

MASARYKOVA UNIVERZITA

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

SUPLEMENTAČNÍ DÁVKA

VITAMÍNU D

U OSOB S IDIOPATICKÝMI

STŘEVNÍMI ZÁNĚTY

Habilitační práce

MUDr. VLADIMÍR KOJECKÝ, Ph.D.

Brno 2024

Prohlašuji, že jsem habilitační práci na téma Suplementační dávka vitamínu D u osob s idiopatickými střevními záněty zpracoval sám. Veškeré prameny a zdroje informací, které jsem použil k sepsání této práce, byly citovány v textu a jsou uvedeny v seznamu použitých pramenů a literatury.

Ve Zlíně dne 21.4.2024

Vladimír Kojecký

Poděkování

Žádná práce není dílem jen jedné ruky. Ani tato by nebyla možná bez přispění a podpory řady dalších osob. Jsem všem zavázán za pomoc a rady, které mi poskytovali.

Největší dík patří doc. MUDr. Zdeně Zádorové, Ph.D., MUDr. Janu Matoušovi z II. Interní kliniky Fakultní nemocnice Královské Vinohrady v Praze. Bez jejich pomoci při přípravě a realizaci, by nebylo možno tuto práci uskutečnit.

Velkého ocenění si zaslouží pracovnice Centra digestivní endoskopie Interního oddělení Krajské nemocnice T. Bati ve Zlíně a MUDr. Tomáš Šálek, Ph.D. z oddělení Klinické biochemie a farmakologie Krajské nemocnice T. Bati ve Zlíně.

Na práci se významně podílel Mgr. Michal Uher z Institutu biostatistiky a analýz Lékařské fakulty Masarykovy univerzity Brno.

Práci věnuji svému tatínkovi, RNDr. Vladimíru Kojeckému.

Obsah

| | | |
|------------|---|----|
| 1. | Abstrakt | 1 |
| 2. | Současné poznatky o vitamínu D | 5 |
| 2.1. | Základní biochemie | 5 |
| 2.2. | Metabolizmus vitamínu D | 6 |
| 2.3. | Mechanismus působení vitamínu D | 8 |
| 2.3.1. | Fyziologie vitamínu D | 9 |
| 2.3.1.1. | Skeletální působení vitamínu D | 9 |
| 2.3.1.2. | Extraoseální působení vitamínu D | 10 |
| 2.3.1.2.1. | Regulace buněčné proliferace | 10 |
| 2.3.1.2.2. | Kardiovaskulární systém | 11 |
| 2.3.1.2.3. | Metabolický syndrom a diabetes mellitus | 12 |
| 2.3.1.2.4. | Kosterní svalstvo | 13 |
| 2.3.1.2.5. | Imunitní systém | 13 |
| 2.3.1.2.6. | Klinické dopady nedostatku vitamínu D na imunitní funkce | 15 |
| 2.4. | Vitamín D a idiopatické střevní záněty | 18 |
| 2.4.1. | Patogeneze idiopatických střevních zánětů | 18 |
| 2.4.2. | Asociace mezi vitamínem D a idiopatickými střevními záněty | 22 |
| 2.4.3. | Epidemiologie nedostatku vitamínu D v populaci | 25 |
| 2.4.4. | Hlavní zdroje vitamínu D | 27 |
| 2.4.4.1. | Sluneční záření | 27 |
| 2.4.4.2. | Strava | 28 |
| 2.4.5. | Epidemiologie nedostatku vitamínu D u idiopatických střevních zánětů | 31 |
| 2.4.6. | Příčiny nedostatku vitamínu D u osob s idiopatickými střevními záněty | 31 |
| 2.4.7. | Stanovení vitamínu D | 33 |
| 2.4.8. | Problematika klasifikace nedostatku vitamínu D | 34 |
| 2.4.9. | Problematika suplementace vitamínu D | 37 |
| 2.4.9.1. | Typ vitamínu | 37 |
| 2.4.9.2. | Způsob podání | 37 |
| 2.4.9.3. | Dávkovací interval | 37 |
| 2.4.9.4. | Dávka vitamínu D | 39 |
| 2.4.10. | Nežádoucí účinky vitamínu D | 45 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 2.4.11. | Interakce vitamínu D..... | 47 |
| 3. | Výzkumná práce | 50 |
| 3.1. | Cíl práce | 50 |
| 3.2. | Metodická východiska..... | 50 |
| 3.3. | Část I. Odhad velikosti suplementační dávky vitamínu D | 52 |
| 3.3.1. | Cíl práce | 52 |
| 3.3.2. | Materiál a metodika | 52 |
| 3.3.3. | Výsledky | 55 |
| 3.3.4. | Diskuze | 60 |
| 3.3.5. | Závěr | 61 |
| 3.4. | Část II. Ověření velikosti potřebné dávky vitamínu D a identifikace faktorů, které ji ovlivňují..... | 62 |
| 3.4.1. | Cíle práce | 62 |
| 3.4.2. | Materiál a metodika | 63 |
| 3.4.3. | Výsledky | 68 |
| 3.4.4. | Diskuze | 79 |
| 3.5. | Závěry | 87 |
| 4. | Seznam použitých zkratk | 89 |
| 5. | Literatura | 91 |
| 6. | Seznam tabulek..... | 113 |
| 7. | Seznam obrázků..... | 114 |

Předmluva

Vitamín D byl po mnoho desítek let spojován s pouze s regulací metabolismu vápníku, fosforu a kostí. Průkaz receptorů pro vitamín D na v celé řadě buněk ukázal, že jeho role v organismu bude mnohem komplexnější. Došlo k obnovení odborného zájmu o vitamín D, s následnou publikační explozí. Během posledních deseti let bylo ve světě uveřejněno přes 15 000 prací zabývajících se vitamínem D. Publikace pokrývají problematiku od základního výzkumu po klinické využití.

Jednou z oblastí, které je věnována velká pozornost, se týká vztahu vitamínu D a onemocnění s imunopatologickým podkladem.

Za příklad mohou sloužit idiopatické střevní záněty. Víme, že nedostatek vitamínu D má negativní vliv na jejich průběh. Víme, že u těchto nemocných je nedostatek vitamínu D častý. Víme, že je vhodné jej uhradit. Kolik a jak, už přesně nevíme. Na mapě našich znalostí stále zůstává množství "bílých" míst.

Tato práce vznikla ve snaze přispět k nástinu řešení alespoň jedné z otázek, majících význam pro každodenní klinickou praxi.

1. Abstrakt

Úvod

Vitamín D (vitD) je látkou s metabolickými i imunomodulačními vlastnostmi. Nedostatek vitD je spojován s těžším průběhem idiopatických střevních zánětů (IBD) a může mít negativní dopad na efektivitu léčby. U osob s IBD je jeho nedostatek častý. Příjem potravou je obecně nízký a endogenní produkce, zvl. v zimě, nestačí na pokrytí potřeb organismu. Pro udržení normálních hladin je nezbytná jeho suplementace. Doporučená denní dávka pro běžnou populaci činí 600 IU. Doporučení pro nemocné s IBD, mimo léčených kortikosteroidy, chybí. Jaké je potřebné množství pro tyto pacienty, není známo.

Cílem práce bylo určení dávky vitamínu D, potřebné pro udržení setrvalé hladiny vitamínu D v zimním období, u osob s idiopatickými střevními záněty. Určení faktorů, které ji ovlivňují. Pro neznalost rozsahu potřebné dávky vitamínu D, byla práce rozdělena do dvou částí. V první fázi byla odhadnuta potřebná dávka, ve druhé byla správnost odhadu ověřena a byly analyzovány faktory, které na ni mají vliv.

Část I.

Metodika

Prospektivní, observační práce. Analyzovány byly párové hladiny 25-hydroxy vitamínu D (25OHD) a korelující dávky vitamínu D, které nemocní s idiopatickými střevními záněty užívali v době od podzimu do jara.

Výsledky

Do analýzy bylo zařazeno 114 osob, z toho 77 osob s Crohnovou chorobou, s průměrnou hmotností $77,9 \pm 16,0$ kg. Průměrná suplementační dávka vitamínu D činila 1869 ± 1192 IU/den. Hladina 25OHD stoupla během sledování z 56,5 nmol/l na 66,0 nmol/l ($p=0,03$). V matematickém modelu byla dávka vitamínu D, potřebná pro udržení stabilní hladiny 25OHD, stanovena na 1810 (min.-max. 1258-2943) IU/den, příp. 28,2 (17,9-46,0) IU/kg/den.

Část II.

Metodika

Prospektivní, nezaslepená, multicentrická, randomizovaná studie. Práce je registrovaná na <https://clinicaltrials.gov> (NCT02958501). Pacienti dostávali perorální cholekalciferol buď v dávce 28 IU/kg (IU/kg) nebo 2000 IU na den (IU/den) minimálně po 12 týdnů, v průběhu podzimu a zimy. Na začátku a konci sledovaného období byla vyšetřena hladina 25OHD a dalších sledovaných parametrů.

Výsledky

Zařazeno bylo 184 osob, analyzováno 173 osob. Crohnovu chorobu mělo 114 (65,9 %) osob. Průměrné BMI činilo $25,5 \pm 5,1$ kg/m² a iniciální hladina 25OHD $62,7 \pm 25,5$ nmol/l. Doporučené dávkování dodrželo 57 (67,1 %) osob ve skupině IU/den a 52 (59,1 %) ve skupině IU/kg. Užívaná dávka vitD ve skupině IU/den byla 1936 ± 499 IU/den a ve skupině IU/kg 1854 ± 681 IU/den. Během suplementace došlo u obou skupin k významnému, a obdobnému vzestupu hladin 25OHD ($9,7 \pm 26,9$ vs. $9,8 \pm 26,7$ nmol/l, $p < 0,012$). Počty osob s normálními a podnormálními hladinami po léčbě, byly v obou skupinách srovnatelné, bez ohledu na tělesnou hmotnost. Změna hladiny 25OHD pozitivně korelovala pouze s dávkou vitD ($p < 0,001$) a negativně s výchozí hladinou 25OHD ($p < 0,001$). Setrvalé hladině 75nmol/l 25OHD odpovídá vypočítaná denní dávka 2034 IU.

Závěry

U osob s idiopatickými střevními záněty dostačuje pro udržení setrvalé hladiny 25OHD perorální dávka 2000IU cholekalciferolu D denně. Toto množství je bezpečné. Dávkování vitamínu D upravené dle hmotnosti, nemá výhodu oproti fixní dávce na den. Je vhodné aktivně kontrolovat užívání vitamínu D, protože adherence k jeho užívání nemusí být dostatečná.

Klíčová slova: vitamín D, střevní záněty, deficit

Abstract

Introduction

Vitamin D (vitD) is a substance with a number of metabolic and immunomodulatory properties. Vitamin D insufficiency is associated with the disease severity and may also adversely affect treatment efficacy in inflammatory bowel disease (IBD). Vitamin D insufficiency is common in the IBD cohort. The dietary intake of the VitD is generally low. Endogenous production, especially in winter time, is not sufficient to cover the needs of the organism. A supplementation of vitD becomes essential to maintain normal levels. The suggested Recommended Dietary Allowance (RDA) of vitD for general population is 600 IU per day. There are currently no recommendations for IBD patients, except for those treated with steroids. It is not known what amount is needed for these patients.

The aim of the study was to determine the dose of vitamin D required to maintain a sustained level of vitamin D during the winter period in subjects with inflammatory bowel disease, and to identify influencing factors. Due to unknown extent of vitamin D dosage required, present study was divided into two parts. During the first phase, the required dose was estimated, followed by a second one where the accuracy of the estimation was validated, alongside an analysis of influencing factors.

Part I.

Methods

A prospective, observational study. Paired levels of 25-hydroxy vitamin D (25OHD) and correlated doses of vitamin D used from autumn to spring in IBD out-patients were analysed.

