UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2013 Lucie Pavlíčková

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko – technologická

Projevy nedostatku vitamínu D

Lucie Pavlíčková

Bakalářská práce

2013

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: **2012/2013**

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Lucie Pavlíčková**
Osobní číslo:	**C10432**
Studijní program:	**B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor:	**Zdravotní laborant**
Název tématu:	**Projevy nedostatku vitaminu D**
Zadávající katedra:	**Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování:

Seznamte se s metabolizmem a úlohou vitamínu D v lidském organizmu, se zaměřením především na projevy nedostatku tohoto vitamínu a úlohu nedostatku vitamínu D v rozvoji patologických procesů.
Proveďte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte databázi MEDLINE.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Mužáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **13. prosince 2012**
Termín odevzdání bakalářské práce: **19. července 2013**

prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 15. února 2013

Prohlášení

Prohlašuji, tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 19. 7. 2013 …..……..

Lucie Pavlíčková

Poděkování

Děkuji paní MUDr. Vladimíře Mužákové, Ph.D. za její trpělivost, odborné vedení a rady, které mi poskytla jako vedoucí mé bakalářské práce při jejím zpracování.

ANOTACE

Nedostatek vitamínu D je poměrně častý, podle vědců se jedná o celosvětovou epidemii nedostatku vitamínu D, což je alarmující. Závažný je proto, že se ukázalo, že vedle klasické funkce v řízení hospodaření s vápníkem a fosfáty má vitamín D ještě řadu funkcí. V těle se váže vitamín D na receptor, který je součástí buněk a ovlivňuje transkripci a expresi genů. Tím má vliv na aktivitu kináz a fosfatáz, které regulují otevření iontových kanálů v buněčných membránách. Vitamín D ovlivňuje fyziologickou funkčnost tkání, proto jeho nedostatek může vést k onemocněním, u kterých je správná funkce tkání porušena a která mohou být i život ohrožující. Hladina vitamínu D závisí na mnoha faktorech, mezi které patří např. pobyt na slunci, strava a zdravotní stav jedince.

KLÍČOVÁ SLOVA

Vitamín D, $1,25(OH)_2D_3$, 25(OH)D, metabolismus, vápník, fosfor, receptor vitamínu D, parathormon, kardiovaskulární systém, imunitní systém.

TITLE

Manifestation of vitamin D deficiency

ANNOTATION

Vitamin D deficiency is quite common, according to scientists it is a worldwide epidemic of vitamin D, which is alarming. It is serious because it showed that in addition to the classic functions of the control with calcium and phosphate has vitamin D a number of functions yet. In the body vitamin D binds to vitamin D receptor, which is a part of cells and affects the transcription and gene expression. Thereby it has an effect on the activity of kinases and phosphatases which regulate the opening of ion channels in cell membranes. Vitamin D affects the physiological function of tissues, therefore its deficiency can lead to disease, in which right function of tissues is violated and that can be life-threatening. The vitamin D level depends many factors, among which include sun exposure, diet and health state of the individual.

KEY WORDS

Vitamin D, $1,25(OH)_2D_3$, 25(OH)D, metabolism, calcium, phosphorus, vitamin D receptor, parathormone, cardiovascular system, immune system.

Obsah

Úvod **11**

1. Fyziologie vitamínu D **12**

1.1. Metabolismus 12

1.2. Zdroje 13

1.3. Hladiny vitamínu D v organismu 14

2. Funkce v těle **15**

2.1. Vitamín D a vápník 15

2.2. Receptor vitamínu D 15

2.2.1. Extracelulární signály modulující expresi VDR 16

2.2.2. Intracelulární signální dráhy modulující expresi VDR 16

2.2.3. Koaktivace nebo koreprese genové transkripce zprostředkované VDR 17

2.3. Vitamín D vazebný protein 17

3. Nedostatek vitamínu D **19**

3.1. Křivice 19

3.1.1. Nutriční křivice 19

3.1.2. Vitamín D dependentní křivice I. typu 20

3.1.3. Vitamín D dependentní křivice II. typu 20

3.1.4. Kalcipenická a hypofosfatemická křivice 21

3.2. Osteomalácie 22

3.3. Chronické onemocnění ledvin 23

3.3.1. Nedostatek vitamínu D u chronického onemocnění ledvin 23

3.3.2. Změna metabolismu vitamínu D u onemocnění ledvin 24

3.3.3. Anti-proteinurická aktivita vitamínu D 24

3.4. Vliv nedostatku vitamínu D na kardiovaskulární systém 25

3.4.1. Vaskulární kalcifikace 25

3.4.2. Srdeční selhání 26

3.4.3. Hypertenze a renin-angiotensinový systém 26

3.4.4. Ateroskleróza 27

3.4.5. Ischemická choroba srdeční 28
3.4.6. Akutní infarkt myokardu 28
3.5. Vitamín D a imunita 29
3.5.1. Metabolismus vitamínu D a přirozená imunita 29
3.5.2. Vitamín D a adaptivní imunita 31
3.5.3. Astma a vitamín D 33
3.6. Vliv vitamínu D na rakovinu 33
3.6.1. Rakovina prsu 33
3.6.2. Kolorektální karcinom 34
3.7. Nedostatek vitamínu D v těhotenství 35
3.7.1. Účinky gestačního nedostatku vitamínu D na plod a novorozence 36
3.7.2. Nedostatek vitamínu D během laktace 36

4. Metody stanovení vitamínu D 38
4.1. Kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií 38
4.2. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie 38

Závěr 40

Použitá literatura 42

Seznam ilustrací a tabulek

Obrázek 1 *Ergokalciferol*…….……**.....**12
Obrázek 2 *Cholekalciferol*…….**....**12
Obrázek 3 *Metabolismus vitamínu D*……...13

Tabulka 1 *Rozdíly mezi kalcipenickou a hypofosfatemickou křivicí*……**....**22

Seznam zkratek

TRP	Přechodný receptor pro potenciální kationový kanál
VDR	Receptor vitamínu D
RXR	Retinoidní receptor X
DBP	Vitamín D vazebný protein
UVB	Ultrafialové záření B
PTH	Parathormon
NHANES III	Third National Health and Nurition Examination Survey
ICHS	Ischemická choroba srdeční
ANP	Síňový natriuretický peptid
BNP	Mozkový natriuretický peptid
LDL	Lipoprotein o nízké hustotě
cAMP	Cyklický adenosinmonofosfát
NCoR	Nukleární korepresorový receptor
SRC	Steroidní receptorový koaktivátor
TIF	Transkripčně zprostředkovaný faktor
RAC	Receptor aktivovaného koaktivátoru
DRIP	Vitamín D receptor interagující protein
IL	Interleukin
LL37	antibiotický protein cathelicidin
PAMPs	patogeny spojené molekulárními vzorci
PRR	patogen rozpoznávající receptory
TLR	Tool-like receptory
IFN-γ	Interferon gama
MHC	Hlavní histokompatibilní komplex
IU	Mezinárodní jednotka

Úvod

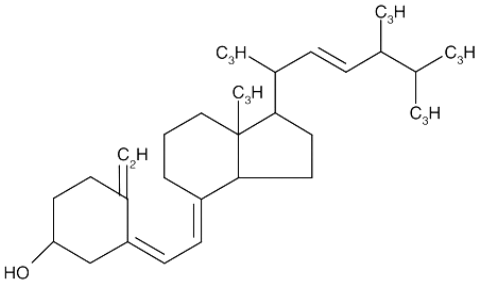
V posledním desetiletí byl zaznamenán obnovený zájem o takzvaný „sluneční vitamín“, vitamín D, protože nová data ukazují, že je přínosný nejen pro zdraví kostí, ale hraje důležitou úlohu i v řadě různých klinických stavů (Thacher a Clarke, 2011).

Nedostatek vitamínu D je charakterizován jako celosvětový problém a objevuje se ve všech fázích života. Nedostatek vitamínu D je stále více uznáván v celkové populaci a byl z velké části připsán složení stravy, životnímu stylu a behaviorálním změnám. Nízké koncentrace vitamínu D jsou spojovány s patogenezí některých chronických chorob. Právě kvůli širokému spektru působení v organismu se dostává vitamín D do centra pozornosti. Dlouhou doby byly známé hlavně účinky vitamínu D na metabolismus kostí. Nyní se dostávají do popředí účinky vitamínu D na ostatní tkáně v organismu.

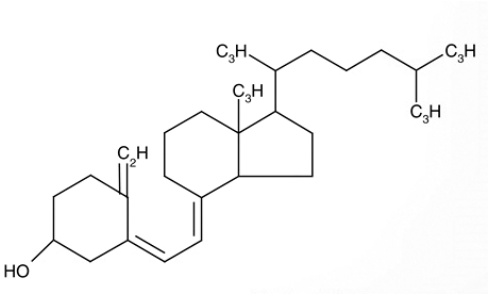
Cílem bakalářské práce je přiblížení problematiky vlivu nedostatku vitamínu D nejen na kostní tkáň. Vitamín D hraje významnou roli v udržení homeostázy organismu.

1. Fyziologie vitamínu D

Vitamín D je souhrnný název pro skupinu steroidních struktur - kalciferolů, z nichž nejvýznamnější jsou cholekalciferol (vitamín D_3) (obr. 1) a ergokalciferol (vitamín D_2) (obr. 2). Obě formy se liší strukturou postranního řetězce (ergokalciferol obsahuje dvojnou vazbu mezi C 22–23 a další metylovou skupinu na postranním řetězci). Fyziologické účinky obou látek na lidský organismus však výrazně odlišné nejsou.



Obrázek 1 Ergokalciferol (Gombart, 2009)



Obrázek 2 Cholekalciferol (Gombart, 2009)

1.1. Metabolismus

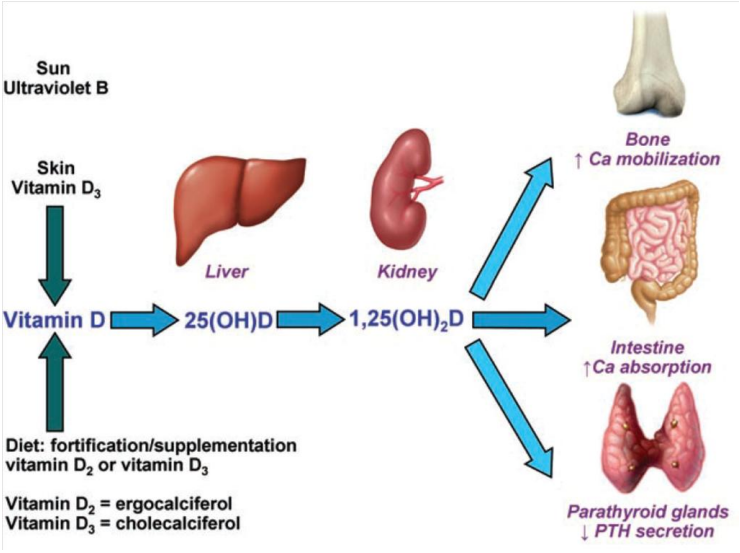
Ergokalciferol vzniká působením slunečního záření na rostlinný ergosterol. Vitamín D_2 je přítomný v některých rostlinách a je komerčně vyráběn ozářením kvasinek. Je používán jako doplněk stravy. Obě formy vitamínu D (cholekalciferol a ergokalciferol) také podstupují identický metabolismus (obr. 3). Cholekalciferol je považován za hlavní formu vitamínu D v přírodě (Thacher a Clarke, 2011). Lze ho také získat z potravy, ale hlavně vzniká v kůži z prekurzoru 7- dehydrocholesterolu v reakci na ultrafialové β záření slunečního světla, za nejúčinnější je považováno záření v rozsahu 290-320 nm (Trojan, 2003). Během expozice slunečním zářením je 7- dehydrocholesterol v kůži převeden na previtamín D_3, který je následně převeden na teple závislým procesem na vitamín D_3. Nadměrné vystavování slunečnímu záření způsobuje degradaci previtamínu D_3 a vitamínu D_3 na neaktivní fotoprodukty.

Vitamíny D_2 a D_3 z potravinových zdrojů jsou začleněny do chylomikronů a přepravovány lymfatickým systémem do krevního řečiště. Vitamín D se v oběhu váže na vitamín D vazebný protein (DBP), se kterým je transportován do jater. 7-dehydrocholesterol je v játrech pomocí 25- hydroxylázy přeměněn na 25- hydroxykalciferol

(25(OH)D). To je hlavní cirkulující forma vitamínu D, která se využívá ke stanovení hladiny vitamínu D (Thacher a Clarke, 2011).

