.1.4 Věková kategorie nad 75 let

Ve věkové skupině nad 75 let byly analyzovány hodnoty 1318 pacientů (897 nesubstituovaných a 421 substituovaných vitaminem D).

Neparametrický ANOVA test prokázal u nesubstituovaných pacientů statisticky významnou odlišnost hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících ( $p$ -hodnota < 0,0001), ale u substituovaných pacientů se hodnoty 25-OHD mezi měsíci statisticky významně nelišily ( $p$ -hodnota = 0,1628).

Neparametrický ANOVA test prokázal ve všech měsících statisticky významně vyšší hodnoty u substituovaných pacientů oproti nesubstituovaným. (viz Tabulka 11). U obou skupin již prakticky neexistuje bifázický charakter průběhu spojnice mediánů, ačkoli jsou zachována minima ve 2.-4. měsíci a maxima v 7.-9. měsíci (viz Tabulka 11 a Obrázek 11).

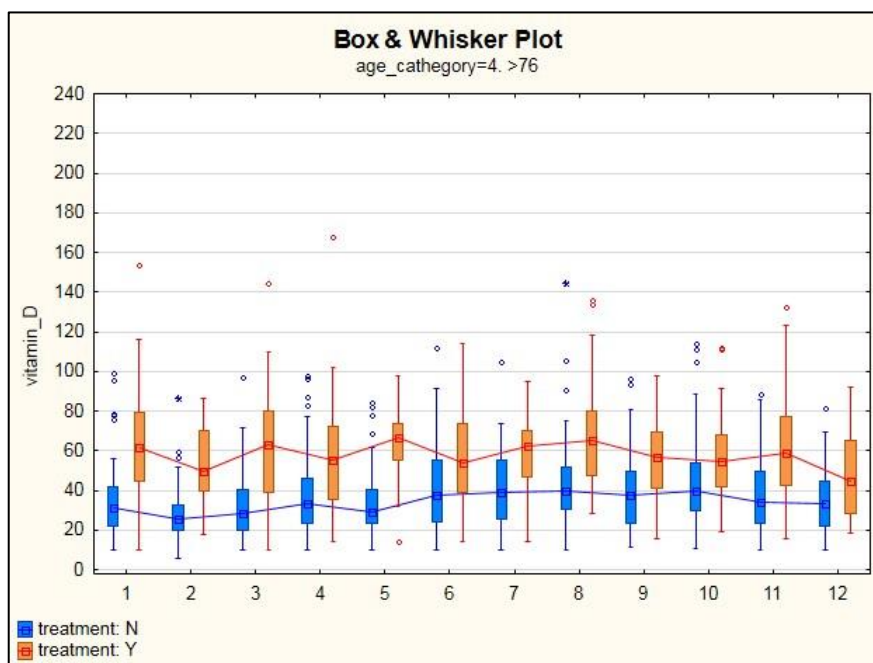
**Tabulka 11 Mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících – kategorie nad 75 let**

měsíc	nesubstituovaní		substituovaní		$p$ -hodnota testu rozdílu
	počet pacientů	medián 25-OHD [nmol/l]	počet pacientů	medián 25-OHD [nmol/l]	
1.	75	31,3	32	61,8	< 0,0001
2.*	76	<b>25,8</b>	26	49,5	< 0,0001
3.*	74	<b>28,4</b>	37	62,8	< 0,0001
4.*	81	<b>33,5</b>	38	55,5	0,0001
5.	63	29,5	29	66,8	< 0,0001
6.	92	37,7	35	53,8	0,0015
7.	56	39,3	30	62,3	< 0,0001
8.#	83	<b>39,8</b>	36	65,3	< 0,0001
9.#	70	<b>37,7</b>	39	56,5	< 0,0001
10.#	88	<b>40,0</b>	43	54,5	0,0004
11.	88	34,4	51	58,8	< 0,0001
12.	51	33,2	25	44,5	0,0234

Mediány hodnot 25-OHD [nmol/l] pacientů v jednotlivých měsících (\* = „zimní“ měsíce, # = „letní“ měsíce), ve skupinách nesubstituovaných (n = 897) a substituovaných (n = 421) vitaminem D, s vyjádřením statistické významnosti rozdílu skupin nesubstituovaných a substituovaných v jednotlivých měsících ( $p$ -hodnota; n.s. = není signifikantní rozdíl).

Zdroj: vlastní data

**Obrázek 11 Grafické znázornění ročních průběhů mediánů hodnot 25-OHD skupin nesubstituovaných a substituovaných pacientů – kategorie nad 75 let**



Sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l], skupiny nesubstituovaných (treatment: N) a substituovaných (treatment: Y) pacientů, průběh roku roku po měsících (month).

Zdroj: vlastní data

### 8.5.2 Porovnání měsíců s nejnižšími a nejvyššími hodnotami 25-hydroxyvitaminu D

Bifázický charakter spojnice mediánů hodnot mohl být způsoben vlivem ročního období (mírou slunečního osvětlení), a proto jsme s využitím dat skupiny všech pacientů nesubstituovaných vitaminem D vybrali tři po sobě jdoucí měsíce s nejnižšími (2.-4. měsíc) a tři po sobě jdoucí měsíce s nejvyššími (7.-9. měsíc) sérovými hodnotami 25-OHD. Tyto měsíce, respektive v nich naměřené hodnoty 25-OHD, jsme mezi sebou porovnali v jednotlivých věkových kategoriích, odděleně v rámci kategorií dle substituce, pomocí neparametrického ANOVA testu.

U nesubstituovaných pacientů byly hodnoty 25-OHD v zimních měsících statisticky významně nižší než v letních měsících, přičemž největší rozdíl mediánů (28 nmol/l) byl pozorován v nejmladší kategorii a nejmenší naopak v kategorii nad 75 let (11,5 nmol/l). Tyto rozdíly jsou obdobné a taktéž statisticky významné i u substituovaných pacientů, kromě hodnot ve skupině nad 75 let věku. Rozdíly mezi mediány zimních a letních měsíců byly ve skupině substituovaných nižší než ve skupině nesubstituovaných. Pravděpodobný přírůstek slunečního osvětlení byl v rozmezí 3,0-22,6 nmol/l (viz Tabulka 12).

**Tabulka 12 Mediány sérových hodnot 25-OHD, srovnání v zimních a letních měsících**

věková kategorie	nesubstituovaní			substituovaní		
	medián Min3 [nmol/l]	medián Max3 [nmol/l]	<i>p</i> -hodnota (Wilcoxon)	medián Min3 [nmol/l]	medián Max3 [nmol/l]	<i>p</i> -hodnota (Wilcoxon)
45-55 let	31,5	59,5	< 0,0001	43,2	65,8	0,0026
56-65 let	35,2	56,0	< 0,0001	53,8	58,2	0,0321
66-75 let	31,2	49,0	< 0,0001	49,0	61,9	< 0,0001
>75 let	28,0	39,5	< 0,0001	58,8	61,8	<b>n.s.</b> (0,2960)

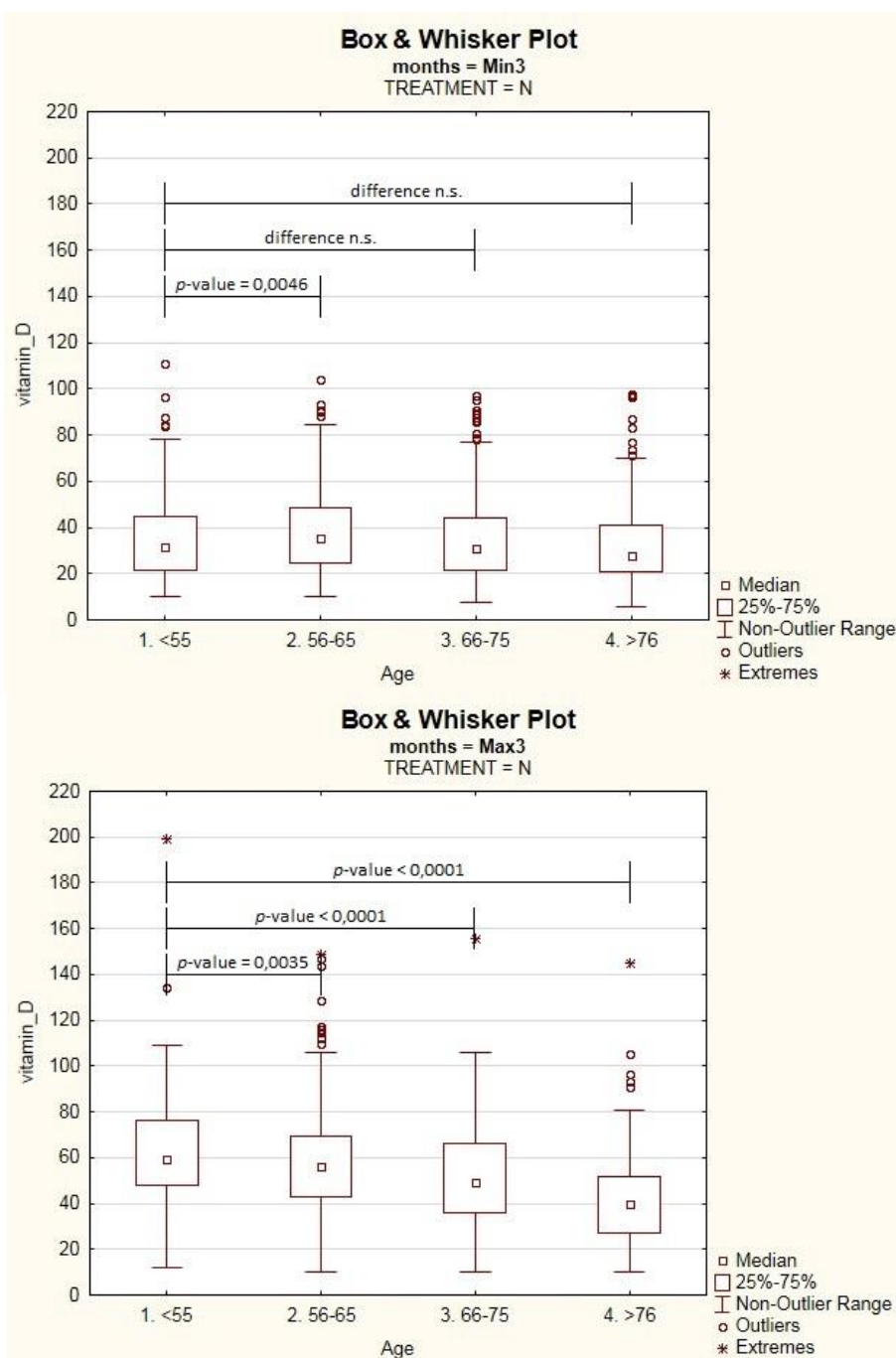
Srovnání mediánů sérových hodnot 25-OHD [nmol/l] v zimních (Min3) a letních (Max3) měsících, v rámci skupin nesubstituovaných (n = 2724) a substituovaných (n = 791) pacientů, s *p*-hodnotami testů rozdílu hodnot mezi zimními a letními měsíci v jednotlivých věkových kategoriích (Wilcoxon Two Sample Test; n.s. = není signifikantní rozdíl).

Zdroj: vlastní data

Vzhledem k tomu, že hodnoty v zimních a v letních měsících jevíly rozdílnou dynamiku dle věkových kategorií, porovnali jsme distribuci hodnot mezi nejnižší věkovou kategorií a ostatními pomocí neparametrického ANOVA testu.