Results

The analysis included 114 persons, 77 persons with Crohn's disease, average weight 77.9 ± 16.0 kg. The mean vitamin D dose was 1869 ± 1192 IU/day. During supplementation 25OHD levels increased from 56.5 nmol/l to 66.0 nmol/l ($p=0.03$). In the mathematical model, the dose of vitamin D required to maintain a stable level of 25OHD is 1810 (min.-max. 1258-2943) IU/day, or 28.2 (17.9-46.0) IU/kg/day.

Part II.

Methods

A prospective, unblinded, multicenter, randomized study. This study is registered at <https://clinicaltrials.gov> (NCT02958501). Patients with IBD were assigned to receive oral

cholecalciferol at a dose of 28 IU/kg (IU/kg) or 2000 IU per day (IU/day) for 12 weeks during winter months. 25OHD plasma levels and other biochemical parameters were measured at baseline and after the supplementation period. The primary outcome measure was 25OHD level after the follow-up period. We sought to identify the dose required to maintain a normal 25OHD level, along with the factors involved in the efficacy of vitD supplementation. We aimed to verify the following hypothesis: a weight-based dosing of vitD is superior to a fixed daily dose in IBD patients, finally.

Results

184 persons were included, 173 persons were analysed. 114 (65.9 %) with Crohn's disease. Mean BMI was 25.5 ± 5.1 , and initial mean 25OHD level was 62.7 ± 25.5 nmol/l. The recommended dosage was followed by 57 (67.1 %) subjects in the IU/day group and by 52 (59.1 %) subjects in the IU/kg group. The dose of vitD used in the IU/day group was 1936 ± 499 IU/day and 1854 ± 681 IU/day in the IU/kg group. There was a significant ($p < 0.012$) and similar increase in 25OHD levels (9.7 ± 26.9 vs. 9.8 ± 26.7 nmol/l) during supplementation in both treatment arms in compliant subjects. The proportion of subjects with normal and sub-normal levels following the supplementation was comparable irrespective of body weight. The change in 25OHD levels correlated positively only with the dose of vitD ($p < 0.001$) and negatively with the baseline 25OHD levels ($p < 0.001$). A sustained 25OHD level of 75 nmol/l corresponds to a calculated daily vitD dose of 2034 IU.

Conclusions

In persons with inflammatory bowel disease, dose of 2000 IU vitD/day orally is sufficient to maintain stable 25OHD level during winter period. This dose appears to be safe. There is no difference between weight-based and fixed dose vitD supplementation in maintaining 25OHD plasma levels in IBD patients. It is advisable to actively monitor vitD supplementation, as the compliance may be sub-optimal.

Keywords: inflammatory bowel diseases, vitamin D intake, deficiency

2. Současné poznatky o vitamínu D

2.1. Základní biochemie

Vitamín D je souhrnné označení pro steroidní sloučeniny sloužící k syntéze kalcitriolu v organismu. Jde o fylogeneticky staré látky. Jeho prekurzory byly vytvářeny fyto- a zooplanktonem už před 500-750 milióny let. Hlavní biologickou úlohou těchto sloučenin mohla být, díky absorpčnímu maximu v oblasti UV-B záření, protekce DNA a později účast v detoxikačních funkcích a regulaci imunitní odpovědi. U vyšších živočichů, po přechodu na suchou zemi, vitamín D postupně převzal roli regulátora metabolismu vápníku a fosforu. Funkce, získané dříve během evoluce, mu zůstaly zachovány ¹.

Z chemického hlediska jde o více látek ze skupiny sterolů, které mají obdobnou strukturu. Rozlišujeme vitamín D1 až vitamín D5.

Vitamín D1 je směsí lumisterolu a ergokalciferolu. Nejde o jednu látku, proto se toto označení nepoužívá.

Vitamín D2, ergokalciferol. Chemicky (5Z,7E,22E)-(3S)-9,10-seco-5,7,10(19),22-ergostatetraen-3-ol (IUPAC).

Vitamín D3, cholekalciferol, (5Z,7E)-(3S)-9,10-seco-5,7,10(19)-cholestatrien-3-ol (IUPAC).

Vitamín D4 je 2-dihydroergokalciferol. Vytváří jej některé houby metabolizací ergokalciferolu.

Vitamín D5, sitocalciferol, je fotoizomerem 7-dehydrositosterolu.

Pro člověka je biologicky významný ergokalciferol (vitD2) a cholekalciferol (vitD3). Liší se od sebe dvojnou vazbou mezi uhlíky C22 a C23 a metylovou skupinou v poloze C24 postranního řetězce u ergokalciferolu ². Metabolické rozdíly mezi vitD2 a vitD3 souvisí s odlišností postranního řetězce. VitD2 má nižší afinitu k receptoru pro vitamín D, má kratší biologický poločas a není, oproti vitD3, preferovaným substrátem jaterní 25-hydroxylázy ³. Hlavním cirkulujícím vitamínem v těle je cholekalciferol. Tento si tělo, v množství převyšujícím perorální přívod, samo vytváří. Pro organismus má ergokalciferol, ve srovnání s cholekalciferolem, jen okrajový význam. Dále se proto budeme věnovat pouze problematice cholekalciferolu, jako vitamínu D.

2.2. Metabolismus vitamínu D

Tvorba vitD3 v organismu, začíná fotochemickým působením UV-B záření (vlnová délka 280–315 nm). Toto proniká do epidermis. Zde je absorbováno 7-dehydrocholesterolem. Dojde k rozštěpení B-kruhu dehydrocholesterolu a vzniku tzv. previtamínů D3. Tyto spontánně během několika (cca 8) hodin izomerizují za vzniku cholekalciferolu^{4,5}.

Část vitD3 získáváme stravou. V proximální polovině tenkého střeva je vitD enterocytem aktivně resorbován, cestou megalinem facilitované endocytózy. Vstřebaný vitD je včleněn do chylomikronů a přenášen do jater. Problematika intestinální resorpce vitD není stále dostatečně probádána. Při potravě chudé na tuky nebo při jejich zhoršené resorpci, by se mohlo vstřebávání vitD zhoršovat, tak jako ve stáří. Nezdá se však, že by složení stravy (obsah vlákniny, tuků) nebo věk, míru vstřebávání vitD významně měnily⁶.

VitD podléhá enterohepatálnímu oběhu. VitD a jeho metabolity jsou liposolubilní látky. V těle cirkulují vázané na transportní proteiny. Nejvýznamnějším je tzv. vitamín D vazebný protein (VDBP). S největší afinitou se na něj váže vitD3, následovaný vitD2, 24,25OHD a nejméně 1,25OHD. Plazmatické koncentrace VDBP převyšují cca dvacetinásobně množství produkovaných metabolitů vitamínu D. Volná frakce vitD, která je metabolicky aktivní, tvoří jen 1 % z celkového množství. Vázaná forma vitD je schopna jen omezené internalizace do buněk a proto má minimální biologickou aktivitu. Její poločas je dvojnásobný oproti formě volné. Toto je jeden z mechanismů chránících před případnou toxicitou vitD. Nehydroxylované formy vitamínu D se ukládají v tukové tkáni, ale patrně i ve svalech a játrech⁷.

Metabolizace vitD3 probíhá ve třech stupních. Aktivní látka vzniká hydroxylací v poloze 25 a 1 α . Všechny reakce provádí hydroxylázy cytochromu P450. V játrech je vitD3 hydroxylován v poloze 25 působením 25-hydroxyláz. Samotných 25-hydroxyláz je více, CYP2R1, CYP2D11 a CYP2D25. Za klíčový enzym se považuje CYP2R1. Proces 25-hydroxylace není zpětnovazebně regulován. U jaterních onemocnění dochází, pro velkou funkční rezervu, ke snížení produkce 25OHD3 až v terminální fázi choroby. Poločas 25OHD3 se pohybuje kolem 15-20 dní. 25OHD3 je proto používán jako ukazatel zásobení organismu vitD⁸. Další hydroxylací 25OHD3, tentokrát v poloze 1 α , vzniká vlastní účinná látka – kalcitriol (1,25OHD3). Oproti více izoenzymům 25-hydroxyláz, existuje 1 α -hydroxyláza jen v jedné formě (CYP27B1). Dlouho se za jediné místo 1 α hydroxylace považoval proximální tubulus ledvin. V současnosti víme, že autonomní produkce 1,25OHD3 je schopno více tkání.

Jsou to např. plíce, střevo, kosti (osteoblasty a chondrocyty), buňky varlat, vaječníků, štítné žlázy, maligních nádorů, ale i buňky imunitního systému (makrofágy, dendritické buňky, B a T lymfocyty) ⁹. Keratinocyty epidermis (za působení UV-B záření) jsou schopné jak 1α - (CYP27A1), tak 25- hydroxylace (CYP27B1) a tím přímé tvorby 1,25OHD3 z jeho prekurzorů ¹⁰. V některých buňkách se uplatňuje také alternativní cesta tvorby aktivní formy vitD (např. v keratinocytech). Zde, působením CYP11A1, dochází k hydroxylaci v poloze 20 a vzniká 20,23OHD3. Tento by měl mít obdobnou biologickou aktivitu jako 1,25OHD3. Jeho klinický význam je v současnosti nejasný ¹¹.

K inaktivaci 1,25OHD3 dochází působením renální 24-hydroxylázy (CYP24A). Vzniká 24-hydroxy forma vitD3 s minimální biologickou aktivitou. 24-hydroxyláza je schopna metabolizovat jak 25OHD3, tak 1,25OHD3. Preferenčním substrátem je 1,25OHD3. Tento regulační efekt brání kumulaci aktivní formy vitD. Lidská CYP24 má i 23-hydroxylázovou aktivitu. Vytváří biologicky aktivní 1,25-26,23 lakton, ale v nevýznamném množství ².

Metabolizace D2 probíhá obdobně, za tvorby 25OHD2, 1,25OHD2 a 1,24,25OHD2. Část D2 je hydroxylována přímo na 24OHD2.

Hladina aktivního vitD3 v organismu závisí na aktivitě 1α - a 24-hydroxylázy. Hlavními regulátory aktivity 1α -hydroxylázy jsou parathormon, fibroblast growth factor 23, kalcémie, hladina fosforu a samotný 1,25OHD3. Parathormon aktivitu hydroxylázy zvyšuje přímo i nepřímo, přes hladinu sérového vápníku. Vzestup kalcémie aktivitu 1α -hydroxylázy a tvorbu 1,25OHD3 snižuje. FGF23 a samotný 1,25OHD3 enzym CYP27B1 inhibují ^{2,12}. Parathormon a vitD jsou vzájemně těsně zpětnovazebně provázáni. PTH je stimulatorem syntézy 1,25OHD3. VitD a jeho metabolity tlumí sekreci PTH a přímo inhibují růst a množství buněk parathyreoidey ¹³. V animálním modelu metabolismus vitD reguluje i kalcitonin. Tento je za normokalcemických podmínek silným stimulatorem 1α -hydroxylázy. 1,25OHD3 pak zpětnovazebně produkci kalcitoninu snižuje ¹⁴. Estrogeny aktivitu 1α -hydroxylázy zvyšují. Tato závislost je jedním z příčinných faktorů při vzniku postmenopauzální osteoporózy ¹⁵.

Regulace extrarenální CYP27B1 je odlišná. Jde o lokální parakrinní produkci, která nemá systémové působení a není řízena endokrinními zpětnovazebními mechanizmy ¹⁶. Prozkoumána je jen v některých tkáních. Kupříkladu monocytární produkce 1,25OHD3 je stimulována cytokiny (interferon, TNF- α , IL-1, IL-2), prostřednictvím nukleárního faktoru kappa B a pravděpodobně i „toll-like“ receptory, lipopolysacharidovým receptorem CD14 ¹⁷. Koncentrace 1,25OHD3 souvisí s aktivitou 24-hydroxylázy. 24-hydroxyláza je jí recipročně řízena. Expresi CYP24A1 stimuluje 1,25OHD3, FGF23. Inhibuje ji hypokalcémie a PTH ².