25(OH)D navázaný na DBP je transportován do buněk proximálních tubulů ledvin, kde je DBP degradován a 25(OH)D je převeden pomocí mitochondriálního enzymu 1α-hydroxylázy na biologicky aktivní formu 1,25- dihydroxykalciferol ($1,25(OH)_2D_3$). Sérový fosfor, vápník, fibroblasty, růstové faktory a další faktory mohou zvýšit nebo snížit jeho renální produkci (Laird et al, 2010).

Nedávná dvojitě slepá, placebem kontrolovaná studie uvádí, že neexistuje žádný významný rozdíl v účinnosti vitamínu D_2 a D_3, ale často je uváděno, že vitamin D_3 je účinnější. Vyšší účinnost vitaminu D_3 než D_2 je způsobena zvýšením jeho afinity k vazebnému proteinu vitamínu D (DBP), což vede ke snížení clearence vitamínu D_3 a k dlouhotrvajícímu přetrvávání 25(OH)D v krvi (Laird et al, 2010).



Obrázek 3 Metabolismus vitamínu D. Ca= vápník; 1,25(OH)2D = 1,25- dihydroxyvitamín D; 25(OH)D = 25- hydroxyvitamín D; PTH = parathormon (Thacher a Clarke, 2011).

1.2. Zdroje

Faktory jako je věk, obezita, pobyt na slunci, zeměpisná šířka, roční období a denní doba ovlivňují kožní syntézu vitamínu D, přičemž nejvýznamnější je intenzita slunečního záření. Během léta je 7- dehydrocholesterol v kůži efektivněji převeden na previtamín D. Syntéza vitamínu D v kůži se zvyšuje se stoupající nadmořskou výškou a se snižující se vzdáleností od rovníku z důvodu většího vystavení se slunečnímu záření. Množství

melaninu v kůži, druhy oděvu a úroveň znečištění ovzduší může snížit schopnost kůže přijímat UVB záření a vést tak ke snížení syntézy vitamínu D. Dalším důležitým faktorem, který může vést k hypovitaminóze D je životní styl a nedostatek venkovní aktivity jedince (Garcia a Martini, 2010).

Mezi zdroje vitamínu D v potravě patří zejména vaječný žloutek, tučné mořské ryby jako například losos, olej z tresčích jater a z mléčných výrobků řadíme mezi zásobárny vitamínu D máslo a mléko. Vitamín D lze přijímat i jako doplněk stravy v tabletách.

1.3. Hladiny vitamínu D v organismu

Plazmatické hladiny 25(OH)D hodnotí stav vitamínu D nejlépe. 25(OH)D je hlavní cirkulující forma vitamínu D a předchůdce aktivní formy $1,25(OH)_2D_3$. Tato aktivní forma se váže v oběhu na vitamín D vazebný protein (DBP), kterým je transportována do cílových orgánů (Young et al, 2011).

25(OH)D je metabolit vitamínu D, který je měřen při posuzování hladiny vitamínu D u pacienta. Deficit vitamínu D je diagnostikován, pokud je hladina 25(OH)D pod hranicí 20 ng/ml, nedostatek vitamínu D je definován jako hodnota 25(OH)D 21-29 ng/ml a hodnoty 25(OH)D vyšší než 30 ng/ml jsou považovány za dostatečné (Holick et al, 2011). 40-60 ng/ml je výhodné rozmezí. K intoxikaci vitamínem D obvykle nedojde, dokud není hladina 25(OH)D vyšší než 150 ng/ml (Wacker a Holick, 2013).

Andiran et al. (2012) uvádí u dětí a dospívajících jako deficitní hladinu vitamínu D hodnotu méně než 15 ng/ml. Nedostatečná hladina se nachází mezi 15-20 ng/ml a dostatek vitamínu D mají osoby s hladinou nad 20 ng/ml vitamínu D v plazmě.

Většina odborníků se shoduje, že hladiny nižší než 20 ng/ml 25(OH)D jsou považovány za deficitní a hladiny v rozmezí 20-30 ng/ml jsou nedostatečné (Venkatram et al, 2011).

Hraniční hodnoty používané pro definování nedostatku vitamínu D a jeho deficitu nejsou dobře zavedené a jsou stále kontroverzní. Přesto existuje jistá shoda, která pokládá sérovou hladinu 25(OH)D pod 20 ng/ml za nepřiměřeně nízkou. Některé důkazy naznačují, že hodnoty vyšší než 30 ng/ml mohou být spojeny s lepšími výsledky v oblasti zdraví v dospělé populaci. Nejistota ohledně optimální sérové koncentrace 25(OH)D u těhotných žen je ještě vyšší (Vandevijvere et al, 2012).

2. Funkce v těle

Kalciferol je v těle nutný pro řadu fyziologických pochodů. Je na něm závislá hladina vápníku a fosforu v organismu, stimuluje absorpci vápníku a fosforu ve střevě a řídí vstřebávání v distálních tubulech ledvin. Vitamín D hraje klíčovou roli v kosterním vývoji, imunitních funkcích a tvorbě krevních buněk.

2.1. Vitamín D a vápník

Hlavní funkce vitamínu D je optimalizace střevní absorpce vápníku a fosforu pro správné formování minerální kostní matrice. Vápník je transportován do střeva paracelulární nebo transcelulární cestou. Paracelulární cesta je převážně pasivní, zatímco transcelulární proces je regulován $1,25(OH)_2D_3$. Několik vitamín D-dependentních proteinů transportujících vápník reguluje jeho střevní absorpci. Přechodný receptor pro potenciální kationtový kanál (TRP) se nachází v membráně enterocytů. Tento kanál umožňuje vstup vápenatých iontů do enterocytů. TRP je regulován $1,25(OH)_2D_3$ a nejvíce je vyjádřen v duodenu (při porovnání s jejunem a ileem). U žen hladina TRP klesá se zvyšujícím se věkem, což částečně vysvětluje s věkem spojený pokles vstřebávání vápníku. Calbindin 9k je vápník transportující protein, který kalcium dopravuje z membrány enterocytů na bazální povrch enterocytů (Khazai et al. 2008).

2.2. Receptor vitamínu D

Receptor vitamínu D (VDR) zprostředkovává působení vitamínu D na endokrinní systém, homeostázu kalcia a kostní metabolismus (Fang et al, 2009). $1,25(OH)_2D$, buď produkován v ledvinách nebo extrarenálně v cílových tkáních, je ligand receptoru vitamínu D, jehož široká distribuce v mnoha tkáních vysvětluje nesčetné množství fyziologických účinků vitamínu D. Podle interakcí s VDR, $1,25(OH)_2D$ upravuje přímo a nepřímo expresi až 2000 genů. VDR spolupracuje s ostatními transkripčními faktory, nejdůležitějším je retinoidní receptor X (RXR). V membráně vázaný VDR může zprostředkovat významné non-genomové akce $1,25(OH)_2D_3$ (Wacker a Holick, 2013).

VDR může působit v jádře jako lokalizovaný klasický ligand-dependentní transkripční faktor a membránový receptor. Jako transkripční faktor, VDR působí jako primární regulátor genů, které obsahují sekvenčně specifická VDR vazebná místa. Jako membránový receptor VDR působí jako primární regulátor lipidů a cytosolových druhých poslů, které modulují

aktivitu kináz a fosfatáz a ty střídavě ovládají otevření iontových kanálů (Mizwicki et al, 2010).

2.2.1. Extracelulární signály modulující expresi VDR

Exprese receptoru vitamínu D může být modulována mnoha fyzikálními podněty, jako je složení potravy (např. vápník a fosfor), steroidní hormony, růstové faktory, peptidové hormony. Exprese VDR je významně regulována steroidními hormony (estrogen), glukokortikoidy a retinoidy, které jsou spíše specifickými buňkami. U glukokortikoidů je známé, že mají silný protizánětlivý a imunosupresivní účinek. Glukokortikoidy se používají k potlačení zánětu v patogenezi různých zánětlivých onemocnění, dalo by se spekulovat o tom, že jedním z mechanismů glukokortikoidů používaných k potlačení imunitních reakcí je zvýšení hladiny exprese receptoru vitamínu D. Receptory pro peptidový hormon příštítných tělísek, parathormon (PTH), byly nedávno identifikovány na T- buňkách. Díky přítomnosti receptorů pro PTH na povrchu T- buněk může docházet k PTH-indukované modulaci exprese VDR v T-buňkách stejně jako u jiných typů buněk. Nejlépe popsaný hormonální účinek na činnost a projevy VDR má $1,25(OH)_2D_3$ sám. $1,25(OH)_2D_3$ přímo ovlivňuje exprese VDR pomocí homologní regulace. I když se pohybuje mezi různými typy buněk, $1,25(OH)_2D_3$ přispívá ke zvýšení produkce VDR-mRNA, stabilizuje VDR-mRNA, a chrání před degradací VDR (Kongsbak et al, 2013).

2.2.2. Intracelulární signální dráhy modulující expresi VDR

Modulace exprese VDR je zprostředkována nejen extracelulárně, ale i různými intracelulárními signálními drahami. Několik studií se shoduje, že cesta aktivace cAMP-dependentní proteinkinázy A vede ke zvýšení hladiny receptoru vitamínu D. Obě buněčné odpovědi na PTH a prostaglandinovou aktivaci proteinkinázy A způsobují zvýšení hladiny VDR. Podněty, které indukují aktivitu protein kinázy C, snižují regulaci VDR-mRNA a hladiny VDR proteinu ve fibroblastických buňkách. Dopad aktivace proteinkinázy C na úroveň VDR-mRNA značně závisí na konkrétní buněčné diferenciaci zkoumaného stavu. To naznačuje, že další signální dráhy mohou spolupracovat za účelem určení výsledného efektu na expresi VDR. Nová signální dráha, která vede k expresi VDR, byla nedávno popsána u lidských naivních T- buněk. Zde stimulace buněčného receptoru T- buněk indukuje expresi VDR prostřednictvím aktivace proteinu p38 mitogenem aktivované kinázy. Intracelulární signální dráhy spolupracují a regulují expresi VDR (Kongsbak et al, 2013).

2.2.3. Koaktivace nebo koreprese genové transkripce zprostředkované VDR

Regulace genové exprese $1,25(OH)_2D_3$ je závislá na schopnosti VDR/RXR heterodimerů přijímat koregulátory proteinových komplexů, které mohou aktivovat nebo potlačit genovou expresi. Ligand spouští konformační změnu VDR-RXR výsledných heterodimerů oddělením represorových proteinů jako je NCoR (nukleární receptor pro ko-represor) a umožňuje interakci s členy proteinových rodin koaktivátoru (p300 a p160) včetně SRC (steroidních receptorových koaktivátorů), TIF (transkripčně zprostředkovaného faktoru), a RAC (receptory aktivovaných koaktivátorů). DRIP (vitamín D receptor-interagující protein) kofaktororové komplexy jsou zapojeny paralelně. Tyto koaktivátory vázající ligandem aktivované VDR indukují výměnu koaktivátoru v komplexu transkripčních VDR-reagujících promotérů a umožňují otevření struktury chromatinu. Tyto účinky vytvářejí prostředí vhodné pro genové transkripce.

VDR může také potlačovat transkripci genů. 1α- hydroxyláza katalyzuje metabolickou aktivaci $1,25(OH)_2D_3$ od jeho prekurzoru 25(OH)D a je negativně regulována $1,25(OH)_2D_3$ ve specifické buněčné linii a omezeným způsobem ve tkáni. Parathormon, 1α- hydroxyláza a další geny jsou považovány za potlačené $1,25(OH)_2D_3$ díky negativně reagujícím prvkům vitamínu D. Ligandem aktivovaný VDR se váže na 5' část negativně reagujících prvků vitamínu D. Buněčné nebo tkáňově specifické transreprese 1α- hydroxylázy podle $1,25(OH)_2D_3$ mohou zahrnovat více reagujících prvků vitamínu D v distálních promotorových oblastech, které zlepšují chromatinové smyčky a interakce s proteinovými superkomplexy s různou transkripční schopností. Jiné mechanismy transreprese zahrnují vztah mezi multifunkčním, na adenosintrifosfátu závislém chromatinovém komplexu, remodelací chromatinu a VDR-indukovanou DNA methylací. Tyto akce klasické genomické odezvy $1,25(OH)_2D_3$ modulují syntézu a hromadění nových bílkovin a vyvolávají příslušné buněčné odpovědi v intervalech několika hodin nebo dní. Tyto události mohou být také potlačeny inhibitory syntézy proteinů, jako je aktinomycin D nebo cykloheximid (Campbell et al, 2010).