U nesubstituovaných se hodnoty prakticky nelišily v zimních měsících, naopak v letních měsících vykazovaly signifikantní pokles s rostoucím věkem (viz Obrázek 12)

**Obrázek 12 Grafické znázornění hodnot 25-OHD nesubstituovaných pacientů v zimních a v letních měsících – srovnání věkových skupin**

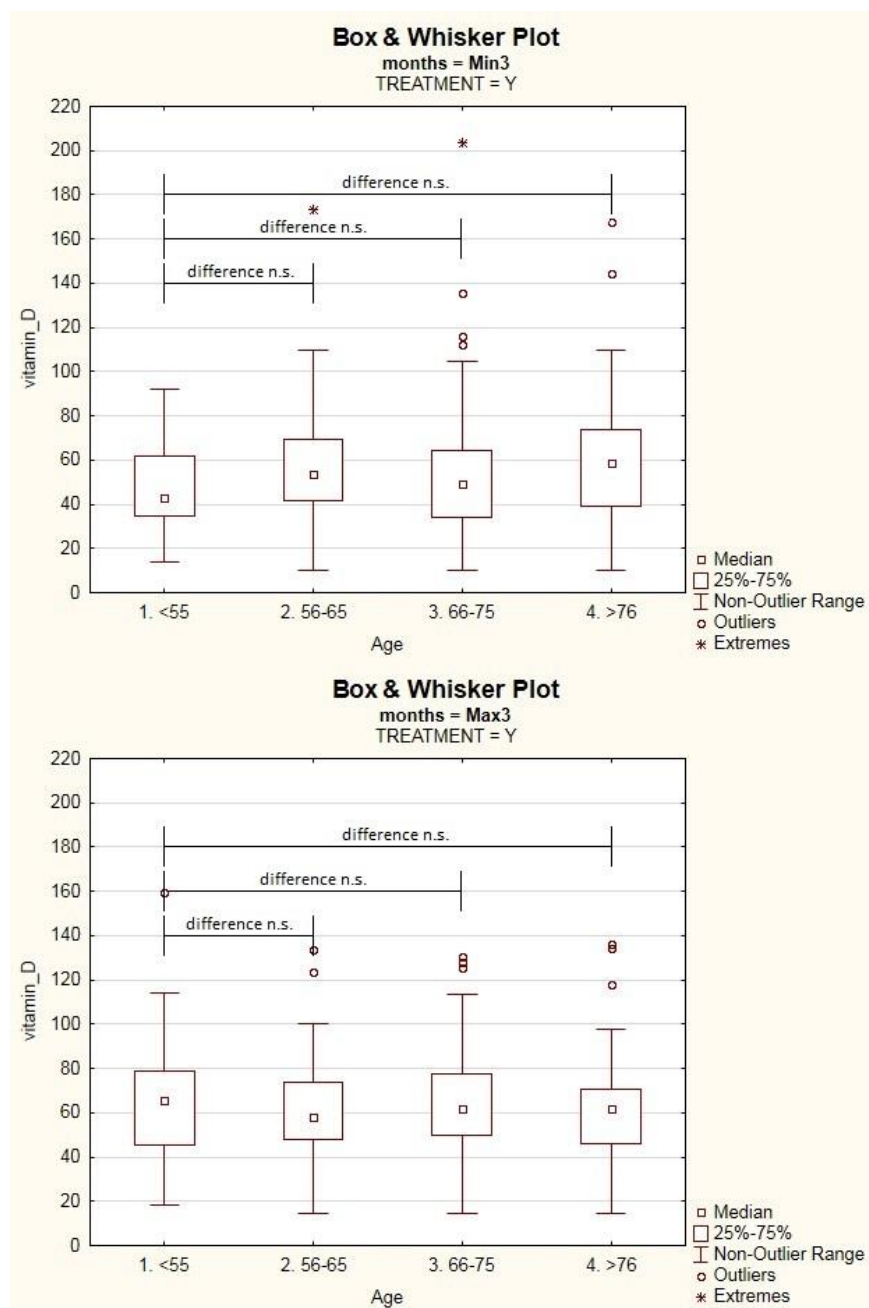


Sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l] nesubstituovaných pacientů (TREATMENT = N) ve 2.-4. měsíci (nehoře; months = Min3) a v 7.-9. měsíci (dole; months = Max3) s vyznačením mediánu (Median), rozpětí 25. až 75. percentilu (25%-75%), rozpětí vousů (Non-Outlier Range), odlehlých hodnot (Outliers) a extrémně odlehlých hodnot (Extremes); a s vyznačením statistických významností rozdílů ( $p$ -value, difference n.s. = rozdíl není signifikantní) mezi hodnotami věkové kategorie 45-55 let (Age, 1. <55) a ostatních věkových kategorií (Age; 2. 56-65, 3. 66-75, 4. >76).

Zdroj: vlastní data

U substituovaných pacientů se distribuce hodnot do věkových kategorií v letních ani v zimních měsících nelišily (viz Obrázek 13)

**Obrázek 13 Grafické znázornění hodnot 25-OHD substituovaných pacientů v zimních a letních měsících – srovnání věkových skupin**



Sérové hodnoty 25-OHD (vitamin\_D) [nmol/l] substituovaných pacientů (TREATMENT = Y) ve 2.-4. měsíci (nahore; months = Min3) v 7.-9. měsíci (dole; months = Max3) s vyznačením mediánu (Median), rozpětí 25. až 75. percentilu (25%-75%), rozpětí vousů (Non-Outlier Range), odlehlých hodnot (Outliers) a extrémně odlehlých hodnot (Extremes); a s vyznačením statistických významností rozdílů (difference n.s. = rozdíl není signifikantní) mezi hodnotami věkové kategorie 45-55 let (Age, 1. <55) a ostatních věkových kategorií (Age; 2. 56-65, 3. 66-75, 4. >76).

Zdroj: vlastní data

Vliv ročního období (tedy osvit slunce) je jednoznačný u všech věkových kategorií nesubstituovaných pacientů a překvapivě také u substituovaných, kromě věkové kategorie nad 75 let. Ve věkové kategorii nad 75 let je vliv ročního období významný v kategorii nesubstituovaných. Přírůstek mediánu je 11,5 nmol/l, což je 2,4krát méně, než v nejnižší věkové kategorii, kde je přírůstek mediánu 28,0 nmol/l. U substituovaných nad 75 let je vliv ročního období minimální. Distribuce hodnot 25-OHD měřené v období s nejnižším vlivem slunečního osvit se dle věku neliší jak u substituovaných, tak nesubstituovaných pacientů. Hodnoty 25-OHD v letních měsících se u nesubstituovaných významně liší dle věku. U substituovaných tomu tak není.

## 8.6 Zhodnocení stavu zásobení vitamínem D

### 8.6.1 Stav zásobení vitamínu D u nesubstituovaných bez ohledu na datum odběru

Podle naměřených sérových hodnot 25-OHD jsme stratifikovali pacienty do kategorií dle stavu zásobení vitamínem D v souladu s doporučeními Endocrine Society (Holick et al., 2011). Toto rozložení v rámci skupiny nesubstituovaných a skupiny substituovaných pacientů zobrazuje Tabulka 13.

**Tabulka 13** Procentuální zastoupení kategorií podle stavu zásobení vitamínem D

sérová hodnota 25-OHD [nmol/l]	kategorie zásobení	substituce	
		NE	ANO
0,0-25,0	vážný deficit	18,4 %	5,6 %
25,1-50,0	deficit	47,2 %	31,2 %
50,1-74,9	nedostatek	26,2 %	40,9 %
75,0-249,9	dostatek	8,3 %	22,3 %
> 250,0	vysoká hodnota	0,0 %	0,0 %

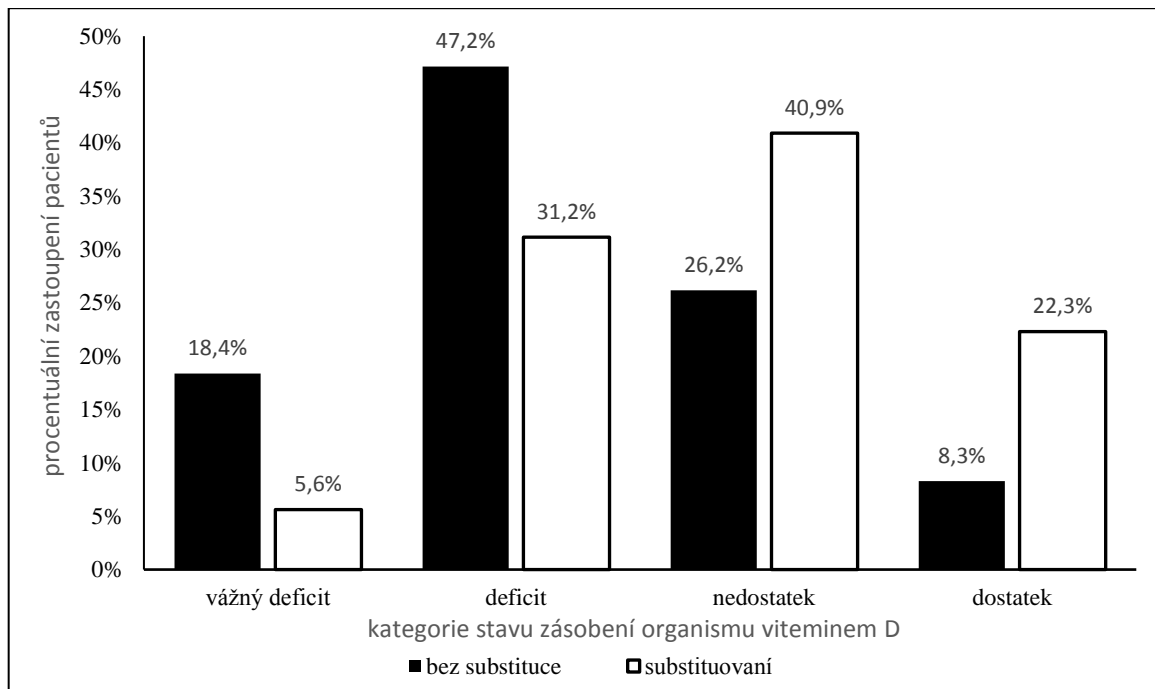
Kategorie dle doporučení Endocrine Society (Holick et al., 2011); celkem pacientů nesubstituovaných n= 5828, substituovaných n= 1672.

Zdroj: vlastní data

Dostatečnou sérovou hodnotu 25-OHD mělo 8,3 % pacientů bez substituce a 22,3 % substituovaných pacientů. Naopak deficitní hodnotu 25-OHD mělo 65,6 % pacientů bez substituce, ale také 36,8 % substituovaných pacientů. Rozložení pacientů do skupin dle stavu zásobení organismu vitamínem D vykazuje posun hodnot substituovaných pacientů směrem k dostatečným hodnotám 25-OHD oproti nesubstituovaným, dobře pozorovatelný i v grafickém znázornění (Obrázek 14), přesto 77,7 % substituovaných pacientů stále nemá

dostatek vitamínu D, stejně jako 91,7 % pacientů bez substituce vitamínem D. U žádného z pacientů nebyla naměřena vysoká sérová hodnota 25-OHD (nad 250 nmol/l).

**Obrázek 14 Grafické znázornění zastoupení kategorií dle stavu zásobení organismu vitamínem D**



Kategorie dle doporučení Endocrine Society (Holick et al., 2011); celkem 5828 nesubstituovaných a 1672 substituovaných pacientů.