2.3. Mechanismus působení vitamínu D

Účinek vitD je zprostředkován dvěma hlavními mechanismy. Genovými a negenovými.

Genové působení je vázáno na VDR. Je to nukleární transkripční faktor aktivovaný ligandem přítomný v cytosolu. Po vazbě s 1,25OHD₃ vytváří s retinoid X receptorem heterodimer (VDR/RXR). Vzniklý komplex je dále modifikován. Váže se v jádře na tzv. VDRe (vitamin D response elements). Jde o buněčně specifické, promotorové části genů, regulovaných vitD. Výsledkem je ovlivnění transkripce (stimulace nebo suprese) příslušných genů. Takto je zajištěna buněčná selektivita působení vitD. Účinek se projeví během hodin. Proces je řízen řadou VDR koregulačních proteinů, intracelulárními vitD vázajícími proteiny a tzv. vitamin D response element-binding proteiny. Tyto inhibují vazbu heterodimeru na VDRe části DNA².

Negenový účinek nastupuje rychleji. Jeho mechanismus není podrobně probádán. Předpokládá se, že zahrnuje více signálních molekul, jako je fosfolipáza C, A₂, fosfatidylinositol-3 kináza a roli hrají vápníkové kanály¹⁸. K iniciaci procesu dochází patrně cestou MARRS (membrane-associated rapid response steroid binding protein) a VDR¹⁹. Geny pro VDR mají řadu polymorfismů. V současnosti je známo 25 variant a očekává se, že jich bude minimálně čtyřikrát více. Variabilita VDR mění afinitu receptoru k vitD a následkem různě rychlé degradace i jeho biologický poločas.

2.3.1. Fyziologie vitamínu D

2.3.1.1. Skeletální působení vitamínu D

Metabolismus vápníku, fosforu

VitD je látkou ovlivňující významně hladinu vápníku, především zvýšením jeho absorpce ze střeva. Jde o víceúrovňový proces. Začíná přestupem Ca^{2+} přes membránu na apikální straně enterocyty. Využívá k tomu specifických vápníkových kanálů TRPV6, TRPV5 a Cav. Intracelulární transfer vápníku je zajišťován vazebným proteinem kalbindinem. Mimo něj patrně existují další regulační a transportní peptidy. Jejich role bude jen kompetitivní ke kalbindinu. Vápník je následně, na basolaterální membráně, pomocí Ca^{2+} ATPázy (PMCA1b) a Na/Ca výměnného mechanismu, vylučován do plazmy²⁰. VitD ovlivňuje každou z úrovní transportu. Indukuje expresi vápníkového kanálu TRPV6, expresi kalbindinu a PMCA1b na plazmatické straně enterocyty²¹. Metabolity 1,25OHD3 ovlivňují transport vápníku enterocytem jen ve velmi vysokých koncentracích. Vysvětluje se to jejich nižší afinitou k receptorům enterocyty²². 1,25OHD3 spolu s PTH zvyšují reabsorpci vápníku v tubulech ledvin. 1,25OHD3 zde reguluje transcelulární transport indukci transportního vápníkového kanálu TRPV5 a PMCA1b. Obdobně, jako je tomu ve střevě.

1,25OHD3 zvyšuje fosfatémii především zvýšením absorpce fosfátů ze střeva (např. stimulací 2bNa-P kontrtransportéru). Jeho dominující vliv na řízení reabsorpcí fosfátů v ledvině není jistý. Fosfatémie má spoluregulační vliv, protože tlumí produkci 1,25OHD3²³.

Kostní metabolismus

V působení vitD na kost je řada mezidruhových rozdílů. Odpověď se liší i podle stupně diferenciace cílových buněk. Obecně vitD ovlivňuje tvorbu i resorpci kosti. VDR se nachází na povrchu chondrocytů, osteoblastů i osteoklastů. K jejich aktivaci může dojít přímým účinkem vitD nebo prostřednictvím humorálních mechanismů např. aktivací RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B). 1,25OHD3 tento proces reguluje zvýšením exprese RANKL (receptor activator of nuclear factor - κ B ligand)²⁴.

V závislosti na dávce, vitD stimuluje proliferaci a diferenciaci osteoblastů, ovlivňuje tvorbu enchondrální kosti. Pro osteogenezi však není látkou nezbytnou. Rachitída způsobená deficitem vitD nebo mutací VDR genu, může být korigována dostatečným množstvím vápníku a fosfátů¹⁹. Nasvědčuje to pro skutečnost, že vitD není klíčovým regulátorem osteogenezy, a že celý systém má více kompenzačních mechanismů. V případě vitD půjde

o látku, která se podílí na iniciaci celého procesu a zajištění dostatku vápníku a fosforu pro mineralizaci kosti²⁵. VitD se podílí i na řízení osteoresorpce, stimulací diferenciací a aktivity osteoklastů¹⁹.

2.3.1.2. Extraoseální působení vitamínu D

VDR receptory jsou v buňkách řady dalších tkání.

2.3.1.2.1. Regulace buněčné proliferace

V roce 1981 publikoval Colson a spol. práci ukazující, že 1,25OHD3 zpomaluje proliferaci melanomových buněk²⁶. Schopnost ovlivňovat buněčnou proliferaci a jejich diferenciací byla následně prokázána u leukemických buněk a řady karcinomů. 1,25OHD3 je schopen zastavit přechod buňky z G do S fáze buněčného cyklu. Mechanismů, kterými k tomu dochází, je více. VitD ovlivňuje cyklin-dependentní kinázy, interferuje s regulačními cestami řady růstových faktorů (např. transforming growth faktoru β , epidermálního růstového faktoru, insulin-like růstového faktoru, fibroblastového růstového faktoru)²⁷.

1,25OHD3 je schopen indukovat apoptózu maligních buněk. Vlastní mechanismus se liší podle buněčné linie. Cestou VDR zvyšuje expresi proapoptického proteinu Bax a kaspáz. Tyto iniciují vnitřní cestu aktivace apoptózy. Alternativní cesta předpokládá interferenci se signální cestou TNF- α ²⁸.

VitD inhibuje invazivitu a metastázování maligních buněk ovlivněním aktivity proteáz a motility buněk (produkce cytoskeletálního proteinu vimentinu, aktinu) nebo redukcí exprese adhezních molekul²⁹. Jde o údaje získané in vitro.

Tento antineoplastický potenciál vitD vedl myšlenku o jeho protinádorovém použití. Výsledky prací z 80. let tuto hypotézu podporovaly. Byl např. nalezen vztah mezi nízkou expozicí slunečnímu záření a prevalencí některých karcinomů³⁰. V jednotlivých epidemiologických studiích byl zjištěn inverzní vztah mezi hladinou vitamínu D a výskytem karcinomu tlustého střeva³¹, prsu³² a dalšími. Validita těchto závěrů je relativizována poměrně malým počtem osob (maximálně 3000-5000) a metodickými rozdíly mezi pracemi.

Nejrozsáhlejší observační studie zahrnující 70 000 probandů³³ si všimla vztahu mezi genovými polymorfizmy, se kterými koreluje hladina vitD a incidencí některých maligních

onemocnění (karcinom tlustého střeva, prsu, prostaty, vaječnicků, plic, pankreatu a neuroblastom). Žádný kauzální vztah potvrzen nebyl. Pokud by souvislost existovala, tato práce ji přesto nevylučuje. Není totiž známo, zda lze závěr generalizovat na všechna maligní onemocnění. Není známo, zda případná korelace mezi hladinou vitD a rizikem maligního onemocnění má lineární nebo jiný typ závislosti (např. „U“ nebo „J“ typ) ³⁴. Není jasné, jakou roli v karcinogenezi hrají časové faktory, tedy délka trvání a tíže deficitu. Potvrzení či vyvrácení případné souvislosti je možné studii intervenci. Bylo jich provedeno více. Některé z nich snížily riziko karcinomu v intervenované skupině opravdu našly. Podávání vitD snížilo po 4 letech incidenci všech nádorů v této skupině žen nebo zlepšilo prognózu pacientů po operaci maligního melanomu ^{35,36}. Randomizovaných, dostatečně robustních prací, které by tuto otázku mohly osvětlit, je málo. Největší naděje byly vkládány do studie VITAL ³⁷, která měla objektivizovat vliv suplementace vit D na riziko vzniku maligních nádorů. Tato randomizovaná, placebem kontrolovaná studie, zahrnovala více než 25 000 osob starších 55 let, kteří dostávali 2000 IU cholekalciferolu a 1 g omega-3 mastných kyselin denně. Ani po pěti letech sledování nebyl zaznamenán dopad na výskyt maligních onemocnění. V intervenované skupině však poklesla mortalita na ně.

Metaanalýza 18 randomizovaných studií ³⁸ rovněž žádný preventivní efekt vitD na incidenci karcinomů nepotvrdila. U suplementovaných osob byla také zjištěna nižší úmrtnost na toto onemocnění (relativní riziko 0,88). Další metaanalýzy došly k podobnému závěru. Suplementace vitD (v délce trvání od 2 do 7 let) nemá na incidenci karcinomů vliv, ale snižuje (až o 1/10) úmrtnost na ně ³⁹. Proč k tomu tak je, není známo. Ve zvířecím modelu, může vitD tlumit některé procesy karcinogenezy, např. tvorbu metastáz, což by mortalitu ovlivnit mohlo ^{39,40}.

2.3.1.2.2. *Kardiovaskulární systém*

Nedostatek vitD je spojen a to jak v jednotlivých studiích, tak v metaanalýzách ^{41,42}, s variabilním, a jasným, zvýšením rizika úmrtí (relativní riziko 1,6-2,3). Riziko začíná stoupat už při poklesu hladiny 25OHD pod 75 nmol/l. Nemusí růst úměrně jejímu poklesu. Některé analýzy našly nelineární závislost (J typ) mezi hladinou 25OHD a rizikem úmrtí ^{34,43}. Platí to např. pro kardiovaskulární mortalitu ⁴⁴.

VDR jsou přítomny v buňkách kardiomyocytů, endotelu, trombocytech, v makrofázích. Podílí se na regulaci renin-angiotenzinového systému, řízení cévního tonu (snížením influxu

vápníku do cévní stěny, snížením produkce endotelinů), modulaci funkce endotelu, mají potenciální protizánětlivý účinek. Observační studie ukázaly, že hladiny 25OHD i 1,25OHD inverzně korelují s výskytem kalcifikací v koronárních artériích ⁴⁵. V myším modelu s deficitem 1 α -hydroxylázy, byla zvýšená aktivita renin-angiotenzinového systému provázená hypertenzí, zmírněna podáváním 1,25OHD. Osoby s nízkými hladinami vitD mohou mít vyšší riziko vzniku hypertenze a infarktů myokardu, ale i srdečního selhání a cévních mozkových příhod. Ve sledované skupině 11 tisíc osob z běžné populace, se riziko infarktu myokardu zvýšilo o 25%-114%, resp. 40%-135% (pro jeho fatální průběh), při porovnávání mezi osobami z nejnižších a nejvyšších percentilů hladin 25OHD ⁴⁶. Naproti tomu, jiná metaanalýza, analyzující tyto souvislosti pouze na základě údajů z randomizovaných suplementačních studií trvajících více než jeden rok a která zahrnovala údaje od celkově 83 000 osob, žádnou souvislost nenalezla ⁴⁷.

V současnosti stále není jasné, zda existuje kauzální vztah nebo zda nemůže být deficit vitD epifenomémem kardiovaskulárního rizika.

Samotná úmrtnost na kardiovaskulární onemocnění nevysvětluje celkové zvýšení mortality u osob s nedostatkem vitD. Na celkové úmrtnosti se podílí i další nemoci, např. infekční, metabolické choroby a jiné.