2.3. Vitamín D vazebný protein

Vitamín D vazebný protein (DBP) je hlavní nosič sérových metabolitů vitamínu D, přičemž albumin působí jako alternativa s nižší afinitou vazby. DBP existuje ve třech velkých polymorfních formách, dává šest alelických kombinací, které se vyskytují v různých

frekvencích mezi etnickými skupinami. Různé alelické formy DBP cirkulují v různých koncentracích a mají různé vazebné afinity k 25(OH)D a $1,25(OH)_2D_3$. Oba mají potenciál ovlivnit biologickou dostupnost vitamínu D. Nedávné studie uvádějí, že některé funkce vitamínu D korelují těsněji s hladinami "volného" 25(OH)D spíše než celkové sérové koncentrace tohoto metabolitu. Kromě své dopravní funkce DBP hraje klíčovou roli při endokrinní syntéze $1,25(OH)_2D_3$ v proximálních renálních tubulech, kde je vázán na 25(OH)D (Chun et al, 2012).

3. Nedostatek vitamínu D

K nedostatku vitamínu D dochází, pokud jedinec nemá jeho odpovídající přísun v potravě nebo nedostatečným vystavením se UVB záření. Je všeobecně přijímáno, že cirkulující hladina 25(OH)D by měla být použita jako indikátor koncentrace vitamínu D díky svému snadnému měření, dlouhému poločasu v oběhu (přibližně 2 až 3 týdny) a korelaci její úrovně s klinickým stavem. Nedostatek vitamínu D je většinou odborníků definován jako hladina, která je menší než 20 ng/ml (50 nmol/l). Koncentrace 25(OH)D 21-29 ng/ml (52-72 nmol/l) je považována za nedostatek vitamínu D a dostatečná hladina vitamínu D by měla dosáhnout úrovně 30 ng/ml nebo více (Zhang a Naughton, 2010).

3.1. Křivice

Normální růst kostí a mineralizace závisí na dostupnosti přiměřeného množství vápníku a fosfátů. Nedostatečná mineralizace může vést ke křivici a/nebo osteomalácii. U křivice dochází k nedostatečné mineralizaci osteoidu, přičemž osteomalácie způsobuje sníženou mineralizaci kostní matrix. Křivice a osteomalácie se obvykle vyskytují společně, pokud jsou růstové ploténky otevřené, což je u dětí; pouze osteomalácie nastane po uzavření růstových plotének u dospělých.

Existuje několik typů buněk tvořících kost. Osteoblasty jsou buňky tvořící osteoid, který je následně mineralizován vápenatými solemi. Osteoklasty pomáhají při remodelaci kosti. U křivice vedou defekty mineralizace kosti k hromadění osteoidu v kostní tkáni pod růstovou ploténkou (v metafýze). To dlouhodobě vede k oslabení kosti (Sahay a Sahay, 2012).

3.1.1. Nutriční křivice

Nutriční křivice je onemocnění, které postihuje děti a mládež v období rychlého růstu. Nedostatek vitamínu D a nutriční křivice jsou rozšířené v rozvojových oblastech světa a řadí se mezi pět nejčastějších onemocnění u dětí. Měnící se životní styl, kde děti tráví většinu svého času v uzavřených prostorách a věnují se různým formám technologií, a globalizace, která má za následek přistěhovalectví různých lidí do různých geografických lokalit, jsou důvodem propagace přípravků a potravin obsahujících vitamín D.

Nutriční křivice je odlišná od jiných typů křivice v tom, že vzniká pouze jako důsledek prostého nedostatku vitamínu D a nedostatečné výživy, proto může být snadno odstraněna, pokud je brzy objevena. Rostoucí množství propagační literatury zdůrazňuje, že na nutriční křivici je třeba pohlížet jako na spektrum patogenetických mechanismů. Na jedné straně

spektra jsou ty s klasickým nedostatkem vitamínu D, protože byly zjištěny u kojených dětí bez suplementace vitamínem D, zatímco na druhé straně spektra jsou ty s čistým nedostatkem vápníku, ale s normálními hodnotami vitamínu D.

Nedávná studie v Turecku uvedla, že se nedostatek vitamínu D a nutriční křivice mohou vyvinout velmi brzy v dětství a jsou obvykle charakterizovány těžkými hypokalcemickými příznaky. Výsledky této studie odhalily, že mateřský nedostatek vitamínu D a omezená expozice slunečnímu záření jsou hlavními rizikovými faktory pro rozvoj nutriční křivice u dětí (Bener a Hoffmann, 2010).

3.1.2. Vitamín D dependentní křivice I. typu

Vitamín D dependentní křivice I. typu také známá jako křivice z deficitu pseudovitamínu D a byla identifikována v roce 1961. Vitamín D dependentní křivice I. typu je autozomálně recesivní porucha. Pacienti s VDDR-I jsou postiženi inaktivujícími mutacemi v genu pro 1α- hydroxylázu, který kóduje enzym 25(OH)D 1α- hydroxylázy nebo 1α-hydroxylázy, což vede k nedostatku 1α- hydroxylázy. V důsledku toho není 25(OH)D hydroxylován na $1,25(OH)_2D_3$ a nedochází k normálnímu vstřebávání vápníku. Vitamín D dependentní křivice I. typu je charakterizována časným nástupem onemocnění kostí (v průběhu prvního roku života), těžkou hypokalcémií (někdy s tetanií), a střední hypofosfatémií. Pacienti vykazují hypoplazii skloviny, svalovou slabost, hypotonii, zpomalení motoriky a malý vzrůst. S progredujícím onemocněním se u pacientů vyvinou klasické příznaky křivice z nedostatku vitamínu D patrné na rentgenu a kostní biopsie svědčí o osteomalácii. Biochemické hodnocení ukazuje hypokalcémii, zvýšení PTH a zvýšení vylučování aminokyselin a fosfátů. Charakteristické biochemické nálezy VDDR-I jsou normální sérové hladiny kalcidiolu a nízké hladiny kalcitriolu. Klinické a biochemické známky křivice mohou být upraveny léčbou pomocí $1,25(OH)_2D_3$. Dávka závisí na závažnosti onemocnění a tělesné hmotnosti pacienta. Počáteční dávka pro floridní křivice je 1 μg/den. Léčba pokračuje při této dávce až do vyléčení kostí. Poté se udržovací dávka $1,25(OH)_2D_3$ pohybuje mezi 0,25 a 1 μg/den, v závislosti na výsledcích biochemických analýz. Cílem léčby je dosažení normálních hladin vápníku, udržení hladiny parathormonu v normálních mezích a zabránění rozvoje hyperkalciurie (Sahay a Sahay, 2012).

3.1.3. Vitamín D dependentní křivice II. typu

Vitamín D dependentní křivice II. typu je také známá jako dědičná vitamín D rezistentní křivice. Dědičná vitamín D rezistentní křivice je velmi vzácná autozomálně recesivní forma křivice s méně než 50 známými případy postižení. Je spojena s orgánovou

odolností vůči kalcitriolu, obvykle způsobenou mutacemi v genu kódujícím receptor vitamínu D. Vada receptoru narušuje funkci hormonálních receptorů komplexu a tím brání působení kalcitriolu. Mezi zjištěné mutace nebo defekty receptoru pro vitamín D patří selhání vazby $1,25(OH)_2D_3$ na dostupné receptory, snížení vazebných míst na receptorech vitamínu D, abnormální vazebná afinita $1,25(OH)_2D_3$ na receptor, nedostatečná translokace $1,25(OH)_2D_3$ receptorového komplexu do jádra a snížená afinita $1,25(OH)_2D_3$ receptorového komplexu na DNA vazebné domény (Sahay a Sahay, 2012).

Klinické spektrum vitamín D dependentní křivice II. typu se liší podle typu mutace v receptoru vitamínu D a ve zbytkové aktivitě receptoru vitamínu D. Postižené děti se obvykle při narození jeví normálně, ale křivice se vyvine v prvních dvou letech života. Unikátním rysem tohoto syndromu je alopecie, která je vidět na zhruba dvou třetinách případů a je ukazatelem závažnosti onemocnění. Alopecie vyplývá z nedostatku vitamínu D v rámci působení receptoru keratinocytů. Léčba vitamín D dependentní křivice II. typu zahrnuje terapeutický proces kalcitriolem a vápníkem. Individuální odpověď závisí na závažnosti poruchy receptoru. Léčba je zahájena v denní dávce 2 mg kalcitriolu a 1000 mg vápníku. Nicméně podávání i velmi vysokých dávek kalcitriolu (až do 30-60 μg/den) a vápníku (až do 3 g/den) je v některých případech nezbytné. Dlouhodobá infuze vápníku do centrální žíly je alternativou pro rezistentní pacienty a je třeba pokračovat mnoho měsíců. Perorální léčba vápníkem může být dostačující, jakmile bylo zaznamenáno hojení kostí na rentgenu. Během léčby by pacienti měli být kontrolováni alespoň jednou týdně. Měla by být měřena koncentrace sérového vápníku, fosforu, alkalické fosfatázy, kreatininu, $1,25(OH)_2D_3$, a parathormonu v plazmě a koncentrace vápníku a kreatininu v moči. V případě, že biochemické parametry nemají pozitivní odezvu, by měla být dávka kalcitriolu postupně zvyšována, až do zvýšení sérové koncentrace na stonásobek normálních hodnot. Za selhání léčby je považováno, když biochemická reakce nenastane po 3 až 5 měsících léčby (Sahay a Sahay, 2012).

3.1.4. Kalcipenická a hypofosfatemická křivice

Společným jmenovatelem kalcipenické a hypofosfatemické křivice je hypofosfatémie. Zabraňuje apoptóze v hypertrofických buňkách v růstové ploténce. V nepřítomnosti apoptózy se hypertrofické buňky hromadí v růstové ploténce a způsobují rachitidu kosti. U kalcipenické křivice vede fosfáturie k hypofosfatémii a v důsledku dochází k sekundární hyperparatyreóze. U hypofosfatemické křivice je deficit fosfátu primární vadou, která vede nejčastěji ke zvýšenému renálnímu vylučování fosfátu. To je spojeno s normální

nebo mírně zvýšenou sérovou hladinou parathormonu (PTH). Hypofosfatemickou křivici můžeme rozdělit na Autozomálně dominantní hypofosfatemickou křivici, X- vázanou hypofosfatemickou křivici a Autozomálně recesivní hypofosfatemickou křivici (Gattineni a Baum, 2012). Tyto typy křivice však nejsou spojeny s nedostatkem vitamínu D. Rozdíly mezi kalcipenickou a hypofosfatemickou křivicí jsou shrnuty v tabulce 1 (Jagtap et al, 2012).

Tabulka1. Rozdíly mezi kalcipenickou a hypofosfatemickou křivicí (Jagtap et al, 2012)

Funkce	Kalcipenická křivice	Hypofosfatemická křivice
Svalová slabost	Přítomna	Chybí
Tělesná bolest	Běžná	Neobvyklá
Zapojení končetin	Všechny údy rovné	Postižení dolních končetin
Křeče	Mohou být přítomny	Chybí
Hypoplazie skloviny	Může být přítomna	Chybí
Zubní absces	Chybí	Může být přítomný
Sérový vápník	Snížený/normální	Normální
Sérový fosfor	Snížený	Snížený
Alkalická fosfatáza	Výrazně zvýšená	Mírně až středně zvýšená
Parathyroidní hormon	Zvýšený	Normální/minimálně zvýšený
Osteopenie a fib. osteitida	Přítomna	Chybí

Kalcipenická (hypokalcemická) křivice se vyznačuje nedostatkem vápníku. Ke křivici může dojít navzdory adekvátní hladině vitamínu D v případě, že příjem vápníku je velmi nízký. Většina dětí s křivicí z nedostatku vápníku má normální sérové koncentrace 25(OH)D a vysoké sérové koncentrace $1,25(OH)_2D_3$, což naznačuje dostatečný příjem vitamínu D. Tyto děti mohou mít zvýšený požadavek na vitamín D, když se měří jejich reakce na výměnu tohoto vitamínu. Proto mohou být požadavky vitamínu D vyšší než ty, které se předpokládají u dětí, které mají nedostatek vápníku. Kromě tohoto, nízkým příjmem vápníku i bez koexistujícího nedostatku vitamínu D se zvyšuje v séru koncentrace $1,25(OH)_2D_3$, což snižuje poločas 25(OH)D pravděpodobně tím, že se zvyšuje katabolismus 25(OH)D (Christodoulou et al, 2013).