Zdroj: vlastní data (Tabulka 13)

### 8.6.2 Četnost deficitu a dostatečných hodnot 25-OHD v zimních a letních měsících u nesubstituovaných pacientů

Cílem této analýzy bylo zjistit, zda rozdíly hodnot 25-OHD mezi zimními a letními měsíci jsou i klinicky významné ve vztahu k hodnocení deficitu či dostatečnosti zásobení organismu vitamínem D. S využitím kontingenčních tabulek a Chi-Square testu bylo provedeno zhodnocení významnosti rozdílů v četnostech deficitních (pod 50 nmol/l) a dostatečných (nad 75 nmol/l) sérových hodnot 25-OHD v letních, respektive zimních měsících, v závislosti na substituci vitamínem D a věkové kategorii.

Procentuální zastoupení četností v jednotlivých věkových kategoriích se skoro vždy významně liší mezi zimními a letními měsíci, a to jak u pacientů s dostatečnými hodnotami 25-OHD (> 75 nmol/l), tak u pacientů s nedostatečnými hodnotami (< 50 nmol/l), Chi-square test ( $p$ -hodnota = 0,0008 v zimních měsících;  $p < 0,0001$  v letních měsících),

nelišila se pouze četnost dostatečných hodnot 25-OHD v zimních měsících (25-OHD nad 75 nmol/l) 2,38-3,46 %. Pacientů s dostatečnými hodnotami je významně méně v zimních měsících a je zde patrný vliv ročního období i věku, kdy v nejmladší věkové kategorii dosahuje dostatečných hodnot až jedenáctkrát více pacientů (viz Tabulka 14).

Obdobný nález je u četností nedostatečných hodnot 25-OHD, kdy v zimních měsících je deficit prakticky nezávislý na věkové kategorii (v rozpětí 76,6-88,3 %). Vliv ročního období je patrný jen ve věkových kategoriích do 75 let, kdy v nejmladší věkové kategorii je v letních měsících 2,9krát nižší četnost deficitních hodnot vitamínu D než v zimních měsících (viz

Tabulka 15).

Sloupce Min3 Tabulka 14 a

Tabulka 15 poukazuje na to, že vliv samotného věku na hodnoty 25-OHD je minimální, neboť v zimních měsících, kdy je minimální vliv slunečního svitu, se jak četnosti dostatečných, tak nedostatečných hodnot prakticky neliší mezi věkovými skupinami. Naopak v letních měsících je vliv ročního období nejvýznamnější v nejmladší věkové kategorii, kde lze také očekávat nejvyšší podíl osvětlení sluncem a zároveň zachovanou syntézu vitamínu D v kůži.

Ve skupině 1424 nesubstituovaných pacientů, měřených v období únor-duben, mělo celkem 2,9 % pacientů dostatečnou sérovou hodnotu 25-OHD a 81,1 % hodnotu deficitní.

**Tabulka 14 Četnost nesubstituovaných pacientů s dostatečným zásobením vitamínem D v jednotlivých věkových kategoriích v zimních a letních měsících**

Nesubstituovaní s 25-OHD > 75 nmol/l						
věková kategorie	Min3 (n=1424)		Max3 (n=1300)		p-hodnota testu rozdílu	násobek rozdílu % četností
	%	Počet	%	počet		
45-55 let	2,4	6	27,1	68	< 0,0001	11,4
56-65 let	3,0	15	17,5	78	< 0,0001	5,8
66-75 let	2,9	13	14,8	58	< 0,0001	5,0
> 75 let	3,5	8	3,8	8	<b>n.s.</b> (0,8384)	<b>1,1</b>

Dostatečná sérová hodnota 25-OHD > 75 nmol/l dle Endocrine Society (Holick et al., 2011). Vyjádřena významnost (p-hodnota; n.s. = rozdíl není signifikantní) a míra (násobek rozdílu procent četností) rozdílu četností mezi zimními měsíci (Min3) a letními měsíci (Max3).

Zdroj: vlastní data



**Tabulka 15 Četnost nesubstituovaných pacientů s deficitem vitamínu D v jednotlivých věkových kategoriích v zimních a letních měsících**

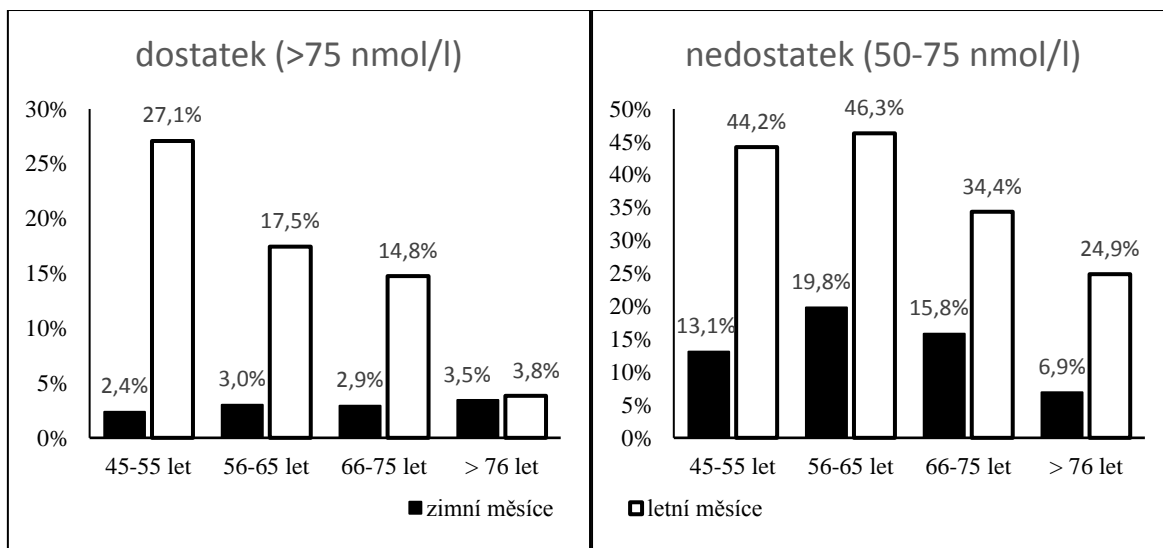
Nesubstituovaní s 25-OHD < 50 nmol/l						
věková kategorie	Min3 (n=1424)		Max3 (n=1300)		p-hodnota testu rozdílu	násobek rozdílu % četností
	%	Počet	%	počet		
45-55 let	83,3	210	28,3	71	< 0,0001	2,9
56-65 let	76,8	383	35,4	158	< 0,0001	2,2
66-75 let	81,2	359	50,4	198	< 0,0001	1,6
> 75 let	88,3	204	70,8	148	< 0,0001	1,2

Deficitní sérová hodnota 25-OHD < 50 nmol/l dle Endocrine Society (Holick et al., 2011). Vyjádřena významnost (*p*-hodnota; n.s. = rozdíl není signifikantní) a míra (násobek rozdílu procent četností) rozdílu četností mezi zimními měsíci (Min3) a letními měsíci (Max3).

Zdroj: vlastní data

Obrázek 15 vlevo jasně demonstruje trend poklesu četnosti dostatečných hladin v závislosti na věku v letních měsících. Tento vliv slunečního záření je největší v nejnižší věkové kategorii. V zimních měsících je četnost prakticky shodná dle věku. Napravo je pak v tomto obrázku zřejmá vyšší četnost pacientů s nedostatkem vitamínu D (50-75 nmol/l) v letních měsících oproti zimním ve všech věkových kategoriích.

**Obrázek 15 Grafické srovnání četnosti dostatku a nedostatku zásobení vitamínem D věkových kategorií, v zimních a letních měsících, u nesubstituovaných**

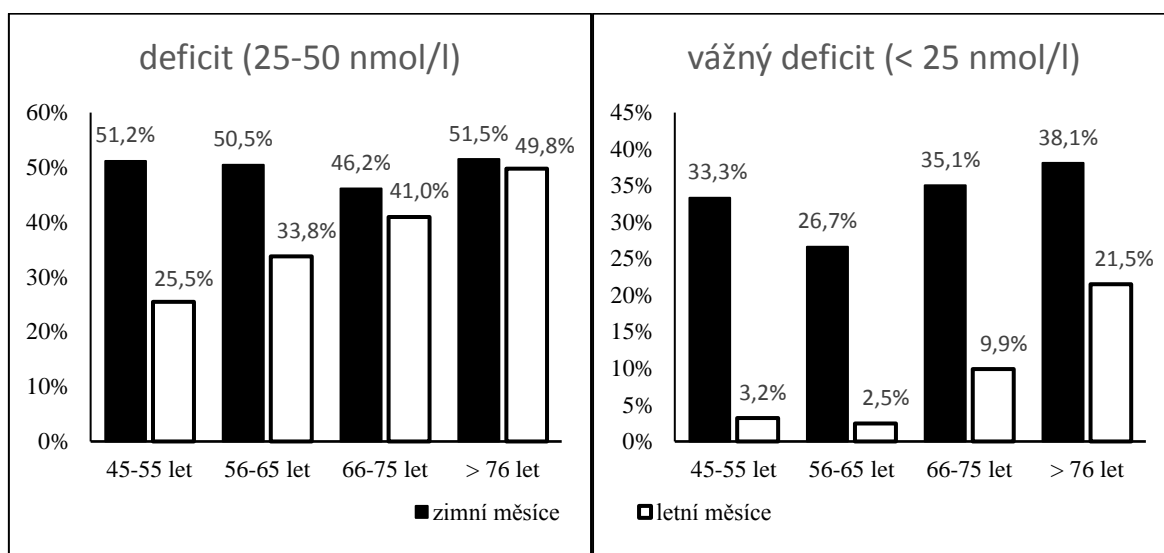


Věkové kategorie (osa x), procentuální zastoupení pacientů (osa y).

Zdroj: vlastní data

Na Obrázek 16 vlevo je jasně pozorovatelný trend nárůstu počtu pacientů s deficitem vitamínu D (25-50 nmol/l) s narůstajícím věkem v letních měsících. Naopak četnost v zimních měsících zůstává prakticky nezměněna. Obdobné trendy lze pozorovat i u skupiny pacientů s vážným deficitem (Obrázek 16 vpravo).

**Obrázek 16 Grafické srovnání četnosti deficitu a vážného deficitu zásobení vitamínem D věkových kategorií, v zimních a letních měsících, u nesubstituovaných pacientů**



Věkové kategorie (osa x), procentuální zastoupení pacientů (osa y).

Zdroj: vlastní data

### 8.6.3 Četnost deficitu a dostatečných hodnot 25-OHD v zimních a letních měsících u substituovaných pacientů

Z pacientů substituovaných vitamínem D má významná část (40,8-55,9 %) v zimních měsících deficitní hodnoty 25-OHD, v letních měsících je tato četnost významně snížena, kromě věkové kategorie nad 75 let. Četnost dostatečných hodnot vitamínu D u substituovaných pacientů je relativně neměnná v letních měsících (20,95-31,34 %), v zimních je významně nižší (5,88-24,85 %). V kategorii nad 75 let se četnosti mezi ročními obdobími statisticky významně neliší, naopak nejvíce se liší v kategorii 45-55 let. Ve sledovaném souboru 396 pacientů, měřených v období únor-duben, mělo 16,9 % dostatečnou sérovou hodnotu 25-OHD, a 81,1 % deficitní hodnotu 25-OHD (viz Tabulka 16 a Tabulka 17). Četnost jednotlivých kategorií zásobení vitamínem D ve skupině substituovaných nelišila jak v letních, tak v zimních měsících (Chi-square test).