2.3.1.2.3. Metabolický syndrom a diabetes mellitus

Většina epidemiologických studií se shoduje v tom, že nízké hladiny vitD jsou spojeny s vyšším rizikem metabolického syndromu s hyperlipidemií, inzulinorezistencí a hyperglykemií. Jako rizikové jsou nejčastěji uváděny hladiny 25OHD pod cca 50 nmol/l, ale i pod 75 nmol/l ⁴⁸. Recentní metaanalýza 71 prací potvrdila asociaci mezi hypovitaminózou D, hyperglykemií a výskytem diabetu 2. typu ⁴⁹.

Patofyziologický mechanismus není znám. Předpokládá se souvislost s hladinami intracelulárního kalcia, které vedou poruše glukózového transportu. Roli může hrát porucha sekrece inzulinu a vznik inzulinorezistence. VDR jsou exprimovány i na povrchu beta buněk pankreatu. Vyřazením VDR a vyvoláním deficitu vitD, lze navodit poruchu sekrece inzulinu. VitD stimuluje expresi inzulinových receptorů v tkáních a vychytávání glukózy buňkami. Tímto mechanismem může nedostatek vitD přispívat k inzulinorezistenci a vzniku diabetu 2. typu.

Odhaduje se, že zvýšením 25OHD nad 80 nmol/l, lze snížit riziko budoucího diabetu až o 40 % ve srovnání s hladinou 50 nmol/l ⁵⁰. Ojedinelé práce dokladují příznivý efekt krátkodobé suplementace na metabolický syndrom ⁵¹. Ve většině intervenčních studií však nedošlo k významnému zlepšení glykemické kontroly. Souhrnná analýza prací hodnotících vliv vitD na glukózový metabolismus také nepotvrdila příznivý efekt suplementace, jak na inzulínovou rezistenci, sekreci inzulínu, tak na hladinu glykovaného hemoglobinu. V některých studiích navíc došlo i při podávání vitD ke vzniku nového diabetes mellitus ⁵². Epidemiologické studie i v této problematice ukazují na negativní vliv nedostatku vitD na glukózovou homeostázu. Také zde chybí průkaz příznivého efektu podávání vitD ⁵³.

2.3.1.2.4. Kosterní svalstvo

VDR jsou exprimovány myocyty kosterního svalstva. VitD ovlivňuje metabolismus makroergních fosfátů, intracelulární hladiny vápníku. Deficit vitD je spojen se sníženou svalovou silou a zvýšeným rizikem pádů. Tyto přispívají k celkové mortalitě, zvláště ve stáří. Korekce nedostatku vitD prokazatelně brání sarkopénii, zlepšuje svalovou sílu a snižuje počet pádů ⁵⁴. Efekt suplementace vitD však není přesvědčivý. Příznivý vliv na prevenci pádů měl jen v části studií a v závislosti na podávané dávce. V metaanalýzách zahrnujících randomizované práce, bylo patrné snížení rizika pádů, ale jen u osob s nižší hladinou 25OHD (50 resp. 75 nmol/l) v úvodu sledování ⁵⁵.

2.3.1.2.5. Imunitní systém

Buňky imunitního systému (dendritické buňky, B, T lymfocyty, makrofágy, NK buňky) jsou dalšími, které exprimují VDR a jsou schopné lokální a autonomní produkce 1,25OHD₃.

VitD ovlivňuje jak vrozenou imunitu, regulací dendritických buněk a makrofágů, tak imunitu adaptivní, modulací funkce B a T lymfocytů. Obecně vitD stimuluje antibakteriální funkce a tlumí nadměrnou zánětlivou odpověď ⁵⁶.

Adaptivní imunita

Pro řízení adaptivní imunitní reakce jsou rozhodující Th lymfocyty. Zjednodušeně, Th1 typy zajišťují celulární odpověď, např. proti intracelulárním patogenům, reakce pozdní přecitlivělosti (IV. typ). Hrají roli u autoimunitních chorob. Reakce na extracelulární patogeny, bakterie, parazity a regulace humorální imunity, vyžaduje Th2 lymfocyty. Dalším, funkčně významným typem, jsou nezávisle se vyvíjející Th17 lymfocyty. Fungují jako jeden z regulátorů zánětu a obrany proti extracelulárním patogenům. Autoreaktivní Th17 jsou spojovány se vznikem autoimunitních onemocnění, např. sclerosis multiplex.

Normální fungování imunitního systému předpokládá udržení rovnováhy mezi jeho funkčními větvemi. O tom, zda dojde k diferenciaci nativního CD4⁺ Th lymfocytu na některý z typů, rozhoduje lokální koncentrace cytokinů. IL-12 indukuje vznik Th1, IL-4 diferenciaci buněk Th2 typu. TGFβ (transforming growth factor β), IL-6, IL-21 a IL-23 stimulují vznik Th17 lymfocytů. VitD ovlivňuje adaptivní imunitu cestou modulace diferenciaci jednotlivých typů Th lymfocytů⁵⁷.

Působením vitamínu D dochází ke změně poměru Th1 a Th2 lymfocytů ve prospěch Th2 typu. Snížení produkce Th1 lymfocytů je vyvoláno jednak přímo, snížením tvorby interleukinu IL-12 a zvýšením IL-10 (nejspíše cestou jiných buněk). Také nepřímo, útlumem diferenciaci dendritických buněk a následným snížením produkce IL-12 a zvýšením IL-10⁵⁸. Stimulace diferenciaci Th2 lymfocytů je důsledkem přímého působení vitD na CD4⁺ lymfocyty, indukci transkripce diferenciacních faktorů (c-maf, GATA-3) a stimulací jiných buněčných typů produkujících IL-4, který podporuje diferenciaci na Th2⁵⁹. VitD snižuje hladiny IFN-γ a IL-2, IL-17 supresí Th1 lymfocytů a cestou VDR (přes hIFN-γ a IL-12p40 promotor). Dále zvyšuje produkci IL-4, IL-5 a IL-13 Th2 lymfocyty. Výsledkem je snížení počtu Th1 lymfocytů a snížení produkce prozánětlivě působících interferonů. VitD dále stimuluje vznik regulačních T lymfocytů z naivních CD4⁺ buněk²⁷ a snižuje diferenciaci Th17 lymfocytů (přes IL-17 promotor)⁶⁰.

Výsledkem působení vit D na imunitní systém je omezení zánětlivé reakce a tkáňového poškození (útlumem diferenciaci dendritických buněk, CD4⁺ lymfocytů, Th1/Th17 odpovědi a produkce prozánětlivých cytokinů IL-1, IL-6, IL-8, IFNγ, TNF-α), ale také snížení bakteriální aktivity (omezením aktivace toll-like receptoru)^{57,61}.

1,25OHD3 ovlivňuje i B lymfocyty. Tlumí jejich proliferaci a vyvolává apoptózu. Na druhé straně stimuluje vývoj plazmatických buněk z diferencovaných B lymfocytů a jejich migraci (přes chemokinový receptor CCR10) do místa zánětu⁶².

Vrozená imunita

Základní funkcí vrozené imunity je rozpoznání a obrana proti patogenům, především bakteriálním.

První stupeň obrany zajišťují slizniční bariéry. VitD snižuje permeabilitu střevní sliznice zvýšením tvorby proteinů oblastí „tight junctions“, occludinu, zonulinů (ZO-1, ZO-2), claudinů, vinculinu, které regulují paracelulární permeabilitu. VitD tlumí apoptózu buněk sliznice a stimuluje autofáгии⁶³. Cestou VDR vitD stimuluje produkci monocytárních baktericidních peptidů, katelicidinu a defenzinu β 2. Aktivací NOD2, cestou nukleárního faktoru β , přímo stimuluje autofáгии makrofágů. Aktivita 1α -hydroxylázy a lokální produkce 1,25OHD monocyty, se zvyšuje po antigení stimulaci cestou toll-like receptorů⁵⁶.

Součástí bariérových funkcí je indukce lokální zánětlivé reakce. Po styku makrofágů s bakteriálním antigenem dochází k produkci prozánětlivých cytokinů (IL- 1α , IL-6, TNF- α). Nekontrolovaná a nadměrná zánětlivá reakce vede ke tkáňovému poškození. VitD stimulací MAPK (mitogen-activated protein kináza) omezuje zvýšenou produkci těchto cytokinů. Toto působení je patrné až při hladině 25OHD nad 75 nmol/l⁶⁴.

Normální funkce imunitního systému je zajištěna sítí vyvážených lokálních i vzdálených, kladných a záporných zpětných vazeb. Porušení lokální rovnováhy se přenáší v různé míře do celé sítě. Je více míst, kde nedostatek vitD může fungování imunitního systému měnit.

2.3.1.2.6. Klinické dopady nedostatku vitamínu D na imunitní funkce

Infekce

Existuje řada observačních prací, které dokladují inverzní korelaci mezi hladinou 25OHD a vyšším výskytem akutních infekcí horních a dolních cest dýchacích v dětské i dospělé populaci. V jedné z nich byl vzájemný vztah také kvantifikován. Zvýšení hladiny 25OHD o 10 nmol/l snížilo riziko respiračního infektu až o 7%⁶⁵. U osob s preexistujícím plicním onemocněním, např. chronickou bronchitídou, je tento vztah silnější⁶⁶. Nízké hladiny vitD jsou spojeny s vyšším výskytem i jiných infekcí, např. s rizikem infekce Clostrídiem⁶⁷ nebo častějšími uroinfekty u imunosuprimovaných osob⁶⁸. Byla také prokázána souvislost mezi nízkou hladinou vitD (68, 69) a vyšším výskytem tuberkulózy^{69,70}. Protektivní působení se vysvětluje např. vitD stimulovanou produkcí katelicidinu a defenzinů v respiračním epitelu.

Poměrně jednoznačně vyznívající výsledky observačních, kohortových prací, iniciovaly řadu intervenčních studií. Jejich cílem bylo prokázat přínos podávání vitD v prevenci někte-

rych infekcí. Podávání vitD nemělo v případě tuberkulózy žádný přínos⁷¹. Cílená suplementace u osob s chronickou bronchitidou a deficitem vitD měla protektivní vliv jen v případě středně těžkých a těžkých exacerbací⁷², případně byl efekt jen minimální⁷³. V metaanalýze 25 randomizovaných studií pravidelné podávání vitD snížilo výskyt akutních respiračních infekcí. Platilo to jen pro pravidelné (denně nebo týdně) užívání, oproti dávkování jednorázovému. V některých studiích nebyl účinek vitD závislý na iniciální hladině vitD, tedy stupni deficitu⁷⁴. V případě infekce COVID-19 se zdá, že suplementace vitD nesnižuje riziko infekce, může však zlepšovat průběh onemocnění (nižší mortalita, méně hospitalizací na jednotce intenzivní péče)⁷⁵.

Přes teoretické zdůvodnění rizikovosti nízkých hladin vitD na integritu antibakteriálních funkcí imunitního systému, chybí jasné důkazy, které by preventivní efekt jeho podávání podpořily. Tak, jako tomu je u jiných chorob i zde je patrný nesoulad mezi teorií, epidemiologickými nálezy a neúčinností suplementace vitD.

Autoimunitní choroby

Potenciální imunomodulační účinek vitD vedl pozornost k autoimunitním onemocněním. Velké úsilí bylo věnováno hledání souvislosti mezi vitD, výskytem a tíží autoimunitních chorob. Prvním z údajů ukazujících na možný vztah, byl objev tzv. severojižního gradientu u sclerosis multiplex. Později byl popsán u diabetes mellitus 1. typu nebo systémového lupus erytematodes⁷⁶. Výskyt těchto chorob se zvyšuje se stoupající zeměpisnou šířkou. Asociace s nízkou hladinou vitD byly ve variabilní síle nalezeny i u dalších autoimunitních chorob. V populační studii z Dánska, zahrnující přes 12 000 osob byl potvrzen inverzní vztah mezi hladinou 25OHD a rizikem vzniku onemocnění, jako je sclerosis multiplex, diabetes mellitus 1. typu, ale i psoriáza⁷⁷.