3.2. Osteomalácie

Osteomalácie se vztahuje k selhání mineralizace organického osteoidu tvořeného osteoblasty. Ačkoli histologická osteomalácie je charakteristická křivicí, obecně je používán pojem osteomalácie k popisu onemocnění kostí, jež jsou způsobena nedostatkem vitamínu D u dospělých, kterým již kosti nerostou. Klinické projevy těchto dvou podmínek jsou odlišné.

Bolest kostí je charakteristickým rysem osteomalácie a je možné ji zaměnit s artritidou nebo fibromyalgií. Bolest kostí, jako důsledek osteomalácie postihuje především kosti mezi klouby, zatímco artritida obvykle způsobuje převážně bolesti kloubů a fibromyalgie způsobuje větší difúzní bolest svalové tkáně. Rozlišení mezi těmito poruchami může být obtížné. Slabosti proximálního svalstva a nestabilita chůze jsou často přítomné. Vzhledem k tomu, že růstové ploténky jsou u dospělých uzavřeny, radiografické vlastnosti se u těchto typických křivic liší. Biochemické vlastnosti osteomalácie jsou podobné křivici. Zvýšení sérové alkalické fosfatázy a hodnot PTH, nízké hladiny vápníku, fosforu a 25(OH)D jsou přítomné ve většině případů. (Thacher a Clarke, 2011).

3.3. Chronické onemocnění ledvin

3.3.1. Nedostatek vitamínu D u chronického onemocnění ledvin

Častý nedostatek vitamínu D u pacientů s chronickým onemocněním ledvin byl prokázán v nedávných epidemiologických studiích. Nízká koncentrace 25(OH)D a obzvláště nízká hladina $1,25(OH)_2D_3$ je běžná u pacientů s chronickým onemocněním ledvin i v rané fázi. Závažnost nedostatku se zvyšuje s progresí onemocnění ledvin. Průřezové analýzy ukázaly, že nedostatek 25(OH)D je u tohoto onemocnění spojen s poruchou glomerulární filtrace. Nedostatek 25(OH)D a $1,25(OH)_2D_3$ je nezávisle spojen se sníženými hladinami hemoglobinu a anémií v časném stadiu chronického onemocnění ledvin. Data z Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) ve Spojených státech odhalila souvislost mezi nízkou sérovou hladinou 25(OH)D (<15-17,8 ng/ml) a rizikem mortality v běžné populaci a u pacientů s chronickým onemocněním ledvin, kteří nejsou na dialýze. Studie potvrdila, že nízký stav vitamínu D je spojen se všemi případy úmrtí a kardiovaskulární úmrtnosti u pacientů s chronickým onemocněním ledvin v Německu. Meta analýza deseti perspektivních studií potvrdila, že vysoká úroveň 25(OH)D je spojena s výrazně lepším přežitím u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. Nedostatek vitamínu D je úzce spjat s progresí chronického onemocnění ledvin. Hladina sérového vitamínu D je nezávislým inverzním ukazatelem progrese onemocnění a úmrtí u pacientů s chronickým onemocněním ledvin, což naznačuje, že nedostatek vitamínu D může ve skutečnosti urychlit průběh chronického onemocnění ledvin. Na druhé straně, četné retrospektivní observační studie v posledních letech trvale vykazují sníženou mortalitu

u hemodialyzovaných a nedialyzovaných pacientů s chronickým onemocněním ledvin, kteří dostávají vitamín D nebo jeho analogovou terapii (Li, 2012).

3.3.2. Změna metabolismu vitamínu D u onemocnění ledvin

Nedávné studie poskytují důkazy, že porucha regulace metabolismu vitamínu D je hlavní příčinou nedostatku vitamínu D u chronického onemocnění ledvin. Většina vitamínu D v těle pochází z „de novo" syntézy v kůži z 7-dehydrocholesterolu, katalyzované ultrafialovým světlem ze slunečního záření. Jakmile je syntetizován, je vitamin D rychle přeměněn v játrech na 25(OH)D, převládající metabolit v krevním oběhu. V oběhu tvoří 25(OH)D komplexy s vitamín D vazebným proteinem (DBP). Glomerulární filtrací se 25(OH)D-DBP komplex vstřebává přes megalinem zprostředkovanou endocytosu v proximálních tubulech, kde je 25(OH)D převeden na $1,25(OH)_2D_3$ pomocí renální 1α-hydroxylázy. Při renální insuficienci dojde k poklesu megalinem zprostředkované endocytotické činnosti a činnosti renální 24-hydroxylázy. Dochází ke ztrátě 25(OH)D-DBP do moči, protože proteinurie přispívá k rozvoji nedostatku 25(OH)D a $1,25(OH)_2D_3$.

Dalším faktorem, který přispívá k nízkým hodnotám vitamínu D u chronického onemocnění ledvin je růstový faktor fibroblastů FGF_{23}, hlavně fosfatonin, který podporuje vylučování fosfátů ledvinami a potlačuje produkci $1,25(OH)_2D_3$ prostřednictvím inhibice 1α-hydroxylázy a stimulace 24-hydroxylázy. Hladiny cirkulujících FGF_{23} jsou zvýšené spolu s poklesem glomerulární filtrace a zvýšením kreatininu v séru a hladiny fosfátů. U pokročilého chronického onemocnění ledvin přetrvává zadržování fosfátu kvůli zhoršené funkci ledvin. Dochází k výrazné indukci FGF_{23}, což vede k potlačení tvorby $1,25(OH)_2D_3$. Kromě toho, konvenční rizikové faktory, jako je snížená expozice slunečního záření a špatné stravovací návyky také přispívají k nedostatku vitamínu D v populaci (Li, 2012).

3.3.3. Anti-proteinurická aktivita vitamínu D

Albuminurie je hlavním rizikovým faktorem pro progresi chronického onemocnění ledvin, selhání ledvin a kardiovaskulární příhody. Tedy snížení albuminurie je zásadní terapeutický cíl pro chronické onemocněn ledvin. Průřezová analýza dat NHANES III odhalila vztah mezi nedostatkem vitamínu D a zvýšeným výskytem albuminurie v dospělé populaci USA. To naznačuje, že vitamín D má vnitřní anti-proteinurickou aktivitu. Řada klinických studií prokázala terapeutickou účinnost analogů vitamínu D snížením proteinurie. Aktivní analog vitamínu D parikalcitol má významný anti-proteinurický účinek v chronickém onemocnění ledvin. Parikalcitol významně snižuje albuminurie, které jsou nezávislé na účinku parikalcitolu na hemodynamiku nebo potlačení parathormonu. V poslední době

velká randomizovaná placebem kontrolovaná klinická studie (studie VITAL) potvrdila, že parikalcitol je schopen snížit albuminurii a krevní tlak u pacientů s diabetickou nefropatií, kteří již podstoupili renin-angiotenzin inhibitorovou terapii (Li, 2012).

3.4. Vliv nedostatku vitamínu D na kardiovaskulární systém

Globálně, kardiovaskulární onemocnění jsou nejčastější příčinou smrti. V roce 2005 byla kardiovaskulární onemocnění zodpovědná za přibližně 30% úmrtí na celém světě. Mezi onemocnění kardiovaskulárního systému řadíme např. tyto choroby: ischemická choroba srdeční (ICHS), ischemická choroba dolních končetin, mozková mrtvice, srdeční selhání, ateroskleróza. Hromadí se důkazy, že vitamín D vykazuje významné fyziologické účinky u kardiomyocytů, buněk hladké svaloviny cév a cévního endotelu (Zittermann a Gummert, 2010). Dále vitamín D reguluje vznik zánětu a systém renin-angiotensin. Oba mají účinky na kardiovaskulární systém a mohou vést ke koronární kalcifikaci (Young et al, 2011).

Ke spojení mezi udržením kardiovaskulární homeostázy a hladinou vitamínu D byl poprvé použit již v roce 1987 krysí model pro nedostatek vitamínu D. Nedostatek vitamínu D, který způsoboval poškození srdce, byl prokázán v roce 1999 ve studii provedené na pacientech trpících posledním stádiem onemocnění ledvin (Wang, 2013).

3.4.1. Vaskulární kalcifikace

Vaskulární kalcifikace je běžný projev cévních onemocnění, zejména u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. Základní příčiny rychlejší progrese chronického onemocnění ledvin nejsou dobře známy, ale vaskulární kalcifikace je považována za rizikový faktor pro vznik kardiovaskulárních onemocnění a progresi chronického onemocnění ledvin. Studie prokázaly inverzní korelaci mezi sérovými hladinami $1,25(OH)_2D_3$ a cévní kalcifikací. Tříleté sledování pacientů bez výchozí koronární cévní kalcifikace z multietnické studie aterosklerózy ukázalo nízké hladiny $1,25(OH)_2D_3$, které jsou nezávisle spojeny se zvýšeným rizikem ischemické kalcifikace. Artaza et al nedávno předložili předběžné údaje prokazující, že $1,25(OH)_2D_3$ podporuje diferenciaci osteogenních buněk tím, že sníží počet klíčových členů signalizační dráhy a může snížit diferenciaci osteoblastů a tvorbu kostí zpomalením exprese nukleárního faktoru aktivovaných T-buněk. Tato zjištění podporují rovnováhu hladiny vitamínu D v plazmě. Oba tyto stavy vedou ke zvyšování cévní kalcifikace. Optimalizace sérové hladiny vitamínu D hraje důležitou roli při snížení cévní kalcifikace

a rizika výskytu kardiovaskulárních onemocnění a progrese chronického onemocnění ledvin (Artaza et al, 2011).

3.4.2. Srdeční selhání

Srdeční selhání je komplexní onemocnění, při kterém se plnící nebo vypuzovací schopnost komory snižuje. V roce 2005 bylo zaznamenáno přibližně 5,3 milionů známých případů srdečního selhání jen v samotných Spojených státech. Téměř tři sta tisíc amerických úmrtí bylo přičítáno srdečnímu selhání, ať už z primární nebo sekundární příčiny. Zatímco se léčba srdečního selhání v posledních letech zlepšila, prognóza pacientů se srdečním selháním nadále zůstává spíše špatná. 8 z 10 mužů a 7 z 10 žen ve věku pětašedesáti let podlehne srdečnímu selhání během osmi let od doby, kdy byla diagnostikována nemoc.

Nízká hladina vitamínu D významně ovlivňuje srdeční strukturu a funkci. Nedávná studie zjistila, že v průměru 34% pacientů trpících městnavým srdečním selháním mělo nižší hladinu $25(OH)D_3$ než by odpovídalo jejich věku a pohlaví. Nedostatek vitamínu D mění morfologii a funkce myokardu u krys. Studie na zvířatech také odhalila, že $1,25(OH)_2D_3$ ovlivňuje procesy centralizované na funkce kardiomyocytů. Nejprve byla nedostatkem $1,25(OH)_2D_3$ prokázána změna hladiny Ca^{2+}, což vede ke zvýšené citlivosti srdce na ionotropní podněty a druhý proces ovlivňuje remodelaci srdce ve smyslu hypertrofie myokardu a zvýšení obsahu kolagenu. V poslední době bylo prokázáno, že vyseknutí receptoru vitamínu D (VDR) má za následek podstatné změny v srdeční struktuře a že změna myšího fenotypu vlivem chybění VDR byla charakterizována srdeční hypertrofií a fibrózou (Przybylski et al, 2010).

3.4.3. Hypertenze a renin-angiotensinový systém

Metabolity vitamínu D jsou spojovány s regulací krevního tlaku a hormonálních mechanismů krevního tlaku po celá desetiletí. Hypertenze je hlavním rizikovým faktorem pro vznik kardiovaskulárního onemocnění. Nedávno publikovaný systematický přehled a metaanalýza došly k závěru, že vitamín D způsobuje pokles systolického krevního tlaku o -6,18 mm Hg a nesignifikantní pokles diastolického krevního tlaku o -2,56 mm Hg u hypertoniků. Žádné snížení krevního tlaku se neobjevuje ve studiích zabývajících se normotenzními pacienty (Zittermann a Gummert, 2010). Observační studie zaznamenaly vyšší krevní tlak v zimních měsících u osob žijících dále od rovníku, což naznačuje nízké expozice ultrafialovému záření a tím snížení schopnosti kůže syntetizovat vitamín D.