**Tabulka 16 Četnost substituovaných pacientů s dostatečným zásobením vitaminem D v jednotlivých věkových kategoriích v zimních a letních měsících**

Substituovaní s 25-OHD > 75 nmol/l						
věková kategorie	Min3 (n=396)		Max3 (n=395)		p-hodnota testu rozdílu	násobek rozdílu % četností
	%	Počet	%	počet		
45-55 let	5,9	2	31,3	11	0,0067	5,33
56-65 let	14,2	17	22,9	24	<b>n.s.</b> (0,0920)	<b>1,61</b>
66-75 let	16,3	23	29,3	44	0,0084	1,80
> 75 let	24,8	25	21,0	22	<b>n.s.</b> (0,5159)	<b>1,18</b>

Dostatečná sérová hodnota 25-OHD > 75 nmol/l dle Endocrine Society (Holick et al., 2011). Vyjádřena významnost (*p*-hodnota; n.s. = rozdíl není signifikantní) a míra (násobek rozdílu procent četností) rozdílu četností mezi zimními měsíci (Min3) a letními měsíci (Max3)

Zdroj: vlastní data

**Tabulka 17 Četnost substituovaných pacientů s deficitem vitaminu D v jednotlivých věkových kategoriích v zimních a letních měsících**

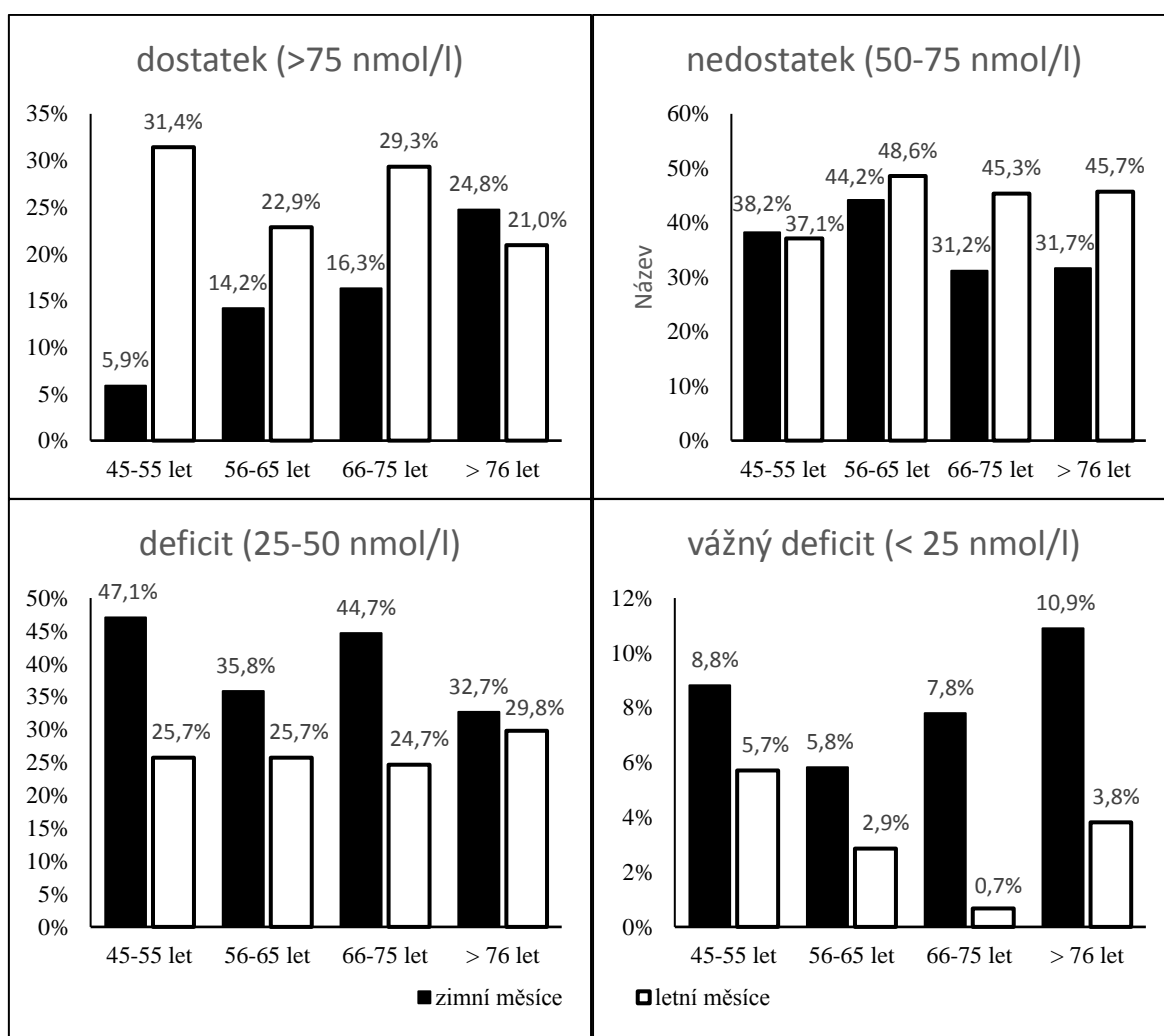
Substituovaní s 25-OHD < 50 nmol/l						
věková kategorie	Min3 (n=396)		Max3 (n=395)		p-hodnota testu rozdílu	násobek rozdílu % četností
	%	Počet	%	počet		
45-55 let	55,9	19	31,4	11	0,0405	1,78
56-65 let	40,9	49	27,6	29	0,0377	1,48
66-75 let	52,5	74	24,7	37	< 0,0001	2,13
> 75 let	43,6	44	32,4	34	<b>n.s.</b> (0,0981)	<b>1,35</b>

Deficitní sérová hodnota 25-OHD < 50 nmol/l dle Endocrine Society (Holick et al., 2011). Vyjádřena významnost (*p*-hodnota; n.s. = rozdíl není signifikantní) a míra (násobek rozdílu procent četností) rozdílu četností mezi zimními měsíci (Min3) a letními měsíci (Max3).

Zdroj: vlastní data

U pacientů substituovaných vitamínem D by se dalo předpokládat, že hodnoty se nebudou lišit mezi zimním a letním obdobím a rovněž tak dle věku. Přesto jsme našli významný trend v počtu pacientů s dostatkem vitamínu v zimních měsících. (Obrázek 17 vlevo nahoře). Je zde patrný trend ve zvyšující se četnosti pacientů s dostatkem vitamínu D se zvyšujícím se věkem. Naopak v kategorii vážného deficitu ubývá v letních měsících četnost pacientů ve věkových kategoriích od 45 do 75 let (Obrázek 17 vpravo dole).

**Obrázek 17 Grafické srovnání četnosti dostatku a nedostatku, deficitu a vážného deficitu zásobení vitamínem D věkových kategorií, v zimních a letních měsících, u substituovaných pacientů**



Věkové kategorie (osa x), procentuální zastoupení pacientů (osa y).

Zdroj: vlastní data

## DISKUZE

Vitaminu D je v posledních desetiletích věnovaná řada publikací. Vitamin D vzniká majoritně účinkem ultrafialového záření v kůži (cholecalciferol), menší část přijímáme ve stravě, a to jako cholecalciferol (vitamin D<sub>3</sub>) nebo ergocalciferol (vitamin D<sub>2</sub>). Obě tyto formy jsou hydroxylovány v játrech na steroidní prohormon 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> nebo D<sub>2</sub>, a definitivně transformován na aktivní hormon 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> a D<sub>2</sub> v ledvinách a valně většině ostatních tkání (Hollis a Wagner, 2013b). Syntéza vitaminu D je ovlivněna schopností kůže vytvářet jeho prekurzor 7-dehydrocholesterol, která s věkem signifikantně klesá (MacLaughlin a Holick, 1985). Dále je tvorba vitaminu D závislá na množství slunečního záření, které významně ubývá v zeměpisných šířkách nad 33°, a tím se i významně snižuje produkce vitaminu D. Jeho dlouhodobý nedostatek vyvolává nejen poruchy kalciofosfátového metabolismu, ale má dopad i na optimální funkci ostatních tkání a orgánů. Proto je intenzivně zkoumán vztah mezi deficitem vitaminu D a řadou v populaci rozšířených chorob, jako je osteoporóza, nádorová onemocnění, autoimunitní onemocnění, diabetes, kardiovaskulární onemocnění (Christakos et al., 2016; Holick et al., 2011; Heaney, 2008).

Nedostatek vitaminu D je v populaci velmi četný, studie uvádějí deficit u 20-80 % populace. V recentní studii, zaměřené na deficit vitaminu D v Evropě, byl zaznamenán 30-60% výskyt deficitu vitaminu D v západní, jižní a východní Evropě (Lips et al., 2019). V České republice je informací o frekvenci deficitu vitaminu D nedostatek. Například Navrátilová (2012) ve své práci uvádí deficitní hodnotu vitaminu D pod 50 nmol/l u 43,3 % (924 z 2132) pacientů. Častější jsou však studie se specifickým výběrem populace, ale také většinou nízkým počtem zařazených pacientů, jako například studie hodnotící stav vitaminu D žen po menopauze s diabetem mellitem typu 2 v počtu 75 pacientek (včetně kontrolních subjektů) (Raška et al., 2016), studie Mayera Jr a kol. (2012) hodnotící 560 pacientů průměrného věku 52 let randomizované populace, nebo práce Žofkové a Hilla (2008) o 47 pacientech. Česká republika se rozkládá mezi 48° a 51° severní šířky, proto se zde hodnoty vitaminu D mohou měnit v závislosti na ročním období odběru, ale i věku, případně pohlaví (Holick et al., 2011). Cílem naší práce bylo ověřit na dostatečně velkém souboru měření možný vliv věku, pohlaví a ročního období na sérové hodnoty 25-OHD.

Celkem jsme analyzovali data 7500 pacientů, z čehož bylo 6545 žen a 955 mužů. Hlavní skupinu tvořili pacienti, kteří v době odběru neužívali více než 200 IU vitaminu D

denně. Tato skupina byla tvořena z 86,2 % ženami a 13,8 % muži, což odpovídá obvyklému složení skupiny pacientů přicházejících k vyšetření do ambulance kostního metabolismu. Menší skupinu tvořily ženy a muži, užívající v době odběru přípravky s obsahem vitaminu D v dávkách překračujících 200 IU denně, kterých bylo 1672 (91,0 % ženy a 9,0 % muži). V první řadě bylo tedy nutné ověřit závislost sérových hodnot 25-OHD na pohlaví, abychom posoudili možný vliv pohlaví. Naše analýza prokázala, že hodnoty mužů a žen se statisticky významně neliší, a naopak testem ekvivalence jsme dokázali, že v rámci chyby stanovení  $\pm 10$  % průměru byly hodnoty 25-OHD mužů a žen ekvivalentní. Závěry studií dostupných v této oblasti jsou kontroverzní, neboť některé studie uvádějí u mužů nižší hodnoty 25-OHD (Sanghera et al., 2017) zatímco některé naopak vyšší, což může být v některých studiích způsobeno krom jiného rozdílným množstvím tukové tkáně mezi pohlavími (Mendes et al., 2018). Doporučení Endocrine Society Guidelines pak rozdílné hodnoty mezi pohlavími nezmiňují (Holick et al., 2011). Z výše zmíněných důvodů jsme nadále ve studii hodnotili obě pohlaví dohromady.