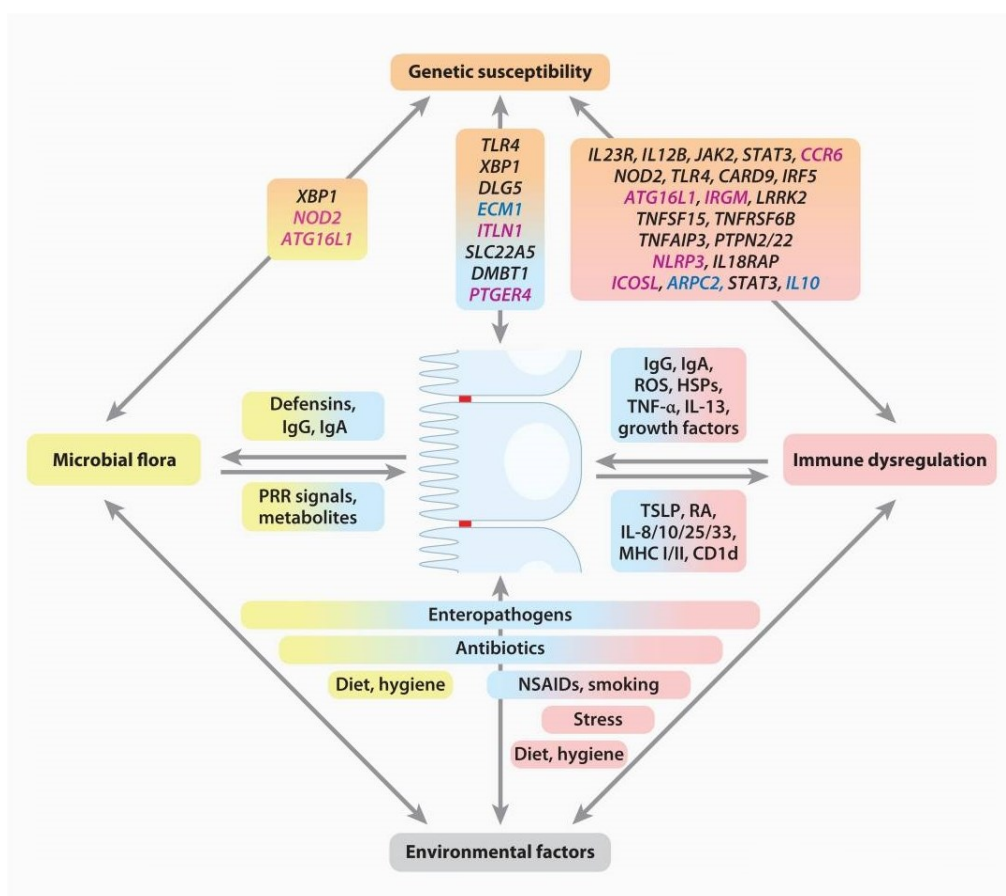
Také zde platí, že statistická asociace není průkazem kauzality. Suplementace vitD měla variabilní efekt. V některých pracích podávání vitD (400 IU/den) vedlo ke snížení rizika až o třetinu⁷⁸. Výsledky většiny intervenčních studií u sclerosis multiplex jsou však protikladné. Neměly vliv nebo zlepšily jen nález při magnetické rezonanci, ale bez dopadu na klinický stav⁷⁹. U diabetes mellitus 1. typu se podáváním vitD dosáhlo nanejvýš oddálení vzniku diabetu⁸⁰. Výjimkou je systémový lupus erytematodes. Zde roční podávání vitD bylo schopno zlepšit jak laboratorní ukazatele zánětu, tak klinický průběh⁸¹. Vysvětlení těchto rozdílů je více. Jde o imunopatogeneticky heterogenní typy chorob. Je možné, že vitD je nutné podávat v dostatečné dávce, po dostatečně dlouhou dobu. Není známo kolik to je a jak dlouho by to mělo být. Další, nečekané, vysvětlení nabízí Dong a van der Mei^{82,83}. Přívod vitamínu D (ať

perorálně nebo formou slunění) redukoval riziko vzniku diabetu 1. typu, sclerosis multiplex, ovšem jen pokud k němu došlo prenatálně (tj. v průběhu těhotenství) nebo v časném dětství. Roli pak může hrát nejen tíže deficitu a délka jeho trvání, ale i ontogenetická fáze, ve které byl deficit přítomen. Pozdější úpravou nedostatku už nemusíme být schopni vzniklou poruchu napravit ⁸⁴.

2.4. Vitamín D a idiopatické střevní záněty

2.4.1. Patogeneze idiopatických střevních zánětů

Ulcerózní kolitída (UC) a Crohnova choroba (CD) jsou imunopatologickými onemocněními, při jejichž vzniku hraje roli interakce genetických a environmentálních faktorů (Obr.1). Obecně jde o důsledek dysbalance ve fungování imunitního systému. Vlivem zevních okolností dojde, u geneticky disponovaného jedince, ke spuštění abnormní imunitní odpovědi vedoucí k poškození střeva. Rozličné defekty mohou mít fenotypicky podobné projevy. Vlastní patogeneze idiopatických střevních zánětů není stále do detailů probádána.



Obrázek 1. Etiopatogenetické okolnosti vzniku idiopatických střevních zánětů⁸⁵

Střevní mikrobiota je zdrojem trvalé antigenní stimulace buněk systému vrozené imunity. Po kontaktu makrofágů a dendritických buněk s mikroby, dochází k rozpoznání tzv. PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) pomocí PRR receptorů (pattern recognition receptor) na mikrobiálním povrchu. Mezi PRR receptory patří TLR (toll-like receptor), NOD (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor), NLR (leucine rich repeat receptors), CLR (C-type lectin receptor) a RLR (retinoic acid-inducible gene 1-like receptor). Poté dojde ke spuštění lokální zánětlivé reakce s produkcí prozánětlivých cytokinů a antibakteriálních peptidů. Cílem je eliminace mikrobů. Současně jsou mikrobiální antigeny prezentovány naivním CD4⁺ T lymfocytům. Aktivuje se cesta adaptivní imunity (pomocí diferenciací Treg, Th1, Th2 a Th17 lymfocytů).

Za normálních okolností zpětnovazebná signalizace reakci utlumí a navodí toleranci intraluminálních patogenů. U pacientů s idiopatickými střevními záněty však k navození tolerance nedojde. Přetrvává aktivace adaptivní imunity s perzistencí zánětu. Výsledkem je slizniční poškození s udržováním trvalé antigenní stimulace ⁸⁵.

Klasický výklad považuje u Crohnovy choroby za dominující příčinu zánětu Th1 imunitní odpověď (nesenou především IL-12, IL-21, TNF- α , IFN- γ) ⁸⁶. U ulcerózní kolitidy jsou to Th2 lymfocyty (IL-5, IL-13) a NK buňky. Ukazuje se, že imunopatologické reakce jsou složitější. Patogeneze zahrnuje abnormní reakci v různých částech imunitní odpovědi, v závislosti na typu zánětu. Některé defekty jsou pro oba záněty společné. Metodami GWAS (genome-wide association studies) byly identifikovány asociace mezi jednotlivými typy IBD a řadou genových polymorfismů. V současnosti je jich známo přes 160. Týkají se receptorů zajišťujících rozpoznání (NOD2, IRF5, NFKB1, RELA, REL, RIPK2, CARD9, PTPN22), eliminaci mikrobů (ATG16L1, IRGM, NCF4), koordinaci imunitní odpovědi (IL23R, IL10, IL12, IL18RAP/IL1R1, IFNGR/IFNAR1, JAK2, STAT3, TYK2), funkci bariér (Muc2, OCTN pro CD, CDH1 a LAMB1) nebo autofágii (ATG16L1 a IRGM) ⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾. Kolem sto deseti polymorfismů je společných pro oba typy zánětu. Z toho třicet je specifických pro Crohnovu chorobu, např. CARD15/NOD2, IL23R, LRRK2, geny pro autofágii (ATG16L1, IRGM), interlektiny (ITLN1) a dvacet pro ulcerózní kolitidu, např. regulační cesty (IL10, ARPC2), funkci intersticiálních epiteliálních buněk (ECM1) ⁸⁵. Až 70 % z některých IBD rizikových lokusů najdeme i u jiných imunitních onemocnění jako je diabetes mellitus 1. typu (PTPN2 a PTPN22), bronchiální astma (ORMDL3), psoriáza (CDKAL1 a GCKR), systémový lupus erytematodes (PTPN22), revmatoidní artritida (PTPN22). Tato skutečnost ukazuje, že u gene-

ticky disponovaných osob budou rozhodovat o konkrétním typu onemocnění, v našem případě Crohnově chorobě nebo ulcerózní kolitidě, zevní, epigenetické faktory.

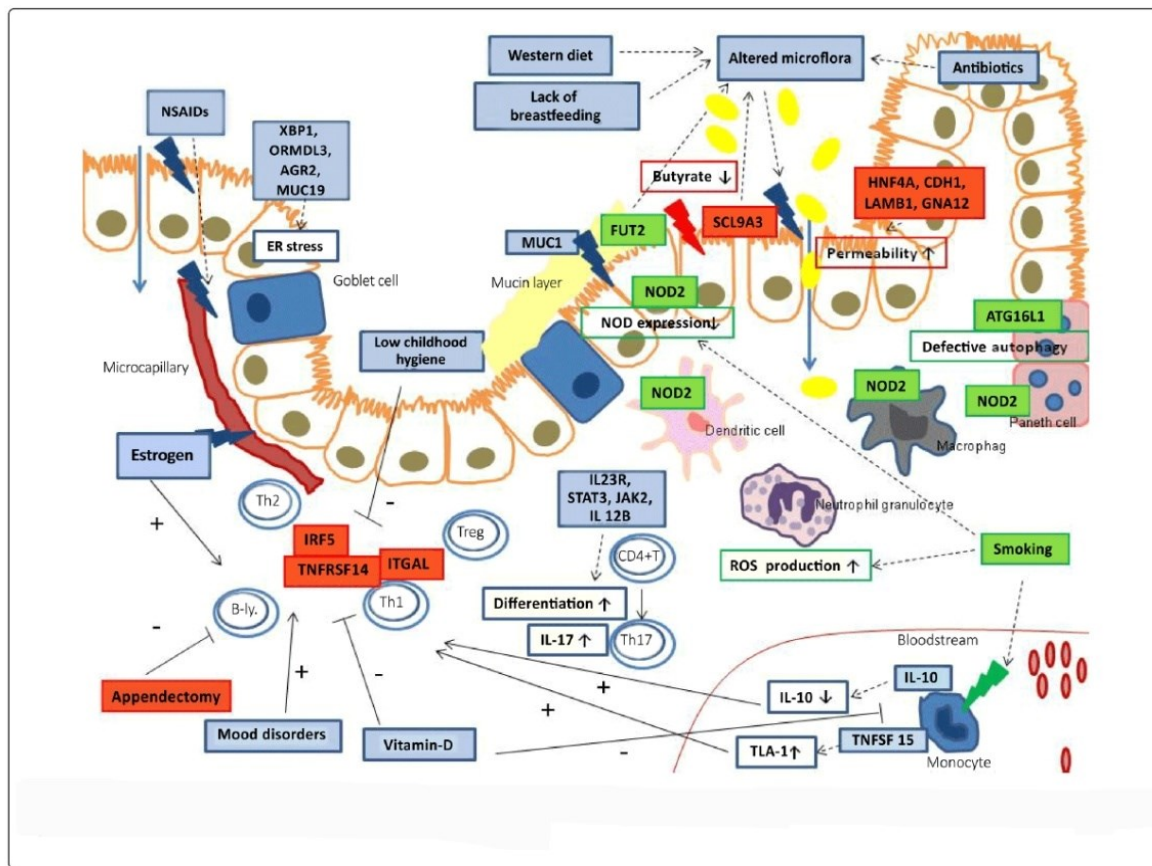
Počátkem chorobného procesu je patrně zvýšení střevní permeability při dysfunkci slizniční bariéry. U pacientů s IBD nacházíme poruchy integrity slizniční bariéry s deregulací produkce mucinu⁸⁷, defekty v autofágii, rozpoznávání bakteriálních antigenů (TLR a NOD2)⁸⁸. Odchylná bývá prezentace antigenů CD4+ T lymfocytům⁸⁹.