Významným mechanismem spojujícím vitamín D s hypertenzí je jeho role jako negativního regulátoru renin-angiotensinového systému. Jiné hypotézy naznačují, že vitamín

D ovlivňuje vaskulární endoteliální funkci, hladkou svalovinu cév a intracelulární koncentraci vápníku. Vzhledem k tomu, že nepřiměřené zvýšení aktivity renin-angiotensinového systému přispívá k hypertenzi a kardiovaskulárnímu riziku, se mnoho pozorovacích a intervenčních studií zaměřuje na zkoumání role metabolitů vitamínu D v rozvoji hypertenze.

Nejpřesvědčivější studie, které spojují vitamín D s krevním tlakem a s aktivitou renin-angiotensinového systému, byly provedeny na zvířecích modelech. Li et al (2012) ukázali, že zablokování VDR u myší způsobilo významné zvýšení hladiny reninové aktivity a plazmatické koncentrace cirkulujícího angiotenzinu II. U těchto myší se vyvinula hypertenze a srdeční hypertrofie, která mohla být zmírněna podáváním antagonisty renin-angiotensinového systému. Myši také vykazovaly zvýšenou aktivitu renin-angiotensinového systému především v myokardu. Souběžně myší model deficitu 1α- hydroxylázy (což vede k neschopnosti syntetizovat $1,25(OH)_2D_3$) vykazoval fenotypově zvýšenou aktivitu renin-angiotensinového systému, hypertenzi a srdeční hypertrofii, které byly zmírněny podáním $1,25(OH)_2D_3$ nebo antagonisty renin-angiotensinového systému. Ligandy $1,25(OH)_2D_3$ a VDR působí na potlačení exprese genu pro renin, což naznačuje, že VDR agonisté mohou vykazovat ochranné účinky na krevní tlak a srdeční tkáně. Souběžně s tím studie lidské fyziologie ukázaly, že nižší hladiny $1,25(OH)_2D_3$ a 25(OH)D jsou spojeny s vyšší aktivitou reninu v plazmě, koncentrací angiotensinu II a vyšší systémovou cévně-tkáňovou renin-angiotensinovou systémovou aktivitou (Vaidya a Williams, 2012).

3.4.4. Ateroskleróza

Nedostatek vitamínu D je spojen s nepříznivými morfologickými změnami ve velkých tepnách, a to i u dětí. Kalcifikace může být indukována $1,25(OH)_2D_3$ v buňkách hladké svaloviny tepen. Arteriální kalcifikace se často vyskytuje u pacientů trpících diabetem a u pacientů v konečném stádiu selhání ledvin s onemocněním periferních tepen. Bylo prokázáno, že parikalcitol, agonista receptoru vitamínu D, způsobuje větší zlepšení kvality života pacientů s renálním selháním oproti vitamínu D podávanému při tradiční terapii. Bylo zjištěno, že $1,25(OH)_2D_3$ způsobuje snížení vzniku acetylovaných a oxidovaných lipoproteinů o nízké hustotě (LDL), které jsou vychytávány makrofágy při diabetu 2. typu, čímž se sníží vytváření pěnových buněk a následně riziko aterosklerózy. Kromě toho, $1,25(OH)_2D_3$ může vyvolat zástavu buněčného cyklu a apoptózu, což je důležitý proces v rozvoji aterosklerózy a v některých normálních a maligních buněčných typech. V poslední době je nedostatek vitaminu D spojován s onemocněním periferních cév a může být důležitým faktorem v rozvoji onemocnění periferních tepen u různých etnik (Chan et al, 2011).

3.4.5. Ischemická choroba srdeční

Ischemická choroba srdeční (ICHS) je hlavní příčinou morbidity a mortality u pacientů s diabetem 2. typu. U diabetických pacientů bylo prokázáno, že mají zvýšený výskyt subklinické ICHS. S tím souvisí velikost kalciového skóre v krevním řečišti. Kalciové skóre vytváří představu o vychytávání Ca^{2+} iontů v aterosklerotických plátech koronárního řečiště. Obecně platí vztah: čím vyšší skóre, tím horší prognóza. Skóre koronárního kalcia a neinvazivní screeningová metoda kvantifikace rozsahu koronární kalcifikace jsou obecně přijímány jako markery zvýšeného kardiovaskulárního rizika. Skóre koronárního kalcia silně koreluje s histopatologickou ICHS a rozvojem nežádoucích koronárních příhod (Joergensen et al, 2011).

Výsledky z průřezových studií, které zkoumaly vztah mezi nízkou hladinou vitamínu D a přítomností ICHS v obecné populaci, jsou rozporuplné. U diabetiků 1. typu s nedostatkem vitamínu D byl prokázán vyšší výskyt rozvoje koronární kalcifikace. Nicméně, studie pacientů trpících diabetem 2. typu s anamnézou kardiovaskulárního onemocnění zjistily silný inverzní vztah mezi nízkou hladinou vitamínu D a převládajícím ischemickým, cerebrovaskulárním nebo periferním kardiovaskulárním onemocněním. Dále byla nízká hladina vitamínu D spojena se zvýšenou kardiovaskulární morbiditou a mortalitou v populaci a u pacientů s diabetem typu 1 a 2 (Joergensen et al, 2011).

3.4.6. Akutní infarkt myokardu

V několika studiích byl nedostatek 25(OH)D nezávisle spojen s výskytem akutního infarktu myokardu. Kalcitriol ($1,25(OH)_2D_3$), aktivní forma vitamínu D, reguluje intracelulární metabolismus vápníku a kontraktilitu myokardu prostřednictvím specifických receptorů vitamínu D na kardiomyocytech. V důsledku toho je nedostatek 25(OH)D spojován s aberantní srdeční kontraktilitou, kardiomegalií a zvýšenou hmotností komor v důsledku ukládání kolagenu do myokardu, nezávisle na jeho známých účincích na krevní tlak. Ve studiích na pokusných zvířatech aktivace jaderných receptorů vitamínu D ($1,25(OH)_2D_3$) potlačuje expresi a sekreci síňového natriuretického peptidu (ANP) a mozkového natriuretického peptidu (BNP) v kardiomyocytech. V klinických studiích pacientů s chronickým nedialyzovaným onemocněním ledvin bylo u osob léčených $1,25(OH)_2D_3$ po dobu 12 týdnů pozorováno zlepšení diastolické funkce levé komory ve srovnání s placebem. Tyto nálezy naznačují, že nízké cirkulující hladiny 25(OH)D by mohly přispět nebo potencovat rozvoj dysfunkce levé komory a srdečního selhání po akutním infarktu myokardu.

N-terminální pro B-typ natriuretického peptidu (NT-proBNP, prohormon BNP) je uvolňován ze srdečních komor. Je spojen se závažnou dilatací levé komory a její dysfunkcí po akutním infarktu myokardu. NT-proBNP je citlivý a robustní prognostický biomarker úmrtnosti v případě akutního infarktu myokardu, srdečního selhání u chronických hemodialyzovaných pacientů.

Zatímco 25(OH)D a NT-proBNP jsou známé pro své spojení s dysfunkcí levé komory po akutním infarktu myokardu, není známo, zda existuje vztah mezi úrovní 25(OH)D a NT-proBNP v myokardu. V klinických studiích byly hlášeny inverzní asociace mezi hladinou 25(OH)D a NT-proANP u srdečního selhání a mezi 25(OH)D a BNP u dialyzovaných pacientů. Tyto studie však měly k dispozici malé skupiny pacientů a nebyly založeny na případech pacientů žijících v USA, kde je běžná lepší výživa a fortifikace mléka. Vzhledem k nepříznivým zdravotním důsledkům nedostatku 25(OH)D a nedostatkem studií pacientů s akutním infarktem myokardu (zvláště rizikovou skupinou), byla snaha zkoumat sdružení nedostatku 25(OH)D s NT-proBNP v multicentrické kohortě pacientů trpících akutním infarktem myokardu (Wetmore et al, 2011).

3.5. Vitamín D a imunita

Vitamín D má významný vliv na přirozenou a adaptivní imunitu. Imunitní modulační úloha vitamínu D je podporována přítomností VDR a hydroxylací 25(OH)D v příslušných buněčných typech, včetně makrofágů a dendritických buněk.

V experimentálních studiích o vitamínu D bylo prokázáno, že inhibuje proliferaci $CD4^+$ T- buněk a snižuje produkci Th1 cytokinů a interleukinu 17 (IL-17). Studie vitamínu D a Th2 cytokinů přinesly sporné výsledky (možná proto, že byly rozdíly v cílových buňkách, načasování a v podání dávky vitamínu). Například, u vitamínu D bylo prokázáno, že zvyšuje a inhibuje syntézu IL-4 v kulturách naivních T- buněk. V myších modelech alergického zánětu dýchacích cest je vitamín D a UVB záření inhibováno alergickým zánětem dýchacích cest a dochází ke snížení hladiny IL-4 v tekutině získané bronchoalveolární laváží. V souladu s potenciálně komplexními účinky vitamínu D na astma se zvýší sérové hladiny IL-13 a IgE, ale nevyvíjejí alergický zánět dýchacích cest (Paul et al, 2012).

3.5.1. Metabolismus vitamínu D a přirozená imunita

Vrozený imunitní systém v těle je první linií obrany před patogenní výzvou a objevuje se bezprostředně po infekci a není specifický. Vrozená imunitní odpověď na infekci zahrnuje

systém komplementu, antibakteriální reakce neutrofilů a makrofágů, ale zahrnuje rovněž prezentace antigenu do lymfatických buněk z adaptivního nebo získaného imunitního systému. Důkazy naznačují, že vitamín D je zapojen do regulace různých složek vrozeného imunitního systému a může tedy být klíčovou součástí lidského těla na boj proti infekci. První údaje spojující vitamín D a vrozenou imunitu vznikly ze studií metabolismu vitamínu D a zejména vitamín D aktivujícího enzymu 1α- hydroxylázy. V klasickém prostředí ledvin je exprese a aktivita 1α- hydroxylázy regulována citlivým způsobem endokrinními faktory, které jsou spojené s homeostázou vápníku a fosfátů, jako je například parathormon a růstový faktor fibroblastů 23. Nicméně, u podobných faktorů není důležité, že 1α- hydroxyláza hraje důležitou roli v regulaci extra-renální činnosti. Místo toho, objasnění odlišného mechanismu spojujícího monocyty, 1α- hydroxylázu a citlivost k patogenům, poskytlo zásadní průlom v pochopení vztahu mezi metabolismem vitamínu D a vrozenou imunitou (Lagishetty et al, 2011).

Monocyty a makrofágy jsou významnými členy vrozeného imunitního systému. Vzhledem k tomu jsou schopné fagocytózy patogenů a vnímají patogeny spojené molekulárními vzorci (PAMPs) exprimovanými těmito patogeny. Toho je dosaženo prostřednictvím patogen rozpoznávajících receptorů (PRR), jako jsou Toll-like receptory (TLR), které jsou vyjádřeny v mnoha buněčných typech, včetně monocytů. Běžné studie TLR obsahují TLR2, který reaguje na Gram pozitivních bakteriích a mykobakteriích, TLR4, který reaguje na Gram negativních bakteriích a TLR3, který reaguje na dvouvláknové RNA spojené s virovými infekcemi. TLR jsou úzce spojeny s vrozenými odpověďmi monocytů na infekce zjištěné v celé řadě buněčných typů, včetně dalších imunitních buněk, jako jsou dendritické buňky a lymfocyty. V důsledku toho je zřejmé, že uznání patogenu a související imunitní odpovědi jsou společným rysem mnoha tkání, zejména těch, které jsou v tzv. bariérových místech v těle (Lagishetty et al, 2011).