Tak jak se dalo předpokládat, u pacientů substituovaných vitaminem D jsme pozorovali vyšší hodnoty 25-OHD oproti těm, kteří vitamin D neužívají. V celé naší analyzované skupině substituovaných však mělo 75 % pacientů hodnoty 25-OHD do 73 nmol/l. Na tomto faktu se může podílet například nižší compliance pacientů, nebo obezita kombinovaná s nedostatečnou dávkou vitaminu D (Gallagher et al., 2012; Gallagher, 2013; Sadiya et al., 2016). Jak uvádí Pilz a kol. (2019) ve svém přehledovém článku, příjem vitaminu D v dávce 100 IU denně může být spojován s navýšením sérové hodnoty 25-OHD o 2,5-5 nmol/l, tedy dávky 200-400 IU nemohou normalizovat stav pacientů v deficitu vitaminu D (tj. s hodnotami 25-OHD pod 50 nmol/l).

Dále jsme se v naší analýze pokusili zhodnotit vliv věku pacientů v době odběru na hodnoty vitaminu D. Nalezli jsme pouze slabou korelaci, kdy hodnoty s věkem mírně klesaly. Tento očekávaný efekt souvisí se snižováním schopnosti tvorby vitaminu D ze 7-dehydrocholesterolu v kůži s rostoucím věkem (MacLaughlin a Holick, 1985). Tento efekt se nám nepodařilo prokázat, a domníváme se, že i kvůli vysoké frekvenci deficitních hodnot jak ve starším věku, tak v mladším věku (Obrázek 7), ale i možným vlivem ročního období (Hansen et al., 2018; Aydın et al., 2019). Proto jsme se dále věnovali vyhodnocení vlivu ročního období na hodnoty 25-OHD.

Vzhledem k tomu, že vliv ročního období a tím i množství slunečního záření může zcela zásadně ovlivnit hodnoty 25-OHD, stejně tak jako věk v době odběru (MacLaughlin a

Holick, 1985; Hansen et al., 2018), hodnotili jsme hladiny vitamínu D v jednotlivých měsících roku odděleně ve čtyřech věkových kategoriích. Vyšší příjem či substituce vitamínem D tyto sezonní rozdíly může maskovat (O'Neill et al., 2016), a proto jsme tento vliv hodnotili odděleně u skupiny nesubstituovaných a substituovaných pacientů. Ve věkové kategorii 45-55 let byl zřejmý bifázický charakter spojnice mediánů sérových hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících, s minimálními hodnotami v období únor-duben a maximem od července do září. Hodnoty mediánů se v této věkové kategorii od července až do listopadu mezi skupinami nesubstituovaných a substituovaných významně nelišily, což si vysvětlujeme silnějším efektem slunečního záření v této věkové kategorii a ve skupině substituovaných pravděpodobně nižší compliance k substituci vitamínu D. Data u nesubstituovaných odpovídají zjištěním sezonního vlivu na hodnotu vitamínu D v dánské a americké studii (Hansen et al., 2018; Rosecrans a Dohnal, 2014). V dalších věkových kategoriích, tj. 56-65 a 66-75 let, je sice zachován bifázický charakter křivky u skupin nesubstituovaných pacientů, ale s postupně se snižující amplitudou, což si vysvětlujeme snižující se schopností kůže syntetizovat vitamin D s rostoucím věkem. Tak jak se snižovala amplituda, zvyšovaly se rozdíly v mediánech mezi nesubstituovanými a substituovanými, především v letních měsících. Ve věkové kategorii nad 75 let již mediány hodnot 25-OHD v jednotlivých měsících u nesubstituovaných vykazují minimální amplitudu, s největším rozdílem mediánů 14,2 nmol/l (únor proti říjnu), kdežto u kategorie 45-55 let tento rozdíl činil 36,0 nmol/l (březen proti srpnu). Z toho vyvozujeme, že vliv slunce v kategorii nad 75 let věku byl sice statisticky významný, ale minimální.

V rámci tohoto pozorování jsme identifikovali tři po sobě jdoucí měsíce s nejnižšími hodnotami (únor, březen a duben, v práci nazývané zimní měsíce) a tři po sobě jdoucí měsíce s nejvyššími hodnotami 25-OHD (červenec, srpen, září, v práci nazývané letní měsíce). U nesubstituovaných se mediány v zimních a letních měsících vždy významně lišily v jednotlivých věkových kategoriích, největších rozdílů bylo dosaženo v kategorii 45-55 let (28 nmol/l) a nejmenších v kategorii nad 75 let (11,5 nmol/l) což si vysvětlujeme vlivem věku na schopnost syntézy vitamínu D v kůži, stejně tak jako možnou změnou chování u pacientů nad 75 let věku, kteří obvykle méně vyhledávají sluneční záření. Obdobný rozdíl mediánů byl zachován i u substituovaných pacientů v kategorii 45-55 a 56-65 let, ale nebyl již patrný v kategorii nad 75 let, kde se mediány zimních a letních měsíců nelišily, tedy vliv slunečního záření byl minimalizován užívanou substitucí (O'Neill et al., 2016). Provedli jsme porovnání mediánů hodnot jednotlivých věkových kategorií mezi sebou v rámci

zimních měsíců a letních měsíců u nesubstituovaných pacientů, a našli jsme prakticky shodné hodnoty v zimních měsících a výrazné rozdíly v letních měsících, s nejvyššími hodnotami v kategorii 45-55 let. To dle našeho názoru jasně demonstruje silný vliv ročního období a věku v letních měsících, a prakticky nezávislost hodnot 25-OHD na věku v zimních měsících. Domníváme se tedy, že vliv slunečního osvětlení je významný a zároveň jeho význam klesá s narůstajícím věkem, tak jak klesá schopnost syntézy vitamínu D ze 7-DHC v kůži (MacLaughlin a Holick, 1985; Rosecrans a Dohnal, 2014; Leary et al., 2017). Naopak v kategorii substituovaných se hodnoty v zimních a letních měsících neliší, ačkoli jsou vždy významně vyšší než hodnoty v zimních a v letních měsících u nesubstituovaných pacientů, což svědčí o tom, že suplementace vitamínu D má efekt a zvyšuje hodnoty 25-OHD v séru, a zároveň omezuje vliv ročního období.

V celém analyzovaném souboru jsme identifikovali u 65 % pacientů bez substituce vitamínem D deficit vitamínu D a u pouhých 8 % dostatečné zásobení vitamínem D. Tento nález je ve shodě s recentní rakouskou studií (tedy v nám geograficky blízké zemi), kde deficitní hladinu mělo 64 % žen a 63 % mužů ve věku 65-80 let (Elmadfa et al., 2017). Ve skupině substituovaných pacientů jsme bohužel identifikovali 37 % pacientů s deficitem vitamínu D a pouze 22 % s dostatečnou hodnotou 25-OHD v séru. To si vysvětlujeme užíváním obvyklých nízkých dávek v kombinovaných preparátech, tj. 200-400 IU denně, s absencí znalosti aktuálního stavu zásobení organismu vitamínem D, a dále také nedodrženou nutností individualizovat dávky vitamínu D s ohledem na BMI a případnou předpokládanou kompliance. Hladina vitamínu D v séru je tedy závislá na dávce, délce užívání vitamínu D, BMI a kompliance pacienta jako hlavních faktorech, a teprve dávky mezi 1000-1600 IU denně zaručují dostatečnou hladinu vitamínu D (Gallagher et al., 2012).

V podkapitole 8.5 jsme prokázali významný vliv sezony, tj. měsíce odběru, na sérové hodnoty 25-OHD. Tento vliv může zásadně ovlivnit četnost nedostatečných i dostatečných hladin vitamínu D, a to především u nesubstituované populace (Greene-Finestone et al., 2011; Hill et al., 2016; Hansen et al., 2018). V námi sledované skupině nesubstituovaných pacientů mělo v zimních měsících dostatečnou sérovou hodnotu 25-OHD (nad 75 nmol/l) 2,4-3,5 % pacientů v jednotlivých věkových kategoriích, a zároveň 76,8-88,3 % mělo v tomto období deficit vitamínu D (méně 25-OHD než 50 nmol/l). V letních měsících s klesajícím věkem rostl podíl pacientů s dostatečnými hodnotami, a naopak klesal podíl pacientů s deficitními hodnotami 25-OHD v séru. Tyto trendy jasně prokazují vliv ročního období, tedy osvětlení slunce, a je nutné na ně brát ohled při zjišťování frekvence deficitu



vitaminu D, což je v souladu s pracemi Greene-Finestona et al. (2011), Rabenberga et al., (2015) a Hilla et al., (2016). U substituovaných pacientů, v souladu s předchozími nálezy v kapitole 8.5, je rozdíl v četnostech mezi zimními a letními měsíci významný jen v některých věkových kategoriích. Zajímavý je zvyšující se počet dostatečně zásobených pacientů s věkem, stejně tak jako trend ke snižující se četnosti pacientů deficitních, což si vysvětlujeme především lepší compliance u starších pacientů se substitucí než v mladších věkových kategoriích. To také vysvětluje, že ve věkové kategorii nad 75 let se četnosti jak deficitních, tak dostatečných hodnot 25-OHD neliší mezi letními a zimními měsíci.

## ZÁVĚR

V této práci se podařilo naplnit stanovený cíl práce, tedy zhodnotit možný vliv věku, pohlaví, ročního období a substituce vitamínem D na výskyt hypovitaminózy D v populaci pacientů osteologické ambulance v klatovském regionu. V souladu s tím jsme zodpověděli všechny výzkumné problémy (otázky).

Přesto že je celosvětově diskutována problematika nedostatečnosti vitamínu D v populaci a jejího významu, tak v České republice nebyly dosud publikovány studie dostatečně velkých souborů ať rizikových či obecných populací. Populace pacientů přicházejících do kostní ambulance patří mezi rizikové, převahu v ní tvoří ženy. Tato práce je zcela unikátní velikostí zpracovaného souboru a v dané rizikové skupině ještě nebyla zpracována. Zároveň jsme dokázali vyhodnotit i podskupinu pacientů, kteří přicházeli již se substitucí vitamínem D a mohli jsme tak zhodnotit efektivitu této substituce.

Prokázali jsme, že nejsou rozdíly mezi pohlavími nad 45 let v sérových hodnotách 25-OHD. Prokázali jsme pouze slabou korelaci věku s hodnotami 25-OHD, což je způsobeno tím, že vliv věku se projevuje pouze v letních měsících, a to postupným snižováním schopnosti syntézy s rostoucím věkem. Jednoznačně lze tento vliv pozorovat v kategorii nad 75 let věku. Dále jsme prokázali, že roční období v době odběru významně ovlivňuje měřené hodnoty, a to nejvíce v mladších věkových kategoriích (45-65 let) a nejméně v kategorii nad 75 let věku. Identifikovali jsme tři zimní měsíce (únor, březen, duben), ve kterých jsou hladiny 25-OHD v séru nejnižší, jsou minimálně ovlivněny slunečním svitem a nevykazují rozdíly mezi věkovými skupinami. Z výše uvedeného vyplývá, že další případné studie, zjišťující stav zásobení vitamínem D ať v populaci či v rizikových skupinách by měly být prováděny v období od února do dubna. V námi hodnoceném souboru mělo v těchto měsících deficitní hladinu vitamínu D (tedy sérovou hodnotu 25-OHD < 50 nmol/l) 81,1 % pacientů, kteří neužívali žádnou substituci vitamínu D. Ve skupině pacientů, kteří přijímali minimálně 200 IU vitamínu D denně ve formě léčivých přípravků, mělo deficitní hodnoty vitamínu D v měsících od února do dubna 46,9 % pacientů. Musíme konstatovat, že deficit vitamínu D byl v námi sledované populaci extrémně častý – 4 z 5 pacientů. Zároveň skoro každý druhý pacient, který uvádí při odběru vstupní anamnézy substituci vitamínem D, má taktéž deficitní hodnoty vitamínu D.