Změněná je také regulace další imunitní odpovědi. U pacientů s CD je, kromě zvýšené Th1 reaktivity, nacházena i zvýšená produkce cytokinů spojených s aktivací Th17 lymfocytů (IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-26)⁹⁰. S nárůstem poznatků se ukazuje, že tento typ lymfocytů hraje roli i v patogenezi UC⁹¹. Cytokiny, které produkují Th17 lymfocyty, mají prozánětlivý účinek. Th17 fungují u IBD synergně s Th1. Treg lymfocyty odpověď Th17 buněk tlumí. O výsledné aktivitě rozhoduje poměr Th17/Treg, které se vzájemně ovlivňují. Spíše než o působení samotných Th17 lymfocytů, jde u IBD o celkový vliv osy Th1/Th17 a Th17/Treg⁹².

IL-23 je nezbytným cytokinem adaptivní imunity při časně antimikrobiální odpovědi. Stimuluje spolu s IL-6 diferenciaci a odpověď Th17 lymfocytů. Inhibuje diferenciaci Treg lymfocytů a produkci protizánětlivého IL-10. Dysregulovaná IL-23/Th17 kaskáda se považuje za typickou pro chronickou fázi střevního zánětu u CD. Polymorfismus IL-23R je spojen jak s CD, tak UC. IL-23 může být společným prozánětlivým cytokinem v chronické fázi zánětu. IL-23 mimo účinku na Th17 lymfocyty ovlivňuje i systém imunity vrozené^{93,94}. Dalším společným cytokinem je protizánětlivý IL-10, inhibující makrofágy a Th1⁸⁸.

Buněčné působení řady cytokinů je realizováno transdukční kaskádou JAK (janus-kináza) a STAT (signal transducer and activator of transcription). STAT3 je nezbytná pro diferenciaci Th17 lymfocytů. STAT3/JAK2 signalizace není specifická pouze pro cytokiny u CD. Využívá ji řada jiných cytokinů i u UC. Její poruchy mohou mít u každé choroby odlišné důsledky⁹⁵.

Za nejdůležitější při vzniku CD se považují defekty ve funkci NOD2, autofágie, IL-23 a Th17⁹⁶. U ulcerózní kolitidy jsou asociace méně jasné. Významná je porucha permeability, spolu s atypickou Th2 odpovědí mediovanou NK buňkami, s podílem Th17 lymfocytů⁸⁸ (Obr. 2). U disponovaných osob může nedostatek vitD vést k významnému narušení jím



Obrázek 2. Patogenetické faktory u Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy ⁸⁸

řízených procesů, s následnými poruchami slizniční bariérové funkce, procesů autofágie zajišťujících eliminaci bakterií, prezentaci antigenů a kontrolu zánětu. V oblasti adaptivní imunity dojde k převaze prozánětlivé imunitní odpovědi. Jde o cesty, které hrají roli při vzniku a udržování idiopatických střevních zánětů. VitD lze z toho pohledu považovat za látku s imunomodulačním potenciálem.

Za zmínku stojí zajímavý oboustranný vztah mezi vitD a střevní mikrobiotou, která je u IBD významným faktorem. VitD zlepšuje antibakteriální funkce imunitního systému. Na straně druhé, střevní bakterie modulují expresi VDR a tím působení vitD. Probiotika (VSL#3) expresi VDR zvyšují, patogenní bakterie ji tlumí ⁹⁷.

2.4.2. *Asociace mezi vitamínem D a idiopatickými střevními záněty*

Crohnova choroba a ulcerózní kolitída patří k chorobám s tzv. severojižním gradientem⁹⁸. Jejich výskyt v populaci stoupá severním směrem. Jedna z největších prací, zahrnující přes 3 milióny probandů, tuto závislost potvrdila jak pro ulcerózní kolitidu (RR jih vs. sever 0,62), tak Crohnovu chorobu (RR 0,48)⁹⁹. Stejná závislost byla zjištěna i v evropské populaci¹⁰⁰, ne však v Asii. Oproti předchozím kontinentům, je Asie etnicky značně nehomogenní, což může vztah maskovat¹⁰¹. Studie Nericha a spol.¹⁰², která hledala případnou spojitost v rámci menší oblasti (kontinentální Francie), podobný šířkový vztah též potvrdila. Inverzní souvislost mezi množstvím slunečního svitu a rizikem IBD byla patrná, ale týkala se pouze CD.

Vazba na geografickou oblast neznamena kauzální vztah. Ve hře jsou další vlivy, socioekonomické, hygienické, stravovací a jiné, jako jsou např. lokální preference druhu antibiotik, geograficky daný mikrobiom, polymorfismus VDR.

Existuje více variant genu pro VDR (Fok1, Bsm1, Taq1, Apa1, Cdx2, poly(A) a Bgl1). Nejvíce jsou studovány první čtyři. Považují se za rizikové geny více imunitních chorob (např. psoriáza, diabetes mellitus 1. typu) a některých nádorů (např. karcinomy prostaty, prsu, ledvin, melanom). Polymorfizmy mají různou geografickou distribuci. U bělochů se varianta Apa1 se pojí s vyšším rizikem CD, Taq1 snižuje riziko UC¹⁰³. U Asiátů je ff genotyp Fok1 asociován se sklonem k UC¹⁰⁴.

Dále existují různé varianty genu i pro VDBP (rs7041 a rs4855). Přesný význam těchto polymorfismů není zatím dostatečně definován.

Prací, které prospektivně korelují samotnou hladinu vitD, jako nejvalidnějšího ukazatele, se sklonem k IBD, je málo. V jedné z nich, měla skupina s normální hladinou (nad 75 nmol/l) významně menší riziko CD (RR 0,38). Neplatilo to pro UC (RR 0,57)¹⁰⁵. Pro ovlivnění idiopatických střevních zánětů vitamínem D nasvědčují i klinická data, těžší průběh choroby u osob s nedostatkem vitD. Tito nemocní měli vyšší pravděpodobnost operace pro střevní zánět (OR 1,06–2,51). Normalizace hladiny vitD riziko snížila, ve srovnání se skupinou, která měla hladinu stále nízkou¹⁰⁶. Jde o jednotlivé práce, které mohou být zatíženy různým zkreslením. Metaanalýza šedesáti tří observačních studií inverzní korelaci mezi hladinou 25OHD a tíží CD však potvrdila také¹⁰⁷.

Sezónní kolísání četnosti relapsů (zima vs. léto) onemocnění bylo dáváno do souvislosti s poklesy hladin vitD během zimy. Práce z Nového Zélandu hodnotila cíleně tento vztah u Crohnovy choroby. Případnou souvislost mezi hladinou 25OHD a aktivitou střevního zánětu nenašla¹⁰⁸.

Přímý průkaz o kauzálním vlivu vitD na IBD se pokoušela získat řada intervenčních prací. Kupříkladu v randomizované studii Jørgensena a spol.¹⁰⁹, bylo 108 pacientům s CD podáváno 1200 IU vitD3 denně. Jejich hladina 25OHD se normalizovala (96 nmol/l), ale v průběhu ročního sledování ke změně četnosti relapsů nedošlo (13 % vitD3 vs. 29 % placebo). V jiné práci¹¹⁰, roční suplementace vyššími dávkami (10 000 IU/den) zvýšila hladinu 25OHD až na 160 nmol/l, a počet relapsů se také nezměnil. Normalizace hladin měla jiný, příznivý, dopad. Zlepšila subjektivní stav, s poklesem anxiety a depresí. Mimo jiné ukázala, že i při tomto dávkování je bezpečná.

Metaanalýza z roku 2022, zahrnující 7 studií, také nepřinesla rozřešení¹¹¹. Autoři potvrdili, že suplementace je efektivní ve zlepšení hladiny 25OHD, snižuje hodnoty laboratorních ukazatelů zánětu. Na průběh ulcerózní kolitídy však vliv nemá. Autoři sami uvádějí, že nejsou schopni rozhodnout, zda je to dáno pouze nedostatkem kvalitních studií pro analýzu nebo neexistencí kauzálního vztahu.

Zator a spol.¹¹² si položili otázku, zda vitD, jako imunomodulátor, může mít vliv na účinnost léčby antiTNF- α . Retrospektivně hodnotili efekt léčby s ohledem na hladiny 25OHD před jejím zahájením. Osoby se subnormální hladinou (pod 75nmol/l) měly vyšší riziko ztráty účinku a dřívějšího ukončení léčby antiTNF- α , než ty s hladinou normální. Závislost byla patrná pouze u Crohnovy choroby. K opačnému závěru došlo prospektivní sledování Reicha a spol.¹¹³. Osoby s nízkou hladinou vitD na počátku léčby antiTNF- α , měly vyšší pravděpodobnost dosažení remise ve 14. týdnu. V jiném sledování¹¹⁴ naopak vyšší hladina 25OHD, před zahájením léčby vedolizumabem, predikovala významné snížení aktivity ulcerózní kolitídy, ne však Crohnovy choroby. Opět jde o práci s metodickými slabinami, retrospektivní nerandomizované hodnocení, s nedostatečným počtem probandů. K závěrům je proto potřeba přistupovat s rezervou.

Obecně z epidemiologických i intervenčních studií vyplývá, že asociace mezi vitD a idiopatickými střevními záněty je silnější u CD než UC. UC i CD jsou nemoci s odlišnými imunopatologickými reakcemi. Část signalizačních cest řízených vitD je pro obě shodná a u každé s nemocí má různě velký vliv. Za příklad může sloužit ovlivnění exprese NOD2 vitamínem D u Crohnovy choroby^{105,115}.

Lze se pouze domnívat, zda výsledky intervencí s vitD jsou neprůkazné pro jejich nedostatečný počet, metodické nedostatky nebo pro krátkou dobu sledování. Chybí data za dobu delší než jeden rok. Roli mohou hrát i jiné okolnosti, např. polymorfismus VDR nebo nižší účinnost podávaného cholekalciferolu oproti aktivní formě vitD. Ve studii porovnávající 1,25OHD3 s cholekalciferolem, byl už po 6 týdnech patrný větší pokles CRP a klinického

ukazatele aktivity (index CDAI), než po cholekalciferolu ¹¹⁶. Analoga vitD nebyla v této souvislosti zkoumána.

2.4.3. *Epidemiologie nedostatku vitamínu D v populaci*

Naše populace žije v představě o svém dobrém zásobení vitamíny, včetně vitamínu D. Přičítá to zdravé, moderní a bio- stravě. Opak je pravdou. V populaci je nedostatek vitD běžný. V Kanadě jej najdeme u 50-60 % osob. V zimě tento počet stoupne až na 75 %¹¹⁷. Stejná situace je v Austrálii¹¹⁸ nebo v Asii. Paradoxně není lepší ani na Blízkém Východě, kde je dostatek slunečního záření^{54,119}.

Souhrnná analýza, zahrnující přes 50 000 osob z Evropy, ukázala, že prevalence deficitu (<50 nmol/l) se pohybuje kolem 40 %. Třináct procent populace má i v létě velmi nízké hladiny 25OHD (<30 nmol/l). Překvapivě málo častý je nedostatek vitD u osob starších 61 let (1–8%) a nejčastější je u dospívajících. Mezi pohlavími není rozdíl¹²⁰.

Nejméně asi budeme očekávat fakt, že na severu Evropy, kde je slunečního záření málo, jsou hladiny vitD vyšší, než ve slunných státech Evropy jižní⁵⁴. Nižší prevalence deficitu v severských zemích, souvisí se vyšším příjmem vitD stravou, daným větším zastoupením mořských ryb a s tamější fortifikací mléka vitD, která byla v jiných zemích Evropy zrušena.