Buňky jako jsou monocyty, jsou schopny využít TLR jako podpory vhodné vrozené imunitní odpovědi vůči patogenům internalizovaným fagocytózou. Tím se omezuje možnost poškození hostitelské buňky patogenem. V roce 2006 byla studie k vymezení spektra genů regulována v závislosti na rozkladu bakterie *Mycobacterium tuberculosis* monocytárním TLR2/1. Ukázala konkrétní indukci 1α- hydroxylázy a VDR. Tato data ukazují intrakrinní systém, ve kterém se lokálně syntetizovaný $1,25(OH)_2D_3$ může vázat na endogenní VDR a společně regulují genovou expresi monocytů. Potenciální cíle pro tuto intrakrinní reakci zahrnují antibiotický protein cathelicidin (LL37), který je přímým transkripčním cílem pro $1,25(OH)_2D_3$-VDR komplex. Funkční analýzy ukázaly, že v návaznosti

na *Mycobacterium tuberculosis*- TLR2/1 aktivaci $1,25(OH)_2D_3$ a 25(OH)D je indukovaná exprese LL37 v makrofázích a že to je shodné se zvýšeným zabíjením *Mycobacteria tuberculosis*. Tato pozorování ukázala, že indukce monocytárního LL37 zahrnuje TLR2/1 aktivaci 1α- hydroxylázy a VDR, ale přesto může být v konečném důsledku závislá na koncentraci dostupné neaktivní formy vitamínu D (25(OH)D) na podporu intrakrinní indukce zabíjení bakterií. Přirozeně se vyskytující rozdíly v sérových hladinách 25(OH)D korelují s monocytárním LL37. V důsledku toho budou jedinci s nedostatkem vitamínu D (nízká koncentrace 25(OH)D) méně schopni podpořit monocytární indukci LL37, a proto mohou být vystaveni vyššímu riziku infekce. Naopak bylo prokázáno, že dostatečný přísun vitamínu D osobám s nedostatkem in vivo zlepšuje TLR-zprostředkovanou indukci monocytárního LL37, a tedy může přispět k ochraně proti infekci (Lagishetty et al, 2011).

3.5.2. Vitamín D a adaptivní imunita

Přítomnost VDR na lidských lymfocytech byla jednou z prvních pozorování podmiňujících vliv vitamínu D v nekalciotropní odpovědi. Skutečnost, že expresí těchto receptorů nastává aktivace T- lymfocytů a B- lymfocytů, poskytla důkaz o funkcích pro vitamín D jako modulátor získané (adaptivní) části imunitního systému.

S ohledem na B- lymfocyty, schopnost $1,25(OH)_2D_3$ potlačit proliferaci a tvorbu imunoglobulinů byla původně určena pouze pro nepřímý účinek zprostředkovaný Th lymfocyty. Nejnovější zpráva však ukázala, že $1,25(OH)_2D_3$ skutečně má přímý vliv na homeostázu B- lymfocytů. Kromě potvrzení přímých VDR- zprostředkovaných účinků na proliferaci B- lymfocytů a imunoglobulinů, tato studie rovněž zdůraznila schopnost $1,25(OH)_2D_3$ inhibovat diferenciaci B- lymfocytů na plazmatické buňky a vznik paměťových B-buněk, což ukazuje na možnou úlohu vitamínu D v B- lymfocytech souvisejících s poruchami, jako je systémový lupus erythematosus (SLE). Ve skutečnosti autoři této studie ukázali, že pacienti se SLE měli výrazně nižší sérové hladiny 25(OH)D a $1,25(OH)_2D_3$ než kontroly (Adams a Hewison, 2008).

Nejlépe zavedené funkce vitamínu D v rámci adaptivního imunitního systému se týkají schopnosti $1,25(OH)_2D_3$ modulovat proliferaci a funkci T- lymfocytů. Po detekci VDR v aktivovaných proliferujících T-lymfocytech pokračovalo několik skupin T- lymfocytů v silné antiproliferativní odpovědi na $1,25(OH)_2D_3$ v těchto buňkách. Z různých podskupin T-lymfocytů, hlavním cílem pro $1,25(OH)_2D_3$, jsou Th lymfocyty (pomocné).

Počáteční studie ukázaly, že $1,25(OH)_2D_3$ nejen působí na potlačení proliferace Th lymfocytů, ale také reguluje jejich produkci cytokinů, jako jsou IL-2. Antigenem

zprostředkované výsledky aktivace naivních Th lymfocytů na produkci pluripotentních Th0 lymfocytů, které syntetizují široké spektrum cytokinů, včetně IL-2, IL-4, IL-10 a interferonu γ (IFN-γ). Proliferující Th0 lymfocyty se pak mohou diferencovat do podskupin, které mají odlišný profil cytokinů Th1 (IL-2, IFN-γ, tumor necrosis factor) a Th2 (IL-3, IL-4, IL-5, IL-10), které v tomto pořadí podporují buněčnou a humorální imunitu. Klíčem imunomodulační vlastnosti $1,25(OH)_2D_3$ je jeho schopnost inhibovat vznik Th1 cytokinů, zatímco zvyšují Th2 cytokiny. $1,25(OH)_2D_3$ působí buď přímo prostřednictvím účinků na T- lymfocyty nebo nepřímo prostřednictvím vlivu na antigen prezentující buňky (Adams a Hewison, 2008).

Silné účinky $1,25(OH)_2D_3$ v přednostně podporované buněčné imunitě Th1 spíše než v imunitě zprostředkované protilátkami byly navrženy jako jeden z hlavních mechanismů, kterými může vitamín D uplatnit příznivý vliv na autoimunitní onemocnění. Nedávné studie však ukázaly, že účinky $1,25(OH)_2D_3$ na T- lymfocyty jsou složitější a zahrnují tvorbu IL-10 k produkci $CD4^+$ a $CD25^+$ T-lymfocytů (regulační T- reg). Dříve známé jako supresorové T-buňky, T- reg podporují toleranci k vlastním antigenům a jsou proto hlavním faktorem v boji proti autoimunitním onemocněním a rejekci štěpu proti hostiteli u transplantace jater. Kromě toho, podmínkou další cesty vitamínu D v ochraně proti autoimunitním onemocněním je indukce T- reg buněk. Je tedy pravděpodobné, že indukce T- reg bude klíčovým přínosem navrhovaného využití $1,25(OH)_2D_3$ nebo jeho syntetických analogů jako podpora imunitní tolerance orgánu po transplantaci (Adams a Hewison, 2008).

Několik laboratoří popsalo schopnost vitamínu D podporovat regulační T-buňky (T-reg). T-reg hrají důležitou roli v regulaci imunitní odpovědi a inhibují Th2 odpověď, stejně jako zánět dýchacích cest i dráždivou reakci dýchacích cest, která může být klíčem k potenciální úloze vitamínu D u astmatu. Vitamín D působí na dendritické buňky, které hrají klíčovou roli při aktivaci T- lymfocyty zprostředkované imunitní odpovědi, která je spojená se sníženou expresí MHC třídy II a kostimulačních ligandů, sníženou sekrecí imunostimulačního cytokinu IL-12 a zvýšením IL-10 (protizánětlivý cytokin se silnými inhibiční účinky na Th1 a Th2 odpověď). Vitamín D také působí přímo na T-buňkách jako podpora IL-10 vylučovat T-reg fenotyp buď samostatně, nebo v součinnosti s glukokortikoidy. V experimentálních modelech alergického onemocnění dýchacích cest IL-10 trvale ukazuje protizánětlivé vlastnosti a v řadě studií i snížení dráždivosti reakce dýchacích cest, i když několik studií uvádí schopnost IL-10 zvyšovat dráždivou reakci dýchacích cest případně prostřednictvím účinku na hladkou svalovinu dýchacích cest. Důvody tohoto rozdílu v účinku na dýchací cesty, hyper-reaktivitu (ať už směrem nahoru nebo dolů), nebyly dosud objasněny. V modelech na zvířatech perorální a lokální podávání

vitamínu D prokázalo zvýšení T-reg. Na zvířecím modelu alergické experimentální encefalomyelitidy byla nezbytná signalizace IL-10 pro $1,25(OH)_2D_3$ zprostředkovanou inhibici onemocnění. V poslední době, $1,25(OH)_2D_3$ potencoval příznivé účinky alergenové imunoterapie v myším modelu alergického astmatu, která byla závislá na IL-10 a transformujícícm růstovém faktoru β. Vitamín D také zvyšuje syntézu dendritických buněk a B- lymfocytů, zatímco inhibuje produkci protilátek, včetně IgE (Lange et al, 2009).

3.5.3. Astma a vitamín D

Astma je veřejný zdravotní problém, který postihuje odhadem 22 milionů lidí ve Spojených státech a 300 milionů lidí po celém světě. Astma je třetí nejčastější příčinou hospitalizace u dětí do 15 let s 26,2 výboji na 10000 obyvatel. Ve Spojených státech tvoří náklady na zdravotní péči a hospitalizaci spojenou s astmatem 19,7 bilionů dolarů ročně (Brehm et al, 2010).

U většiny pacientů může být dosaženo kontroly astmatu, jak je definováno ve směrnicích, dlouhodobým užíváním léků. Nicméně značný podíl pacientů nedosahuje optimální kontroly astmatu navzdory léčbě, dokonce ani ve vysokých dávkách. Zejména není poskytnuta dostatečná kontrola u pacientů s těžkým přetrvávajícím astmatem, u nichž je vysoké riziko těžkých exacerbací astmatu a související mortality. Tito pacienti představují největší nenaplněnou lékařskou potřebu mezi dnešní astmatickou populací.

Vitamín D má několik účinků na vrozený a adaptivní imunitní systém, které by mohly být relevantní v primární prevenci astmatu, při ochraně proti astmatu nebo snížení nemocnosti a modulaci závažnosti exacerbací astmatu. Průřezové studie naznačují, že nízké hladiny 25(OH)D u pacientů s mírným až středně těžkým astmatem jsou korelovány se špatnou kontrolou astmatu, sníženou funkcí plic, sníženou reakcí glukokortikoidů, častějšími exacerbacemi a následným zvýšeným užíváním steroidů. Nicméně je to nedostatečný důkaz k podpoře příčiny souvislosti mezi vitamínem D a astmatem. Tím spíše, že jsou k dispozici velmi omezené údaje u dospělých pacientů s astmatem, které se zabývají dopady vitamínu D na tlumení nákaz a jejich závažnosti (Korn et al, 2013).

3.6. Vliv vitamínu D na rakovinu

3.6.1. Rakovina prsu

V oblasti výzkumu rakoviny se ukázal vitamín D jako nejplodnější téma v posledním desetiletí. Je spojován snížením rizika u různých epiteliálních nádorů. Kromě homeostázy

kalcia, vitamín D vykazuje širokou škálu imunogenní a antiproliferativní aktivity v těle. Zvláštní zájem věnují onkologové snížení incidence rakoviny prsu, tlustého střeva a rakoviny prostaty vlivem slunečního záření, vyššího příjmu nebo vyšší sérové hladiny vitamínu D. Vitamín D uplatňuje svůj antiproliferativní účinek vazbou na receptor vitamínu D (VDR) nalezený v různých tkáních a buňkách těla. Několik lidských genů obsahuje na vitamín D reagující prvky (specifické sekvence DNA), které kódují proteiny důležité v regulaci buněčné proliferace, diferenciace, apoptózy a angiogeneze. Pokud sérové hladiny vitamínu D nejsou optimální, tyto aktivity jsou narušeny a následně dojde ke zvýšení buněčného růstu, neoangiogenezi a probíhá vývoj rakoviny. Prsní buňky mají VDR ve svých jádrech a předpokládá se, že polymorfismus genů pro tyto VDR má za následek zvýšené riziko rakoviny prsu (Imtiaz et al, 2012).

Sérové koncentrace 25(OH)D, stejně jako léčba doplňky obsahujícími vitamín D, jsou významné nezávislé prediktory rizika rakoviny prsu. U žen s hladinami 25(OH)D vyššími než 50 ng/ml bylo o 50% nižší riziko rakoviny prsu ve srovnání s ženami, u nichž byla hladina 25(OH)D v séru nižší než 30 ng/ml. Bylo prokázáno, že užívání perorálního kalcia a sérové hladiny vitamínu D jsou spojeny se sníženým rizikem rakoviny prsu u žen před menopauzou, ale výsledky nebyly statisticky významné u žen po menopauze. Existují údaje o tom, že ženy s pokročilým karcinomem prsu mají výraznější nedostatek vitamínu D, než ženy s nemocí v raném stadiu. Nízké sérové hladiny vitamínu D jsou běžné v době diagnózy rakoviny prsu a jsou spojeny s horší prognózou z hlediska celkového přežití a přežití bez vzdálených metastáz zvláště u postmenopauzálních žen (Imtiaz et al, 2012).