Dostatečných hodnot vitamínu D (sérových hodnot 25-OHD > 75 nmol/l) dosahuje v zimních měsících pouze 2,9 % pacientů bez substituce vitamínem D, a bohužel také pouhých 16,9 % pacientů, kteří v době prvního vyšetření na osteologickém pracovišti vitamín D užívali.

Z naší práce vyplývá, že deficit vitamínu D je významný celospolečenský problém v České republice v populaci nad 45 let věku a jistě stojí za úvahu plošné informování veřejnosti o nutnosti pravidelného užívání vitamínu D, úprava doporučených dávek, a případně zvážení fortifikace potravin. Stanovení vitamínu D by mělo být optimálně prováděno v období únor až duben. V opačném případě je nutné – minimálně v měsících od července do září – při interpretaci výsledků zohlednit přítomnost vlivu slunečního osvětlení u pacientů do věku 75 let, a taktéž si být vědomi faktu, že v následujících měsících dojde k poklesu hladin vitamínu D o 20-30 nmol/l.

Stanovení hladin 25-OHD v séru je nezbytným pomocníkem ve zjištění stavu zásobení organismu vitamínem D. Vzhledem k obrovské frekvenci deficitních hodnot vitamínu D je možné zahájit substituci vitamínem D v obvyklých dávkách 1000-2000 IU denně bez ohledu na znalost aktuální hodnoty 25-OHD, absence této znalosti ale neumožní individualizovaný přístup k substituční dávce v závislosti na míře deficitu. Z analýzy dat substituovaných pacientů však jednoznačně vyplývá, že je nutné provádět monitoraci hodnot vitamínu D optimálně ve stejném ročním období, neboť dávkování, compliance pacienta, nevhodné užívání vitamínu D a mnohé další faktory vedou k tomu, že pouze malá část substituované populace bude mít dostatečné hladiny vitamínu D.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AYDIN, Canan Gönen, Yaşar Mahsut DINÇEL, Yavuz ARIKAN, Süleyman Kasım TAŞ a Serdar DENİZ. 2019. The effects of indoor and outdoor sports participation and seasonal changes on vitamin D levels in athletes. *SAGE Open Medicine* [online]. **7** [cit. 2019-03-23]. ISSN 2050-3121. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/2050312119837480>

BAILEY, Dana, Kika VELJKOVIC, Mehrdad YAZDANPANAHA a Khosrow ADELI. 2013. Analytical measurement and clinical relevance of vitamin D3 C3-epimer. *Clinical Biochemistry* [online]. **46**(3), 190–196. ISSN 0009-9120. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.10.037>

BIKLE, D D, E GEE, B HALLORAN a J G HADDAD. 1984. Free 1,25-dihydroxyvitamin D levels in serum from normal subjects, pregnant subjects, and subjects with liver disease. *Journal of Clinical Investigation* [online]. **74**(6), 1966–1971. ISSN 0021-9738. Dostupné z: <https://doi.org/10.1172/JCI111617>

BIKLE, D D, B P HALLORAN, E GEE, E RYZEN a J G HADDAD. 1986. Free 25-hydroxyvitamin D levels are normal in subjects with liver disease and reduced total 25-hydroxyvitamin D levels. *Journal of Clinical Investigation*. **78**(3), 748–752. ISSN 0021-9738.

BIKLE, Daniel. 2009. Nonclassic Actions of Vitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* [online]. **94**(1), 26–34. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1454>

CACCAMO, Daniela, Sergio RICCA, Monica CURRÒ a Riccardo IENTILE. 2018. Health Risks of Hypovitaminosis D: A Review of New Molecular Insights. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **19**(3), 892. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms19030892>

CASHMAN, Kevin D., Ellen GHM VAN DEN HEUVEL, Ruud JW SCHOEMAKER, Damien P. PRÉVÉRAUD, Helen M. MACDONALD a Jayashree ARCOT. 2017. 25-Hydroxyvitamin D as a Biomarker of Vitamin D Status and Its Modeling to Inform Strategies for Prevention of Vitamin D Deficiency within the Population. *Advances in Nutrition* [online]. **8**(6), 947–957. ISSN 2161-8313. Dostupné z: <https://doi.org/10.3945/an.117.015578>

DALLE CARBONARE, Luca, Maria Teresa VALENTI, Francesco DEL FORNO, Elena CANEVA a Angelo PIETROBELLI. 2017. Vitamin D: Daily vs. Monthly Use in Children and Elderly—What Is Going On? *Nutrients* [online]. **9**(7), 652. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu9070652>

DALLE CARBONARE, Luca, Maria Teresa VALENTI, Francesco DEL FORNO, Giorgio PIACENTINI a Angelo PIETROBELLI. 2018. Vitamin D Daily versus Monthly Administration: Bone Turnover and Adipose Tissue Influences. *Nutrients* [online]. **10**(12), 1934. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu10121934>

DANKERS, Wendy, Edgar M. COLIN, Jan Piet VAN HAMBURG a Erik LUBBERTS. 2017. Vitamin D in Autoimmunity: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Frontiers in Immunology* [online]. **7** [cit. 2019-03-05]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00697>

DE ANGELIS, Cristina, Mariano GALDIERO, Claudia PIVONELLO, Francesco GARIFALOS, Davide MENAFRA, Federica CARIATI, Ciro SALZANO, Giacomo GALDIERO, Mariangela PISCOPO, Alfonso VECE, Annamaria COLAO a Rosario PIVONELLO. 2017. The role of vitamin D in male fertility: A focus on the testis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* [online]. **18**(3), 285–305. ISSN 1573-2606. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11154-017-9425-0>

DIASORIN. 2016. *LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Assay (REF 310600)*. Stillwater, USA: DiaSorin Inc. Příbalová informace CS – 46839 - 2016-08.

DIDRIKSEN, Allan, Anders BURILD, Jette JAKOBSEN, Ole Martin FUSKEVÅG a Rolf JORDE. 2015. Vitamin D3 increases in abdominal subcutaneous fat tissue after supplementation with vitamin D3. *European Journal of Endocrinology* [online]. **172**(3), 235–241. ISSN 0804-4643, 1479-683X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1530/EJE-14-0870>

DIRKS, Niek F., Mariëtte T. ACKERMANS, Paul LIPS, Renate T. DE JONGH, Marc G. VERVLOET, Robert DE JONGE a Annemieke C. HEIJBOER. 2018. The When, What & How of Measuring Vitamin D Metabolism in Clinical Medicine. *Nutrients* [online]. **10**(4) [cit. 2019-01-30]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu10040482>

DOHNAL, Vlastimil, Alena JEŽKOVÁ a Jiří SKLÁDANKA. 2008. ERGOSTEROL: KLÍČOVÝ STEROID HUB. *Kontakt - časopis pro ošetrovatelství a sociální vědy ve zdraví a nemoci*. **10**(2), 6. ISSN 1804-7122.

DS SOFT. 2019. *Envis® LIMS*. Olomouc: DS Soft Olomouc, spol. s r. o. Laboratorní informační systém.

EL-KHOURY, Joe M., Edmunds Z. REINEKS a Sihe WANG. 2011. Progress of liquid chromatography-mass spectrometry in measurement of vitamin D metabolites and analogues. *Clinical Biochemistry* [online]. **44**(1), Mass Spectrometry in Laboratory Medicine, 66–76. ISSN 0009-9120. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2010.05.007>

ELMADFA, I, AL MEYER, D WOTTAWA, K WAGNER a V HASENEGGER. 2017. Vitamin D Intake and Status in Austria and Its Effects on Some Health Indicators. *Austin Journal of Nutrition & Metabolism*. **4**(2), 1050.

GALIOR, Kornelia, Hemamalini KETHA, Stefan GREBE a Ravinder J SINGH. 2018. 10 years of 25-hydroxyvitamin-D testing by LC-MS/MS-trends in vitamin-D deficiency and sufficiency. *Bone Reports* [online]. **8**, 268–273. ISSN 2352-1872. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2018.05.003>

GALLAGHER, J. Christopher. 2013. Vitamin D and Aging. *Endocrinology and metabolism clinics of North America* [online]. **42**(2), 319–332. ISSN 0889-8529. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.02.004>

GALLAGHER, J Christopher, Adarsh SAI, Thomas Templin II a Lynette SMITH. 2012. Dose Response to Vitamin D Supplementation in Postmenopausal Women. 17.

GREENE-FINESTONE, L. S., C. BERGER, M. DE GROH, D. A. HANLEY, N. HIDIROGLOU, K. SARAFIN, S. POLIQUIN, J. KRIEGER, J. B. RICHARDS, D. GOLTZMAN a CAMOS RESEARCH GROUP. 2011. 25-Hydroxyvitamin D in Canadian adults: biological, environmental, and behavioral correlates. *Osteoporosis International* [online]. **22**(5), 1389–1399. ISSN 1433-2965. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00198-010-1362-7>

HANSEN, Louise, Anne TJØNNELAND, Brian KØSTER, Christine BROT, Rikke ANDERSEN, Arie S. COHEN, Kirsten FREDERIKSEN a Anja OLSEN. 2018. Vitamin D Status and Seasonal Variation among Danish Children and Adults: A Descriptive Study. *Nutrients* [online]. **10**(11), 1801. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu10111801>

HEANEY, R. P. 2008. Vitamin D in Health and Disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* [online]. **3**(5), 1535–1541. ISSN 1555-9041, 1555-905X. Dostupné z: <https://doi.org/10.2215/CJN.01160308>

HERRMANN, Markus, Christopher-John L. FARRELL, Irene PUSCEDDU, Neus FABREGAT-CABELLO a Etienne CAVALIER. 2016. Assessment of vitamin D status – a changing landscape. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. **55**(1), 3–26. ISSN 1434-6621. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0264>

HILL, T. R., A. GRANIC, K. DAVIES, J. COLLERTON, C. MARTIN-RUIZ, M. SIERVO, J. C. MATHERS, A. J. ADAMSON, R. M. FRANCIS, S. H. PEARCE, S. RAZVI, T. B. L. KIRKWOOD a C. JAGGER. 2016. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and its determinants in the very old: the Newcastle 85+ Study. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* [online]. **27**(3), 1199–1208. ISSN 1433-2965. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00198-015-3366-9>

HOLICK, M. F., H. K. SCHNOES, H. F. DELUCA, T. SUDA a R. J. COUSINS. 1971. Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry* [online]. **10**(14), s. 2799-2804. ISSN 0006-2960. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/bi00790a023>

HOLICK, Michael F. 2009. VITAMIN D STATUS: MEASUREMENT, INTERPRETATION AND CLINICAL APPLICATION. *Annals of epidemiology* [online]. **19**(2), 73–78. ISSN 1047-2797. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2007.12.001>