Průměrné sérové koncentrace 25OHD jsou ve střední Evropě srovnatelné s Evropou západní. V zimě se pohybují od 33 nmol/l (Dánsko) do 50 nmol/l (Rakousko), v létě mezi 58–87 nmol/l¹²¹.

Pro Českou republiku nejsou k dispozici přesnější epidemiologická data. Není důvodu předpokládat, že bychom se od okolních států lišili. Studie Státního zdravotního ústavu, provedená v pediatrické kohortě v roce 2016 zjistila, že normální hladinu má maximálně polovina dětí ve věku do 9 let a to ještě na podzim. V zimě je v různém stupni nedostatku přes 80 % této populace¹²². Žofková a spol. potvrdili nízké hladiny 25OHD (průměr 23 nmol/l) i u postmenopauzálních žen¹²³.

Hladiny vitD v organizmu kolísají v průběhu roku. Maxima dosahují v létě, v červenci a nejnižší jsou na konci zimy, v březnu. Proporcionálně s tímto se mění zastoupení osob s deficitem. V sousedním Německu mělo různý stupeň nedostatku vitD (25OHD <75 nmol/l) v létě (červen, červenec) 70 % sledovaných a v zimě (únor, březen) tento počet stoupl až na 90 % studované populace¹²⁴. Celkově se během roku hladiny 25OHD mění o asi 16-25 nmol/l (severní Evropa- Irsko)¹²⁵.

Rizikové faktory nedostatku vitamínu D

- Nedostatečný přívod stravou
- Snížená expozice slunci (opalovací krémy, oblečení, práce v interiéru)
- Vyšší kožní pigmentace
- Onemocnění jater, ledvin, malabsorpční stavy, laktózová intolerance
- Nízká socioekonomická úroveň, kouření
- Léky: antikonvulziva, kortikosteroidy
- Stáří (snížená expozice slunci, nižší přívod stravou, snížení kožní produkce)
- Bariatrické operace
- Nefrotický syndrom (ztráty VDBP)
- Obezita
- Dětství, těhotenství
- Znečištění ovzduší (NO₂ absorbuje UV-B)
- Genetické vlivy

podle ^(57, 122, 128–130)

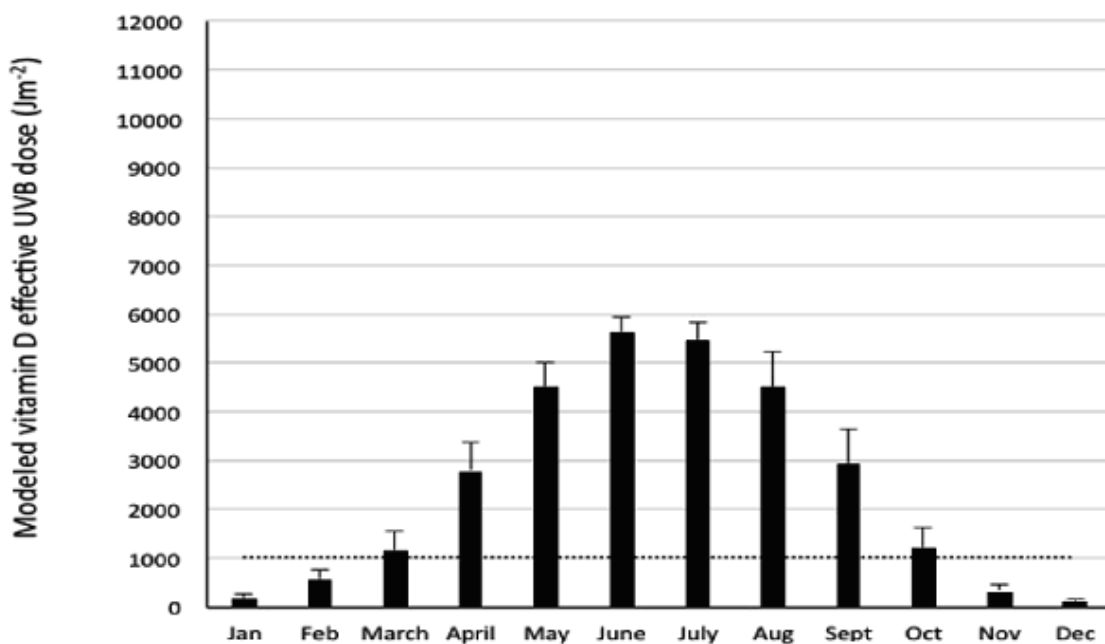
Genetické vlivy

Mimo variability genů pro VDBP, VDR, existují polymorfizmy genů ovlivňujících metabolismus vitD, např. DHCR7, CYP2R1, CYP24A1. Spojeny jsou s nižší tvorbou aktivní formy nebo jejím rychlejším katabolismem ¹²⁶. Genové polymorfizmy se na deficitu vitamínu D podílí v mnohem menší míře (kolem 5%), než jiné vlivy prostředí ¹²⁷.

2.4.4. Hlavní zdroje vitamínu D

2.4.4.1. Sluneční záření

Dominantním zdrojem vitD pro organismus je endogenní produkce vyvolaná UV-B složkou slunečního záření. Přirozené, širokospektré, UV záření je účinnější, než úzkospektré umělé. Předpokládá se, že takto vzniká cca 80 % všeho vitD v organismu. Za prahovou intenzitu potřebnou pro tvorbu vitD₃, se považuje energie slunečního záření 1000 J/m². Pod touto hranicí je kožní produkce cholekalciferolu zanedbatelná¹²⁸. Množství potřebného záření je závislé na denní době, zeměpisné šířce a ročním období. V našich šířkách, jeho intenzita nestačí pro produkci vitD₃ po cca 5 měsíců v roce, od října do března (Obr. 3). Pro srovnání, ve Finsku toto období trvá šest měsíců a v Řecku jen dva¹²⁵.



Obrázek 3. Modelace efektivních dávek UV-B pro syntézu previtamínu D₃ v průběhu roku pro Německo¹²⁵

K tomu, aby vzniklo 1000 IU vitD3, je dle modelové aproximace potřeba ozáření jedné čtvrtiny tělesného povrchu dávkou $\frac{1}{4}$ MED (minimal erythema dose). 1 MED je dávka, kdy dojde k lehkému zarůžování kůže za 24 hodin po ozáření¹²⁹. U dospělých celotělová expozice 1 MED odpovídá užití 20 000 IU vitD2¹³⁰. Potřebná délka slunění závisí na fototypu. VitD3 vzniká rychleji u osob s nižším fototypem. Pro dostačující produkci vitD3, by měla vyhovovat 5–30 minutová expozice polednímu slunci, 2x týdně na oblast obličeje, paží, lýtek nebo zad, případně 10-15 minut 4x týdně, v době od 10 do 15 hod.¹³¹.

UV-A záření vitD3 netvoří, zato je také karcinogenní. Hrazení potřeby vitD sluněním, vyvolává otázky o jeho bezpečnosti, ve vztahu k melanomům a non melanomovým karcinomům kůže. Riziko melanomu je nejvyšší u dětí, stoupá s počtem pigmentových névů, nižším fototypem¹³². Není stanovena žádná bezpečná prahová dávka, při které by za dostatečné tvorby vitD3, nedošlo ke zvýšení rizika kožních malignit¹³³. Je proto prozíravější potřebu vitD hradit z jiných zdrojů, stravou.

2.4.4.2. Strava

Přívod vitD potravou je v naší populaci obecně nedostatečný. Odhaduje se, že v USA činí dietní příjem vitD cca 600 IU vit D/den. 2 μg (80 IU) pochází z přirozené potravy, 4,9 μg (200 IU) z fortifikovaných potravin a 8 μg (320 IU) z potravinových doplňků. Přesto to 70 % populace nestačí¹³⁴.

V Evropě je průměrný denní příjem ještě nižší. Pohybuje se kolem 4,8 μg /den (190 IU) u mužů a 3,3 μg /den (130 IU) u žen. Mezi jednotlivými zeměmi jsou významné rozdíly. Nejméně vitD ze stravy dostanou Španělé (cca 40 IU), nejvíce Norové cca 12 μg /den, tj. až 480 IU/den. V Německu, které je nám nejbližší, se denní přívod u mužů odhaduje na 3,2 až 3,6 μg /den (128-144 IU). U žen je téměř poloviční (2,5 až 2,7 μg /den.)^{135,136}.

V České republice bylo, v rámci programu Monitoringu dietární expozice člověka prováděného Státním zdravotním ústavem, zjištěno, že dospělá populace přijme s běžnou stravou (tj. bez potravinových doplňků) v průměru 3,6 μg vitamínu D/den (144 IU). Průměrný příjem dětí ve věku 7-9 let je také nízký (2,7 \pm 12,7 μg /den, tj. 108 \pm 508 IU/den)¹³⁷.

Mezi populacemi existují velké rozdíly v typech potravin, které jsou hlavním zdrojem vitD. V Nizozemí je to tuk, ve Francii a Španělsku ryby. Ve Velké Británii maso a masné výrobky, spolu s rybami. Ve Finsku a Švédsku ryby, vitD fortifikované mléko a potravinové doplňky¹³⁸.

V ČR jsou hlavním zdrojem vitD vejce (21-28 % celkového přívodu). Mléčné výrobky a sýry dodávají dospělým 10-12 % a dětem 23 % denní dávky vitD ¹³⁹. Tuky s přídavkem vitD přispívají k celkovému přívodu vitD 7 až 17 % (u starších) ¹⁴⁰. V Evropské unii se, oproti USA, plošně potraviny vitD neobohacují. Výjimkou je mléko ve Finsku a Švédsku, margarín ve Velké Británii. V České republice je fortifikace potravin pro výrobce dobrovolná. Nejčastěji se setkáme s obohacenými roztíratelnými jedlými tuky (např. Rama, Flora). Obsah vitamínu D v tucích se nejčastěji pohybuje kolem 7,5 µg/100g, tj. 300 IU/100g. Typ vitD výrobci na obalu neuvádí. Jen ojediněle je obohacováno mléko (mlékárna Kunín), jogurtové výrobky (Actimel) a některé cereálie. Vyšší cena fortifikovaných výrobků, zvl. mléčných, neodráží nízké náklady na přidaný vitD. Obsah vitD ve vybraných potravinách je uveden v následující tabulce (Tab. 1).

Tabulka 1. Obsah vitamínu D (IU/100g) ve vybraných potravinách ¹⁴¹

| Potravina | Obsah vitamínu D (IU/100g) |
|--------------------|----------------------------|
| tuňák v oleji | 232 |
| smetana na šlehání | 100 |
| játra vepřová | 51 |
| vejce slepičí | 50 |
| losos | 42 |
| mléko kravské | 41 |
| margarín tvrdý | 8 |

| Potravina | Obsah vitamínu D (IU/100g) |
|-------------------------|----------------------------|
| olej slunečnicový | 44,9 |
| lískové ořechy | 21,1 |
| mandle loupané nesolené | 15 |
| slunečnicové semeno | 13 |
| olej sojový | 11 |
| arašídové ořechy | 9,7 |
| margarín tvrdý | 8 |
| tuňák v oleji | 6,3 |
| brambory sladké | 4 |
| hovězí mozeček | 2,3 |
| špenát | 2,01 |
| mák | 1,8 |
| rýže neloupaná | 1,65 |
| vejce slepičí | 1,6 |
| rajské jablko zralé | 0,4 |

2.4.5. Epidemiologie nedostatku vitamínu D u idiopatických střevních zánětů

U osob s idiopatickými střevními záněty není vitamínový status lepší, než u zbytku populace. Různý stupeň nedostatku vitD najdeme u jedné poloviny až dvou třetin nemocných¹⁰⁷. Hladiny vitD i u nich během roku kolísají o asi 7,5- 10,5 nmol/l, v závislosti na ročním období^{142,143}. V létě má menší nedostatek vitD (50-75 nmol/l) 18-59 % IBD pacientů. V zimě toto číslo roste na 50-100 % a v deficitu (25OHD<50 nmol/l) je až 76 % osob^{108,144-147}.