V některých liniích buněk u karcinomu prsu $1,25(OH)_2D_3$ zvyšuje expresi E-cadherinu, který zabraňuje invazi nádoru a metastázám. Kromě toho má $1,25(OH)_2D_3$ silnou antiangiogenní aktivitu, která pravděpodobně přispívá k inhibici šíření tumoru. U $1,25(OH)_2D_3$ také bylo prokázáno, že snižuje aktivitu matrixových metaloproteináz, aktivitu urokinázového a tkáňového typu aktivátoru plazminogenu, zvyšuje expresi inhibitoru aktivátoru plazminogenu a inhibitoru matrixových metaloproteináz, které patří mezi důležité mediátory invaze nádoru a metastáz (Shao et al, 2012).

3.6.2. Kolorektální karcinom

Vitamín D a jeho metabolity snižují výskyt různých druhů rakoviny tím, že inhibují angiogenezi rakoviny, stimulují normální buňky a také tím, že podporují inhibici proliferace. Metabolity vitamínu D také pomáhají udržovat standardní gradient vápníku v různých

epiteliálních buňkách tlustého střeva. Vysoká hladina 25(OH)D v krevním séru je spojována s výrazným snížením proliferace nerakovinových buněk. Anti-proliferačního účinku vitamínu D je dosaženo tím, že způsobí zástavu G1 fáze buněčného cyklu, která je pravděpodobně zprostředkována up-regulačními inhibitory buněčného cyklu. Vitamín D moduluje aktivaci cyklu těchto buněčných genů souvisejících s různými mechanismy. Vitamín D má rovněž antikarcinogenní účinky. Interferuje se syntézou růstových faktorů a cytokinů a modulací jejich signálních drah. Kromě účinků inhibujících růst indukuje vitamín D diferenciaci buněk tlustého střeva. $1,25(OH)_2D_3$ a jeho analogy vyvíjí anti-karcinogenní aktivitu v lidských buňkách rakoviny tlustého střeva inhibicí proliferace a indukcí diferenciace a apoptózy. $1,25(OH)_2D_3$ výrazně zvyšuje expresi a aktivitu alkalické fosfatázy, což je marker diferenciace buněk tlustého střeva. Receptorem vitamínu D aktivovaný $1,25(OH)_2D_3$ vytváří změny v integritě, zvyšuje diferenciaci a snižuje onkogenní buněčné signalizace. Indukce těchto genů ovlivňuje buněčnou onkogenezi a vývoj tkáně. Tudíž léčba $1,25(OH)_2D_3$ potlačuje onkogenní geny v buňkách tlustého střeva. Konečně, VDR genotypy jsou spojené s protinádorovou aktivitou u kolorektálního karcinomu. Existuje několik genotypů receptoru vitamínu D. Například nejdůležitější VDR genotyp je Bsm I, který má 3 varianty: BB, Bb a bb v Americe. Genotyp bb je spojen s nižší koncentrací cirkulujícího $1,25(OH)_2D_3$, což vede ke zvýšení výskytu rakoviny tlustého střeva (Kang et al, 2011).

3.7. Nedostatek vitamínu D v těhotenství

V průběhu těhotenství dochází k několika změnám v metabolismu vitamínu D. Exprese 1α-hydroxylázy se zvyšuje v ledvinách a placentě a koncentrace sérového $1,25(OH)_2D_3$ se zvyšuje normálně v těhotenství od prvního do třetího trimestru. Role $1,25(OH)_2D_3$ během těhotenství na zvýšení střevní absorpce vápníku je již dlouhou dobu uznávaná (Vandevijvere et al, 2012).

Nedostatek vitamínu D v těhotenství je celosvětovou epidemií; studie uvádějí prevalenci, která se pohybuje v rozmezí 18-84%, v závislosti na zemi a místních zvycích. Ve Spojených státech se výskyt nedostatku vitamínu D odhaduje na 5-50% těhotných žen. Africké Američanky mají mnohem vyšší riziko nedostatku vitamínu D ve srovnání s jinými ženami, protože mají zvýšenou pigmentaci kůže a nízký příjem vitamínu D v potravě. Bodnar et al (2007) zjistili výskyt deficitu vitamínu D a jeho nedostatku u 200 bílých a 200 černých těhotných žen a v pupečníkové krvi jejich novorozenců. U těhotných afrických Američanek, došlo k deficitu vitamínu D a nedostatku u 29,2% a 54,1%, ve srovnání s 5% a 42,1% u bílých

těhotných žen. Zajímavé je, že 90% účastníků studie uvedlo, že užívali prenatální vitamíny. Při porodu došlo k deficitu vitamínu D a insuficienci u 45,6% a 46,8% černých novorozenců, v porovnání s 9,7% a 56,4% bílými novorozenci (Mulligan et al, 2010).

3.7.1. Účinky gestačního nedostatku vitamínu D na plod a novorozence

Některé studie prokázaly souvislost mezi velikostí dítěte a hladinou vitamínu D. Ve studii u 449 íránských těhotných žen, byla vyšší průměrná porodní délka nalezena u dětí od matek, které přijímaly doporučené denní dávky vápníku a vitamínu D. Výskyt nízké porodní hmotnosti byl významně nižší u novorozenců od matek užívajících doporučené dávky vápníku a vitamínu D. Celkový příjem vitamínu D byl významným ukazatelem kojenecké porodní hmotnosti, pokud byl upraven pro gestační dobu. Po úpravách dat pro příjem energie, ostatních živin (vápník, železo, kyselina listová, proteiny, zinek) a dalších možných matoucích proměnných, přetrvával významný přímý trend mezi porodní hmotností a vitamínem D. Kromě toho, těhotné ženy, jejichž příjem vitamínu D byl menší než 200 IU/d, měly děti, jejichž porodní hmotnosti byly asi o 60 g nižší než u žen, jejichž příjem vitamínu D byl nad 200 IU/d (Mulligan et al, 2010).

Význam vitamínu D pro vývoj kostry plodu a kojence je známý již dlouho. Nízká mineralizace kostí v děloze, která je vyvolána nedostatkem vitamínu D, se může projevit vrozenou křivicí nebo osteopenií u novorozenců. Vrozené křivice jsou vzácné, typicky se objevují pouze u dětí narozených matkám s těžkým deficitem vitamínu D a osteomalácií. U donošených dětí porucha kostní osifikace plodu koreluje s mateřským deficitem vitamínu D. Překvapivě snížené koncentrace 25(OH)D u matek v pozdní fázi těhotenství byly spojeny se zmenšením celého těla a bederní páteře a snížením kostní minerální výplně u jejich dětí ve věku 9 roků. Mateřský nedostatek vitamínu D byl také spojen s většími fontanelami u donošených novorozenců, což je v souladu s poruchou osifikace lebky, ale tento nález je sporný (Mulligan et al, 2010).

3.7.2. Nedostatek vitamínu D během laktace

V prvních 6 až 8 týdnech postnatálního života je hladina vitamínu D u novorozence závislá hlavně na vitamínu D, který byl získán placentárním přenosem v děloze, o čemž svědčí přímý lineární vztah mezi mateřskou a pupečníkovou krevní hladinou 25(OH)D. U většiny dětí se rezerva vitamínu D získaná od matky vyčerpá přibližně do 8 týdnů věku. Poté je vitamín D získáván ze stravy, slunečního záření a doplňků. Obecně platí, že krmené děti obdrží odpovídající množství vitamínu D, protože se přidává do všech receptů ve Spojených státech v množství 400 IU vitamínu D na litr. Naopak děti, které jsou výhradně

kojené, jsou náchylnější na vyšší riziko nedostatku vitamínu D. Mateřské mléko obsahuje velmi nízké koncentrace vitamínu D (přibližně 20 až 60 IU/l), což představuje 1,5 až 3% z mateřské dávky. Tato koncentrace není dostatečná k udržení optimální hladiny vitamínu D v organismu dítěte, pokud je omezena expozice slunečnímu záření.

U kojených dětí vitamín D deficitními matkami se občas projevují život ohrožující onemocnění jako hypokalcemické záchvaty a dilatační kardiomyopatie. Ve Spojeném království a Irsku je výskyt křivice spojený se srdečním selháním a je odhadován na 2,7 případů za rok. Studie z Kanady v letech 2002 a 2004 označily výskyt vitamín D deficitní křivice u dětí do 18 let na 2,9 případů na 100 tisíc. 19% z nich trpělo celkovými hypokalcemickými záchvaty. V jiném případě z Londýna v letech 1996 a 2001, byl závažný nedostatek vitamínu D identifikován u 65 dětí mladších 16 let, 25% z nich mělo záchvaty. Nedávné zprávy o vlivu křivice na kojené děti s nedostatkem slunečního záření, jsou znepokojující. Všechny tyto okolnosti reagují na vápník a náhradu vitamínu D nebo vystavení slunečnímu záření. Proto od listopadu 2008 Americká akademie pediatrů doporučuje, aby výhradně kojené děti dostávaly doplňky stravy, které obsahují 400 IU vitamínu D denně. Začíná se krátce po narození a pokračuje se během dětství a dospívání. Jako doplňky jsou již tradičně k dispozici pouze kapalné přípravky, které jsou podávány kapátkem a obsahují vitamíny A a C, ale v současné době je k dispozici kapalný vitamín D samostatně bez dalších vitamínů. Nedávné studie ukazují, že matky, které přijímají vitamín D v hodnotě 4000 IU denně během kojení, mají dostatečně zvýšenou hladinu vitamínu D v mateřském mléce a mohou potenciálním terapeutickým zásahem zabránit komplikacím z nedostatku vitamínu D u sebe i svých kojených dětí (Mulligan et al, 2010).

4. Metody stanovení vitamínu D

Hladina 25(OH)D je nejlepším ukazatelem hodnoty vitamínu D v plazmě. 25(OH)D, je hlavní cirkulující forma vitamínu D a má poločas rozpadu 2-3 týdny. $1,25(OH)_2D_3$ má kratší poločas (přibližně 4 hodiny), cirkuluje v mnohem nižších koncentracích, než 25(OH)D. Hladina 25(OH)D je regulována parathormonem, vápníkem a fosfáty. Také koncentrace $1,25(OH)_2D_3$ koreluje více s funkcí ledvin, než s nedostatkem vitamínu D. Stanovení vitamínu D by měla měřit i D_2 a D_3 deriváty 25(OH)D, protože oba deriváty jsou biologicky aktivní pro 1α- hydroxylace. Existuje mnoho komerčně dostupných 25(OH)D testů používaných pro stanovení vitamínu D. Patří mezi ně chemické analýzy jako je např. vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) a hmotnostní spektrometrie (MS). Dále vazebné testy – imunologické, tj. radioimunoanalýza (RIA), enzymová imunoanalýza (EIA), chemiluminiscenční imunoanalýza (CLIA) a proteinové testy. Variabilita mezi testy představuje důležitý problém. HPLC a kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) jsou považovány za zlaté standardy pro stanovení vitamínu D. Imunologické analýzy a protein vazebné analýzy hlásí celkovou hodnotu vitamínu D (Sahay a Sahay, 2012).

4.1. Kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií

Kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) změnila tvář laboratorního testování tím, že je to multiplexní, vysoce výkonná analýza s lepší analytickou specifičností, než je v současné době možné pomocí "jen protilátkové" detekční metody. Různé LC-MS/MS metody založené na měření 25(OH)D byly realizovány v klinických laboratořích, což vede k podstatnému zlepšení v přesnosti měření vitamínu D.

Častěji je stanovován 25(OH)D z důvodu vyšší koncentrace v plazmě, proto je jedním z problémů souvisejících s měřením tisíckrát nižší koncentrace $1,25(OH)_2D_3$ v plazmě oproti jeho prekurzoru. Problémem nízké koncentrace je špatná ionizace analytu a potenciální problémy, které přináší derivatizace nezbytné pro adekvátní analytickou citlivost. Kromě toho mohou nekvalitní techniky pro přípravu vzorků mít podstatný negativní vliv na výkon klinických LC-MS/MS metod (Strathmann et al, 2011).

4.2. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

K odstranění interferujících metabolitů vitamínu D byla vyvinuta jednoduchá preparativní chromatografie, která odděluje 25(OH)D z většího počtu polárních metabolitů, které mohou zasahovat do testu. V polovině 70. let minulého století byla vysokoúčinná kapalinová

chromatografie (HPLC) aplikována na stanovení koncentrace 25(OH)D. Tento test zahrnoval extrakci lipidů v séru a následně preparativní chromatografii a na frakci 25(OH)D byla použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie a UV absorbance 25(OH)D byla použita k měření jeho koncentrace. HPLC je sice považována za zlatý standard, ale je to velmi těžkopádný test, a proto se běžně referenčními laboratořemi pro klinické vzorky nepoužívá (Holick, 2009).