HOLICK, Michael F., Neil C. BINKLEY, Heike A. BISCHOFF-FERRARI, Catherine M. GORDON, David A. HANLEY, Robert P. HEANEY, M. Hassan MURAD a Connie M. WEAVER. 2011. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. **96**(7), 1911–1930. ISSN 0021-972X, 1945-7197. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0385>

HOLICK, Michael F., Tai C. CHEN, Zhiren LU a Edward SAUTER. 2007. Vitamin D and Skin Physiology: A D-Lightful Story. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. **22**(S2), V28–V33. ISSN 1523-4681. Dostupné z: <https://doi.org/10.1359/jbmr.07s211>

HOLLIS, Bruce W. a Carol L. WAGNER. 2013a. The Role of the Parent Compound Vitamin D with Respect to Metabolism and Function: Why Clinical Dose Intervals Can Affect Clinical Outcomes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. **98**(12), 4619–4628. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2653>

HOLLIS, Bruce W. a Carol L. WAGNER. 2013b. The Role of the Parent Compound Vitamin D with Respect to Metabolism and Function: Why Clinical Dose Intervals Can Affect Clinical Outcomes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. **98**(12), 4619–4628. ISSN 0021-972X, 1945-7197. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2653>

CHRISTAKOS, Sylvia, Puneet DHAWAN, Annemieke VERSTUYF, Lieve VERLINDEN a Geert CARMELIET. 2016. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiological Reviews* [online]. **96**(1), 365–408. ISSN 0031-9333. Dostupné z: <https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2015>

CHUN, Rene F., Bradford E. PEERCY, Eric S. ORWOLL, Carrie M. NIELSON, John S. ADAMS a Martin HEWISON. 2014. Vitamin D and DBP: The free hormone hypothesis revisited. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* [online]. **144PA**, 132–137. ISSN 0960-0760. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.09.012>

INTERNATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION. 2017. *Vitamin D status around the world* [online]. [mapa]. International Osteoporosis Foundation (IOF). [cit. 2019-03-18]. Dostupné z: <https://www.iofbonehealth.org/facts-and-statistics/vitamin-d-studies-map>

JOHNSEN, Martin S., Guri GRIMNES, Yngve FIGENSCHAU, Peter A. TORJESEN, Bjørg ALMÅS a Rolf JORDE. 2014. Serum free and bio-available 25-hydroxyvitamin D correlate better with bone density than serum total 25-hydroxyvitamin D. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* [online]. **74(3)**, 177–183. ISSN 1502-7686. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/00365513.2013.869701>

KAMAO, Maya, Syuichiro TATEMATSU, Susumi HATAKEYAMA, Toshiyuki SAKAKI, Natsumi SAWADA, Kuniyo INOUE, Keiichi OZONO, Noboru KUBODERA, G. Satyanarayana REDDY a Toshio OKANO. 2004. C-3 Epimerization of Vitamin D<sub>3</sub> Metabolites and Further Metabolism of C-3 Epimers 25-HYDROXYVITAMIN D<sub>3</sub> IS METABOLIZED TO 3-EPI-25-HYDROXYVITAMIN D<sub>3</sub> AND SUBSEQUENTLY METABOLIZED THROUGH C-1 $\alpha$  OR C-24 HYDROXYLATION. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **279(16)**, 15897–15907. ISSN 0021-9258, 1083-351X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1074/jbc.M311473200>

KAUFMANN, Martin, J. Christopher GALLAGHER, Munro PEACOCK, Karl-Peter SCHLINGMANN, Martin KONRAD, Hector F. DELUCA, Rita SIGUEIRO, Borja LOPEZ, Antonio MOURINO, Miguel MAESTRO, René ST-ARNAUD, Joel S. FINKELSTEIN, Donald P. COOPER a Glenville JONES. 2014. Clinical Utility of Simultaneous Quantitation of 25-Hydroxyvitamin D and 24,25-Dihydroxyvitamin D by LC-MS/MS Involving Derivatization With DMEQ-TAD. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* [online]. **99(7)**, 2567–2574. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/jc.2013-4388>

KOCAK, Fatma Emel, Bahadır OZTURK, Ozben Ozden ISIKLAR, Ozlem GENÇ, Ali UNLU a Irfan ALTUNTAS. 2015. A comparison between two different automated total 25-hydroxyvitamin D immunoassay methods using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biochemia Medica* [online]. **25(3)**, 430–438. Dostupné z: <https://doi.org/10.11613/BM.2015.044>

LEARY, Patrick F., Ina ZAMFIROVA, Johnathan AU a Ward H. MCCRACKEN. 2017. Effect of Latitude on Vitamin D Levels. *The Journal of the American Osteopathic Association* [online]. **117(7)**, 433–439. ISSN 0098-6151. Dostupné z: <https://doi.org/10.7556/jaoa.2017.089>



LIPS, Paul, Kevin D. CASHMAN, Christel LAMBERG-ALLARDT, Heike Annette BISCHOFF-FERRARI, Barbara OBERMAYER-PIETSCH, Maria Luisa BIANCHI, Jan STEPAN, Ghada El-Hajj FULEIHAN a Roger BOUILLON. 2019. Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European Calcified Tissue Society. *European Journal of Endocrinology* [online]. **180**(4), P23–P54. ISSN 0804-4643, 1479-683X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1530/EJE-18-0736>

MACLAUGHLIN, Julia a Michael F HOLICK. 1985. Aging Decreases the Capacity of Human Skin to Produce Vitamin D3. *The Journal of Clinical Investigation* [online]. **4**(76), 1536–1538. Dostupné z: <https://doi.org/10.1172/JCI112134>

MALLARD, Simonette R., Anna S. HOWE a Lisa A. HOUGHTON. 2016. Vitamin D status and weight loss: a systematic review and meta-analysis of randomized and nonrandomized controlled weight-loss trials. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **104**(4), 1151–1159. ISSN 0002-9165. Dostupné z: <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.136879>

MAWER, E. Barbara, Joan BACKHOUSE, Carlene A. HOLMAN, G. A. LUMB a S. W. STANBURY. 1972. The Distribution and Storage of Vitamin D and its Metabolites in Human Tissues. *Clinical Science* [online]. **43**(3), 413–431. ISSN 0143-5221, 1470-8736. Dostupné z: <https://doi.org/10.1042/cs0430413>

MAYER JR, O., J. FILIPOVSKÝ, J. SEIDLEROVÁ, J. VANĚK, M. DOLEJŠOVÁ, J. VRZALOVÁ a R. CÍFKOVÁ. 2012. The association between low 25-hydroxyvitamin D and increased aortic stiffness. *Journal of Human Hypertension* [online]. **26**(11), 650–655. ISSN 1476-5527. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/jhh.2011.94>

MENDES, J., A. SANTOS, N. BORGES, C. AFONSO, P. MOREIRA, P. PADRÃO, R. NEGRÃO a T. F. AMARAL. 2018. Vitamin D status and functional parameters: A cross-sectional study in an older population. *PLoS ONE* [online]. **13**(8) [cit. 2019-03-21]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201840>

MICROSOFT. 2016. *Microsoft Excel*. Albuquerque, NM, USA: Microsoft Corporation. Tabulkový procesor.

MURRAY, Robert K., Daryl K. GRANNER, Peter A. MAYES a Victor W. RODWELL. 2002. *Harperova Biochemie*. 23. vyd., (4. české vyd.). Jinočany: H&H. ISBN 80-7319-013-3.

NAVRÁTILOVÁ, Marcela. 2012. *Hladina Vitamínu D v české populaci a její kolísání v průběhu roku*. Brno. Bakalářská práce. Masarykova univerzita.

NECHAMA, H., D. HOFF, A. HARELL a S. EDELSTEIN. 1977. The intestinal absorption of vitamin D and its metabolites. *Journal of Molecular Medicine*. (2), 413–422. ISSN 0946-2716.

NOBEL MEDIA AB. 2018. Adolf Windaus - Bibliographical. *NobelPrize.org* [online] [cit. 2018-09-18]. Dostupné z: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1928/windaus/biographical/>

O'NEILL, Colette M., Andreas KAZANTZIDIS, Mary J. RYAN, Niamh BARBER, Christopher T. SEMPOS, Ramon A. DURAZO-ARVIZU, Rolf JORDE, Guri GRIMNES, Gudny EIRIKSDOTTIR, Vilmundur GUDNASON, Mary Frances COTCH, Mairead KIELY, Ann R. WEBB a Kevin D. CASHMAN. 2016. Seasonal Changes in Vitamin D-Effective UVB Availability in Europe and Associations with Population Serum 25-Hydroxyvitamin D. *Nutrients* [online]. **8**(9) [cit. 2019-03-25]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu8090533>

PEKKINEN, Minna, Elisa SAARNIO, Heli T. VILJAKAINEN, Elina KOKKONEN, Jette JAKOBSEN, Kevin CASHMAN, Outi MÄKITIE a Christel LAMBERG-ALLARDT. 2014. Vitamin D Binding Protein Genotype Is Associated with Serum 25-Hydroxyvitamin D and PTH Concentrations, as Well as Bone Health in Children and Adolescents in Finland. *PLOS ONE* [online]. **9**(1), e87292. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087292>

PIKE, J. Wesley, Mark B. MEYER, Nancy A. BENKUSKY, Seong Min LEE, Hillary ST. JOHN, Alex CARLSON, Melda ONAL a Sohel SHAMSUZZAMAN. 2016. Genomic Determinants of Vitamin D-Regulated Gene Expression. *Vitamins and hormones* [online]. **100**, 21–44. ISSN 0083-6729. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2015.10.011>

PILZ, Stefan, Armin ZITTERMANN, Christian TRUMMER, Verena THEILER-SCHWETZ, Elisabeth LERCHBAUM, Martin H. KEPPEL, Martin R. GRÜBLER, Winfried MÄRZ a Marlene PANDIS. 2019. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence. *Endocrine Connections* [online]. **8**(2), R27–R43. ISSN 2049-3614, 20493614. Dostupné z: <https://doi.org/10.1530/EC-18-0432>

RABENBERG, Martina, Christa SCHEIDT-NAVE, Markus A. BUSCH, Nina RIECKMANN, Birte HINTZPETER a Gert B.M. MENSINK. 2015. Vitamin D status among adults in Germany – results from the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1). *BMC Public Health* [online]. **15**(1), 641. ISSN 1471-2458. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12889-015-2016-7>

RAŠKA, Ivan, Mária RAŠKOVÁ, Vít ZIKÁN a Jan ŠKRHA. 2016. High Prevalence of Hypovitaminosis D in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes Mellitus. *Prague Medical Report* [online]. **117**(1), 5–17. ISSN 1214-6994, 2336-2936. Dostupné z: <https://doi.org/10.14712/23362936.2016.1>

REDDY, G. Satyanarayana a Kou Yi TSERNG. 1989. Calcitroic acid, end product of renal metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D3 through the C-24 oxidation pathway. *Biochemistry* [online]. **28**(4), 1763–1769. ISSN 0006-2960. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/bi00430a051>

REJNMARK, Lars, Lise Sofie BISLEV, Kevin D. CASHMAN, Gudny EIRÍKSDOTTIR, Martin GAKSCH, Martin GRÜBLER, Guri GRIMNES, Vilmundur GUDNASON, Paul LIPS, Stefan PILZ, Natasja M. VAN SCHOOR, Mairead KIELY a Rolf JORDE. 2017. Non-skeletal health effects of vitamin D supplementation: A systematic review on findings from meta-analyses summarizing trial data. *PLoS ONE* [online]. **12**(7) [cit. 2019-03-26]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180512>

ROSECRANS, Robert a James C. DOHNAL. 2014. Seasonal vitamin D changes and the impact on health risk assessment. *Clinical Biochemistry* [online]. **47**(7), 670–672. ISSN 0009-9120. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.02.004>

ROSEN, Clifford J., John S. ADAMS, Daniel D. BIKLE, Dennis M. BLACK, Marie B. DEMAY, JoAnn E. MANSON, M. Hassan MURAD a Christopher S. KOVACS. 2012. The Nonskeletal Effects of Vitamin D: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews* [online]. **33**(3), 456–492. ISSN 0163-769X, 1945-7189. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/er.2012-1000>

RUSIŃSKA, Agnieszka, Paweł PŁUDOWSKI, Mieczysław WALCZAK, Maria K. BORSZEWSKA-KORNACKA, Artur BOSSOWSKI, Danuta CHLEBNA-SOKÓŁ, Justyna CZECH-KOWALSKA, Anna DOBRZAŃSKA, Edward FRANEK, Ewa HELWICH, Teresa JACKOWSKA, Maria A. KALINA, Jerzy KONSTANTYNOWICZ, Janusz KSIĄŻYK, Andrzej LEWIŃSKI, Jacek ŁUKASZKIEWICZ, Ewa MARCINOWSKA-SUCHOWIERSKA, Artur MAZUR, Izabela MICHAŁUS, Jarosław PEREGUD-POGORZELSKI, Hanna ROMANOWSKA, Marek RUCHAŁA, Piotr SOCHA, Mieczysław SZALECKI, Mirosław WIELGOŚ, Danuta ZWOLIŃSKA a Arkadiusz ZYGMUNT. 2018. Vitamin D Supplementation Guidelines for General Population and Groups at Risk of Vitamin D Deficiency in Poland—Recommendations of the Polish Society of Pediatric Endocrinology and Diabetes and the Expert Panel With Participation of National Specialist Consultants and Representatives of Scientific Societies—2018 Update. *Frontiers in Endocrinology* [online]. **9** [cit. 2019-03-04]. ISSN 1664-2392. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00246>

SADIYA, Amena, Solafa M. AHMED, Martin CARLSSON, Yohannes TESFA, Mary GEORGE, Samia H. ALI, Hisham H. SIDDIQ a Salah ABUSNANA. 2016. Vitamin D3 supplementation and body composition in persons with obesity and type 2 diabetes in the UAE: A randomized controlled double-blinded clinical trial. *Clinical Nutrition* [online]. **35**(1), 77–82. ISSN 0261-5614, 1532-1983. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.02.017>

SANGHERA, Dharambir K., Bishwa R. SAPKOTA, Christopher E. ASTON a Piers R. BLACKETT. 2017. Vitamin D Status, Gender Differences, and Cardiometabolic Health Disparities. *Annals of Nutrition and Metabolism* [online]. **70**(2), 79–87. ISSN 0250-6807, 1421-9697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000458765>

SAS INSTITUTE. 2017. SAS. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc. Statistický analytický systém.

SILVA, Mariana Costa a Tania Weber FURLANETTO. 2017. Intestinal absorption of vitamin D: a systematic review. *Nutrition Reviews* [online]. **76**(1), 60–76. ISSN 0029-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nux034>

SKROBOT, Agnieszka, Urszula DEMKOW a Małgorzata WACHOWSKA. 2018. Immunomodulatory Role of Vitamin D: A Review. *Current Trends in Immunity and Respiratory Infections* [online]. (1108), 13–23. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/5584\\_2018\\_246](https://doi.org/10.1007/5584_2018_246)

SMITH, Lynette M a J Christopher GALLAGHER. 2017. Dietary vitamin D Intake for the elderly population: update on the Recommended Dietary Allowance (RDA) for vitamin D. *Endocrinology and metabolism clinics of North America* [online]. **46**(4), 871–884. ISSN 0889-8529. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2017.07.003>

SPEECKAERT, Marijn, Guangming HUANG, Joris R. DELANGHE a Youri E. C. TAES. 2006. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clinica Chimica Acta* [online]. **372**(1–2), 33–42. ISSN 0009-8981. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.03.011>

STAPRO. 2019. *FONS Akord*. Pardubice: STAPRO s.r.o. Klinický informační systém.

STATSOFT. 2018. *STATISTICA*. Tulsa, OK, USA: StatSoft Inc. Analytický software.

STRATHMANN, Frederick G., Katerina SADILKOVA, Thomas J. LAHA, Susan E. LESOURD, Joshua A. BORNHORST, Andrew N. HOOFNAGLE a Rhona JACK. 2012. 3-epi-25 hydroxyvitamin D concentrations are not correlated with age in a cohort of infants and adults. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* [online]. **413**(1–2), 203–206. ISSN 0009-8981. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.09.028>

TAI, Susan S.-C., Mary BEDNER a Karen W. PHINNEY. 2010. Development of a Candidate Reference Measurement Procedure for the Determination of 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 25-Hydroxyvitamin D<sub>2</sub> in Human Serum Using Isotope-Dilution Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* [online]. **82**(5), 1942–1948. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ac9026862>

THEODORATOU, Evropi, Ioanna TZOULAKI, Lina ZGAGA a John P A IOANNIDIS. 2014. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *The BMJ* [online]. **348** [cit. 2019-03-26]. ISSN 0959-8138. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/bmj.g2035>

TOLAN, Nicole V., Edward J. YOON, Ashley R. BRADY a Gary L. HOROWITZ. 2018. Price of High-Throughput 25-Hydroxyvitamin D Immunoassays: Frequency of Inaccurate Results. *The Journal of Applied Laboratory Medicine: An AACC Publication* [online]. **2**(6), 868–879. ISSN 2475-7241. Dostupné z: <https://doi.org/10.1373/jalm.2017.024323>

TRIPKOVIC, Laura, Louise R. WILSON, Kathryn HART, Sig JOHNSEN, Simon DE LUSIGNAN, Colin P. SMITH, Giselda BUCCA, Simon PENSON, Gemma CHOPE, Ruan ELLIOTT, Elina HYPPÖNEN, Jacqueline L. BERRY a Susan A. LANHAM-NEW. 2017. Daily supplementation with 15 µg vitamin D2 compared with vitamin D3 to increase wintertime 25-hydroxyvitamin D status in healthy South Asian and white European women: a 12-wk randomized, placebo-controlled food-fortification trial. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **106**(2), 481–490. ISSN 0002-9165. Dostupné z: <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.138693>

TRUJILLO, Janet, Matias Costa VIEIRA, Jaqueline LEPSCH, Fernanda REBELO, Lucilla POSTON, Dharmindra PASUPATHY a Gilberto KAC. 2018. A systematic review of the associations between maternal nutritional biomarkers and depression and/or anxiety during pregnancy and postpartum. *Journal of Affective Disorders* [online]. **232**, 185–203. ISSN 0165-0327. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.02.004>

TSUPRYKOV, Oleg, Xin CHEN, Carl-Friedrich HOCHER, Roman SKOBLO, LIANGHONG YIN a Berthold HOCHER. 2018. Why should we measure free 25(OH) vitamin D? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* [online]. **180**, Vitamin D Deficiency, Nutrition and Human Health, 87–104. ISSN 0960-0760. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.11.014>

TUCKEY, Robert C., Chloe Y. S. CHENG a Andrzej T. SLOMINSKI. 2019. The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* [online]. **186**, 4–21. ISSN 1879-1220. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.09.003>

„VITAMIN D". 2019. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. St Petersburg (Florida): Wikipedia Foundation, 29. 5. 2002, last modified on 17. 3. 2019 [cit. 2019-02-19]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin\\_D](https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_D)

WAHL, D. A., C. COOPER, P. R. EBELING, M. EGGERSDORFER, J. HILGER, K. HOFFMANN, R. JOSSE, J. A. KANIS, A. MITHAL, D. D. PIERROZ, J. STENMARK, E. STÖCKLIN a B. DAWSON-HUGHES. 2012. A global representation of vitamin D status in healthy populations. *Archives of Osteoporosis* [online]. **7**(1), 155–172. ISSN 1862-3514. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11657-012-0093-0>

WOLF, George. 2004. The Discovery of Vitamin D: The Contribution of Adolf Windaus. *The Journal of Nutrition* [online]. **134**(6), 1299–1302. ISSN 1541-6100. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1299>

ŽOFKOVÁ, Ivana a Martin HILL. 2008. BIOCHEMICAL MARKERS OF BONE REMODELING CORRELATE NEGATIVELY WITH CIRCULATING TSH IN POSTMENOPAUSAL WOMEN. *Endocrine Regulations*. (47), 7.

# **SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha 1 – Žádost o poskytnutí informací v souvislosti s vypracováním bakalářské práce,  
s podepsaným souhlasem přednosty představenstva Klatovské nemocnice, a.s.

# PŘÍLOHY

## Příloha 1 – Žádost o poskytnutí informací v souvislosti s vypracováním bakalářské práce, s podepsaným souhlasem přednosty představenstva Klatovské nemocnice, a.s.

### ŽÁDOST O POSKYTNUTÍ INFORMACÍ V SOUVISLOSTI S VYPRACOVÁNÍM BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

**Jméno a příjmení studenta:** Lukáš Bytel

**Úplný název vysoké školy:** Západočeská univerzita v Plzni

**Fakulta / katedra:** Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

**Studijní obor / ročník:** Zdravotní laborant, 3. ročník

**Název bakalářské práce:** Frekvence hypovitaminózy D v osteologické ambulanci v závislosti na věku, pohlaví, ročním období a substituci vitamínem D v klatovském regionu

**Vedoucí práce:** MUDr. Richard Pikner, Ph.D., Oddělení klinických laboratoří (OKL)

**Kontakt na vedoucího práce:** 376 335 875, richard.pikner@klatovy.nemocnicepk.cz

**Jsem zaměstnancem Klatovské nemocnice, a.s.** (Dohoda o provedení práce)

**Oddělení:** Oddělení klinických laboratoří (OKL) **Pracovní pozice:** Sanitář

**Cíl mé bakalářské práce:** Zhodnotit možný vliv věku, pohlaví, ročního období a substituce vitamínem D na výskyt hypovitaminózy D v populaci pacientů osteologické ambulance v klatovském regionu.

**Termín přípravy v Klatovské nemocnici, a.s. pro empirickou část práce:**  
23.2.2019 – 29.3.2019

**Kontaktní pracoviště pro empirickou část:** Oddělení klinických laboratoří (OKL)

**Metoda empirické části práce:** Vypracování analýzy – text žádosti: \_\_\_\_\_

**Žádám o možnost poskytnutí informací o:**

- Léčebných metodách
- laboratorních metodách / analýzách / výsledcích

**v rámci přípravy podkladů pro vypracování mé bakalářské práce.**

- Informace mi bude poskytovat oprávněný zdravotnický pracovník Klatovské nemocnice, a.s., kterým je: MUDr. Richard Pikner, Ph.D., OKL, primář, 376 335 875, richard.pikner@klatovy.nemocnicepk.cz

Žádost podává student: Lukáš Bytel, 723 004 042, L.Bytos@seznam.cz

V Klatovech dne: 21.3.2019

*Smilauer*

*[Signature]*

MUDr. Jiří Žeithaml  
předseda představenstva

Klatovská nemocnice, a.s.  
Pízeňská 929  
339 01 Klatovy II  
T: 376 335 900  
IČO: 26360527 | DIČ: CZ26360527



①