Závěr

Vitamín D je v největší míře získáván ze slunečního záření, ale také záleží na věku, stravovacích návycích jedinců a ročním období. Zanedbatelná není ani vzdálenost od rovníku, čím dále od rovníku jsme, tím nižší je syntéza vitamínu D v kůži.

Kromě známého vlivu nedostatku vitamínu D na vývoj kostí jedince má vitamín D vliv na řadu systémů v těle.

Vitamín D je aktivován v ledvinách a poté putuje do celého organismu, kde působí prostřednictvím svého specifického receptoru, který je k jeho aktivaci nezbytný.

Receptor vitamínu D je přítomen v jádrech a membránách buněk téměř všech tkání v těle a je zodpovědný za expresi mnoha genů. Receptor vitamínu D také spolupracuje s transkripčními faktory, z čehož vychází velké množství fyziologických účinků vitamínu D na různé tkáně a systémy v organismu. On sám může také vystupovat jako transkripční faktor. Může ovšem transkripci genů i potlačovat.

Nedostatek vitamínu D má vliv na kardiovaskulární systém, kde nízká hladina vitamínu D způsobuje různé dysfunkce, které mohou vyústit v život ohrožující stavy. Tímto stavem je například ateroskleróza, u které nedostatek vitamínu D zvyšuje výskyt acetylovaných a oxidovaných LDL částic, z nichž jsou tvořeny pěnové buňky ukládající se do stěny tepen a tím dochází k arteriální kalcifikaci. Nedostatek vitamínu D ovlivňuje srdeční strukturu a funkci. Kontraktilita myokardu je ovlivňována prostřednictvím receptoru vitamínu D na kardiomyocytech. Dochází k odchylkám ve smršťovací funkci srdečního svalu a ke kardiomegalii v důsledku nadměrného ukládání kolagenu, což je také spojováno s nedostatkem vitamínu D. Může dojít až k akutnímu infarktu myokardu a dysfunkci levé komory.

Negativní důsledky vlivu nedostatku vitamínu D nejsou zanedbatelné ani u imunitního systému. Zvláště u dětí a dospívajících způsobuje nedostatek vitamínu D různě těžké formy astmatu a alergií. Nedostatkem vitamínu D je snížena syntéza dendritických buněk, které jsou důležité pro aktivaci T- lymfocytů a tím dochází ke snížení protizánětlivého účinku T-lymfocyty ovlivňovaných cytokinů. Bez dostatku vitamínu D je imunitní systém T-buněk neaktivní a poskytuje jenom malou nebo žádnou ochranu proti napadení mikroorganismy a viry. Jedinec je tak náchylnější k infekci.

Vitamín D reguluje proliferaci, deferenciaci, apoptózu a angiogenezi buněk, čímž ovlivňuje vznik a šíření rakoviny v těle. Bylo prokázáno, že u osob s nedostatkem vitamínu D je pravděpodobnější vznik rakoviny než u osob, které nedostatkem vitamínu D netrpí.

Nejvíce nebezpečný je však deficit vitamínu D pro těhotné a kojící ženy. Vlivem těžkého nedostatku vitamínu D v průběhu těhotenství může dojít k deformitám rostoucích kostí dítěte už v děloze. Tyto děti pak často trpí již zmiňovaným astmatem a mají nižší porodní váhu.

I přes dlouhou řadu doplňků stravy obsahujících vitamín D je jeho vliv na zdravotní stav mezi lidmi ze značné části opomíjený, což vede k výše popsaným zdravotním komplikacím a důsledkům z nich plynoucím.

Použitá literatura

ADAMS, J. S. a HEWISON M. Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Clinical Practice Endocrinology*. 2008, 4(2), s. 80-90

ANDIRAN, N., ÇELIK N., AKÇA H. a DOĞAN G. Vitamin D deficiency in children and adolescents. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology* [online]. 2012, 4(1), s. 25-29

ARTAZA, J. N., CONTRERAS S., GARCIA L. A., MEHROTRA R., GIBBONS G., SHOHET R., MARTINS D. a NORRIS K. C. Vitamin D and cardiovascular disease: Potential role in health disparities. *Journal of Health Care for the Poor and Underserved*. 2011, 22(4), s. 23-38

BENER, A. a HOFFMANN G. F. Nutritional rickets among children in a sun rich country. *International Journal of Pediatric Endocrinology*. 2010, 2010, s. 1-7

BREHM, J. M., SCHUEMANN B., FUHLBRIGGE A. L., HOLLIS B. W., STRUNK R. C., ZEIGER R. S., WEISS S. T. a LITONJUA A. Serum vitamin D levels and severe asthma exacerbations in the childhood asthma management program study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010, 126(1), 52-58

CAMPBELL, F.C., XU H., EL-TANANI M., CROWE P. a BINGHAM V. The Yin and Yang of vitamin D receptor (VDR) signaling in neoplastic progression: Operational networks and tissue-specific growth control. *Biochemical Pharmacology*. 2010, 79(1), s. 1-9

CHAN, Z. C., CHUA G. T. a CHENG S. W. Vitamin D status and peripheral arterial disease: Evidence so far. *Vascular Health and Risk Management*. 2011, 7, s. 671-675

CHOLEKALCIFEROL. [cit. 2013-04-15]. Dostupný z: http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?cpd:C05443

CHRISTODOULOU, S., GOULA T., VERVERIDIS A. a DROSOS G. Vitamin D and bone disease. *BioMed Research International*. 2013, 2013, s. 1-6

CHUN, R. F., PEERCY B. E., ADAMS J. S., HEWISON M. a CAMPBELL M. Vitamin D binding protein and monocyte response to 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D: Analysis by mathematical modeling. *PLoS ONE*. 2012, 7(1), s. 1-10

ERGOKALCIFEROL. [cit. 2013-04-15]. Dostupný z: http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?cpd:C05441

GARCIA, V. C. a MARTINI L. A. Vitamin D and cardiovascular disease. *Nutrients*. 2010, 2(4), s. 426-437

GATTINENI, J. a BAUM M. Genetic disorders of phosphate regulation. *Pediatric Nephrology*. 2012, 27(9), s. 1477-1487

GOMBART, A. F. The vitamin D–antimicrobial peptide pathway and its role in protection against infection. *Future Microbiology*. 2009, 4(9), s. 1151-1165

HOLICK, M. F. Vitamin D status: Measurement, interpretation, and clinical application. *Annals of Epidemiology*. 2009, 19(2), s. 73-78

HOLICK M.F., BINKLEY N.C., BISCHOFF-FERRARI H.A., GORDON C.M., HANLEY D.A., HEANEY R.P., MURAD M.H. a WEAVER C.M. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2011, 96(7), s. 1911–1930

IMTIAZ, S., RAZA S. A., MUHAMMAD A., SIDDIQUI N. a LOYA A. Vitamin D deficiency in newly diagnosed breast cancer patients. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012, 16(3), s. 409-413

JAGTAP, V. S., SARATHI V., LILA A. R., BANDGAR T., MENON P. a SHAH N. S. Hypophosphatemic rickets. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012, 16(2), s. 177-182

JOERGENSEN, C., REINHARD H., SCHMEDES A., HANSEN P. R., WIINBERG N., PETERSEN C. L., WINTHER K., PARVING H.-H., JACOBSEN P. K.a ROSSING P. Vitamin D levels and Aaymptomatic coronary artery disease in zype 2 diabetic patients with elevated urinary albumin excretion rate. *Diabetes Care*. 2011, 35(1), s. 168-172

KANG, W, SUJIN L., EUNYI J., YE-RANG Y., KOOK-HYUN K. a JUN-HYEOG J. Emerging role of vitamin D in colorectal cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2011, 3(8), s. 123-127

KHAZAI, N., JUDD S. E. a TANGPRICHA V. Calcium and vitamin D: Skeletal and extraskeletal health. *Current Rheumatology Reports*. 2008, 10(2), s. 110-117

KONGSBAK, M., LEVRING T. B., GEISLER C. a VON ESSEN M. R. The vitamin D receptor and T cell function. *Frontiers in Immunology* . 2013, 4, s. 148

KORN, S., HÜBNER M., JUNG M., BLETTNER M. a BUHL R.. Severe and uncontrolled adult asthma is associated with vitamin D insufficiency and deficiency. *Respiratory Research*. 2013, 14(1), s. 25

LAGISHETTY, V., LIU N. Q. a HEWISON M. Vitamin D metabolism and innate immunity. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011, 347(1-2), s. 97-105

LAIRD, E., WARD M., MCSORLEY E., STRAIN J.J. a WALLACE J. Vitamin D and bone health; potential mechanisms. *Nutrients*. 2010, 2(7), s. 693-724

LANGE, N. E., LITONJUA A., HAWRYLOWICZ C. M. a WEISS S. Vitamin D, the immune system and asthma. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2009, 5(6), s. 693-702

LI, Y. C. Vitamin D. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2012, 21(1), s. 72-79

MIZWICKI, M. T., MENEGAZ D., YAGHMAEI S., HENRY H. L. a NORMAN A. W. A molecular description of ligand binding to the two overlapping binding pockets of the nuclear

vitamin D receptor (VDR): Structure-function implications. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2010, 121(1-2), s. 98-105

MULLIGAN, M. L., FELTON S. K., RIEK A. E. a BERNAL-MIZRACHI C. Implications of vitamin D deficiency in pregnancy and lactation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010, 202(5), s. 1-17

PAUL, G., BREHM J. M., ALCORN J. F., HOLGUÍN F., AUJLA S. J. a CELEDÓN J. C. Vitamin D and asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2012, 185(2), s. 124-132

PRZYBYLSKI, R., MCCUNES., HOLLIS B. a SIMPSON R. U. Vitamin D deficiency in the spontaneously hypertensive heart failure [SHHF] prone rat. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2010, 20(9), s. 641-646

SAHAY, M. a SAHAY R. Rickets-vitamin D deficiency and dependency. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012, 16(2), s. 164-176

SHAO, T., KLEIN P. a GROSSBARD M. L. Vitamin D and breast cancer. *The Oncologist*. 2012, 17(1), s. 36-45

STRATHMANN, F. G., LAHA T. J. a HOOFNAGLE A. N. Quantification of 1,25-dihydroxy vitamin D by immunoextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clinical Chemistry*. 2011, 57(9), s. 1279-1285

THACHER, T. D. a CLARKE B. L. Vitamin D insufficiency. *Mayo Clinic Proceedings*. 2011, 86(1), s. 50-60

TROJAN, S. et al. Lékařská fyziologie. 4. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2003, 772 s. ISBN 80-247-0512-5

VAIDYA, A. a WILLIAMS S. The relationship between vitamin D and the renin-angiotensin system in the pathophysiology of hypertension, kidney disease, and diabetes. *Metabolism*. 2012, 61(4), s. 450-458

VANDEVIJVERE, S., AMSALKHIR S., VAN OYEN H., MORENO-REYES R. a KAPPEN C. High prevalence of vitamin D deficiency in pregnant women: A national cross-sectional survey. *PLoS ONE*. 2012, 7(8), s. 1-9

VENKATRAM, S., CHILIMURI S., ADRISH M., SALAKO A., PATEL M. a DIAZ-FUENTES G. Vitamin D deficiency is associated with mortality in the medical intensive care unit. *Critical Care*. 2011, 15(6), s. 292

WACKER, M. a HOLICK M. Vitamin D-effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients*. 2013, 5(1), s. 111-148

WANG, Ch. Role of Vitamin D in cardiometabolic diseases. *Journal of Diabetes Research*. 2013, 2013, s. 1-10

WETMORE, J. B., GADI R., LEE J. H., O'KEEFE J. H., CHAN P. S., TANG F. a SPERTUS J. A. Association of 25-hydroxyvitamin D deficiency with NT-pro BNP levels in patients with acute myocardial infarction: a cross-sectional analysis. *BioMed Central Research Notes*. 2011, 4(1), s. 542

ZHANG, R. a NAUGHTON, D. P. Vitamin D in health and disease: Current perspectives. *Nutrition Journal*. 2010, 9(65), s. 1-13

ZIMA, T. Laboratorní diagnostika. 1. vyd. Praha: Galén, 2002, 728 s. ISBN 80-7262-201-3

ZITTERMANN, A. a GUMMERT J. F. Nonclassical aitamin D actions. *Nutrients*. 2010, 2(4), s. 408-425