Situace mezi českými pacienty s idiopatickými střevními záněty nebyla blíže studována.

Údaje ze slovenské kohorty, která je naší populaci nejbližší, ukazují, že deficit můžeme na konci léta ve střední Evropě předpokládat u jedné třetiny (28 %) osob. V zimě se tento počet blíží polovině (42 %) nemocných. Asi třetina pacientů je vitD insuficientní po celý rok¹⁴².

Při přímém srovnání se zdravou populací, mají osoby s IBD hladiny o 2-4 nmol/l nižší. Tento rozdíl je v různých pracích statisticky variabilně významný^{107,148}. Metaanalýza, vzájemně porovnáující celkem 938 IBD nemocných s podobným počtem zdravých, potvrdila významně větší výskyt hypovitaminózy D u IBD pacientů. Tito nemocní mají o více než polovinu vyšší pravděpodobnost nedostatku vitD, než zdravá populace¹⁴⁹.

Na otázku, zda je nedostatek vitD u pacientů s idiopatickými střevními záněty ještě častější než u zdravé populace, lze odpovědět kladně. Těžší je odpověď, proč tomu tak je.

2.4.6. Příčiny nedostatku vitamínu D u osob s idiopatickými střevními záněty

K faktorům společným s non-IBD populací, jako je nedostatek slunečního záření, nedostatečný přívod stravou, nadváha, se u IBD pacientů přidružují další okolnosti.

Ve studiích jsou nacházeny různé asociace s nízkou hladinou vitD. Nejčastěji jde o kouření, aktivitu a lokalizaci střevního zánětu, délku jeho trvání.

Inverzní vztah mezi počtem vykouřených cigaret a hladinami vitD existuje i u populace bez IBD. Příčina známa není. Případný kauzální vztah se vysvětluje vlivem kouření na kalciofosfátový metabolismus nebo ovlivněním vlastního metabolismu vitD produkty kouření¹⁵⁰.

Za jednu z příčin nedostatku vitD se u IBD považuje postižení tenkého střeva a resekce terminálního ilea. Etiologicky by malabsorpce vitD měla souviset s porušeným enterohepatálním oběhem žlučových kyselin. Terminální ileum je místem, kde dochází k aktivní resorpci žlučových kyselin. Po jeho resekcii nebo při postižení zánětem, je vstřebávání narušeno. U pacientů po resekcii tenkého střeva různé délky (100–300 cm) stupeň resorpce vitD s rozsahem resekce opravdu inverzně koreluje¹⁵¹. Haderslev a spol.¹⁵² měřili hladiny vitamínu D u osob po resekcii tenkého střeva. Průměrná reziduální délka tenkého střeva byla v průměru 199 cm. Pacienti po resekcii měli hladiny 25OHD významně nižší avšak korelace mezi jejich výší a reziduální délkou střeva patrná nebyla. Hladina vitD není u těchto nemocných vždy nízká¹⁵³, případně s postiženým nebo resekováným úsekem tenkého střeva vůbec nekoreluje^{146,154,155}. Tato fakta, kauzální souvislost nedostatku vitD, s postižením tenkého střeva, zpochybňují.

Jednotnější jsou údaje o vztahu mezi nízkou hladinou vitD a aktivitou zánětu¹⁵⁶. Část autorů však spojitost s aktivitou popírá^{157,158}. Nejvíce prací hodnotí tento vztah u CD. Pro UC je údajů velmi málo. V případě, že sledování spojitosti probíhalo u obou typů zánětu, pak byl vyjádřen jen u CD^{146,156,159}. Roli v heterogenitě výsledků mohou hrát metodické rozdíly mezi pracemi. Asociace je nacházena v závislosti na tom, jak aktivitu zánětu autoři definují. Zda vychází z potíží, indexů nebo pouze objektivních ukazatelů (sedimentace, CRP, kalprotektin). Souvislost nebyla patrná při použití SCCAI (Simple Clinical Colitis Activity Index) u ulcerózní kolitidy. Pokud byla jako kritérium aktivity použita elevace kalprotektinu (>100 µg/g), pak byla asociace jasná¹⁵⁹. U Crohnovy choroby byl vztah k aktivitě zjištěn při hodnocení pomocí sedimentace, ale ne u CRP, jako ukazatele aktivity zánětu¹⁶⁰.

Příčin vedoucích k nízkým hladinám 25OHD může být u dlouhotrvajícího zánětu více. Mimo režimových a stravovacích omezení daných chorobou, se spekuluje o zhoršeném vstřebávání, poruše konverze vitD na aktivní formu, zvýšeném katabolismu či větších ztrátách v zaníceném střevě, o zvýšené spotřebě vitD buňkami v místě zánětu, ovlivnění rychlosti metabolismu vitD či snížení jaterní produkce VDBP cytokiny (IL-10)¹⁶⁰.

Nižší hladiny vitD jsou popisovány u osob léčených kortikoidy, z různých indikací. V americké národní kohortové studii byl u léčených kortikoidy deficit (25OHD pod 25 nmol/l) dvakrát častější, než u populace bez kortikosteroidů¹⁶¹. Kortikosteroidy indukují expresi renální 24-hydroxylázy, která odbourává 1,25OHD¹⁶².

2.4.7. Stanovení vitamínu D

Pro informaci o stavu zásob vitD používáme hladinu sérového 25OHD3. Tento metabolit je vhodný pro svůj dlouhý metabolický poločas s minimálním kolísáním hladiny.

Preanalytická fáze vyšetření nemá významné slabiny. 25OHD2 i 25OHD3 jsou teplotně stabilní, odolné vůči světlu a UV záření ¹⁶³.

Problematická je vlastní analýza. Stanovujeme volný 25OHD. Tento v organismu cirkuluje převážně vázaný na VDBP. Před analýzou je nutné jej z této vazby uvolnit. Na výsledek stanovení má pak vliv stupeň uvolnění 25OHD z vazby, který je rozdílný u jednotlivých metod.

Analytické postupy lze rozdělit do dvou skupin. Na techniky separační/chromatografické (tzv. HPLC nebo LC-MS/MS) a imunochemické (RIA, EIA, CLIA, CMIA, ECLIA).

Referenční jsou metody chromatografické. Důvodem je vysoká citlivost a specificita pro jednotlivé vitamíny, možnost separace interferujících epimerů 25OHD. Nevýhodou je technická a finanční náročnost.

Největšího rozšíření dosáhly metody imunochemické, především chemiluminiscenční. Jsou levnější a jednodušší. Mají však své nevýhody. Celkový 25OHD stanovují pouze jako sumu jednotlivých hladin 25OHD2 a 25OHD3. V situaci, kdy nevíme, v jakém poměru jsou tyto vitamíny ve vzorku přítomny, nelze zjistit skutečnou hladinu 25OHD3. Výsledek se proto uvádí jako 25OHD, bez rozlišení jednotlivých typů vitamínů. Preciznost imunochemických metod je asi 2x horší, než je tomu u LC-MS/MS. Diference jednotlivých metod kolísají od 7 do 41 %. Pro okrajové hodnoty je odchylka ještě větší (až 118 % pro 20 nmol/l) ¹⁶⁴. Nejmenší je přesnost při hladinách vit D v oblasti deficitu ¹⁶⁵.

Na trhu jsou nabízeny kity různých výrobců. Abbott, Roche, DiaSorin, Siemens. Vzájemně se liší v afinitě k jednotlivým vitamínům D2, D3. Toto, spolu s nedostatečnou standardizací stanovení, je příčinou rozdílů. Při vzájemném srovnání, mediány hladin kolísají od 2 do 18% ¹⁶³. Průměrná nejistota se pro koncentrace 35 nmol/l pohybuje kolem 19 %, pro 75 nmol/l kolem 16 %. V praxi to pak znamená, že při použití kitů rozličných výrobců, mohou různé výsledné hodnoty např. 80 nmol/l a 100 nmol/l, odpovídat stejné výchozí hladině 25OHD ¹⁶⁶. Další příčinou rozdílů jsou různé koncentrace 3-epi-25-hydroxyvitamínu D3, interference (heterofilní protilátky apod.) ¹⁶³. Obecně imunochemické metody nemají dostatečnou preciznost a bias, které by mohlo zajistit bezproblémovou interpretaci ¹⁶⁷ a srovnatelnost výsledků mezi jednotlivými výrobci ¹⁶⁸. Situaci by měla zlepšit standardizace vyšetření (VDSP, Vitamin D Standardization Program).

2.4.8. *Problematika klasifikace nedostatku vitamínu D*

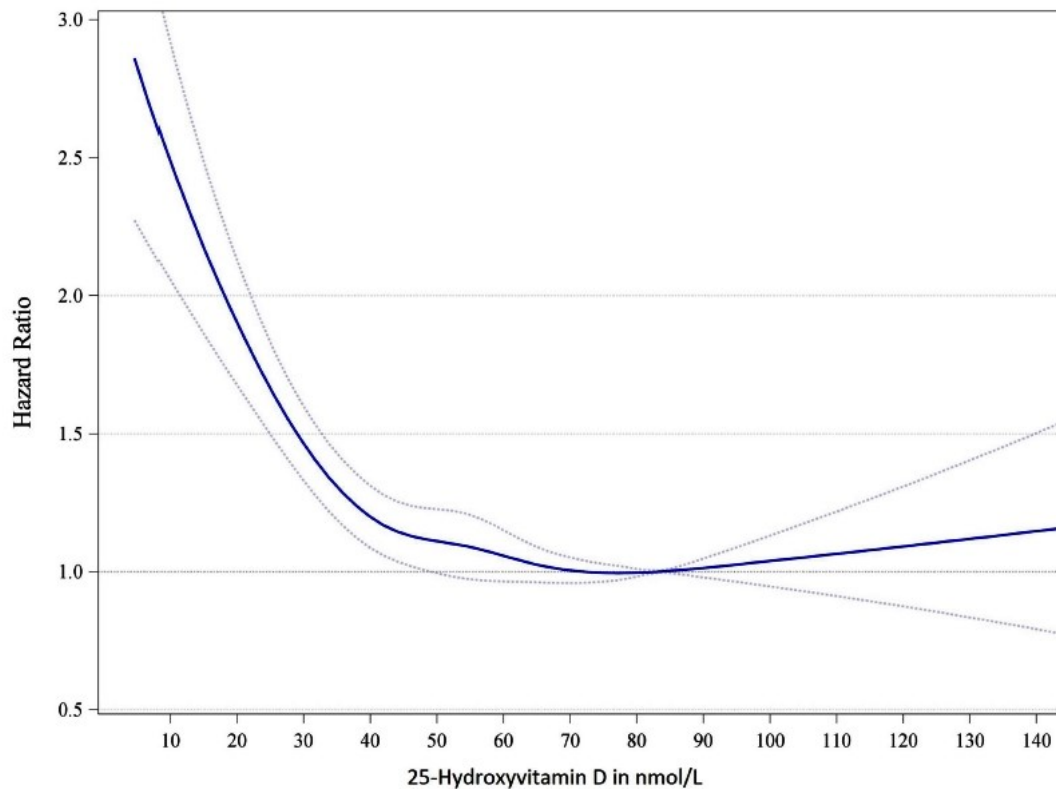
Stupně nedostatku vitD hodnotíme podle plazmatické hladiny 25OHD. Podnormální hodnota se označuje jako insuficience. Ještě nižší hladiny nazýváme deficitem. V současnosti existují dvě, vzájemně neshodné klasifikace jednotlivých stavů. Liší se v limitech pro jednotlivé kategorie.

IOM (North American Institute of Medicine) považuje hladiny 25OHD nižší než 30 nmol/l za deficit, hodnoty 30–49,99 nmol/l za insuficenci, 50–125 nmol/l za normu. Hladina 25OHD >125 nmol/l je zvýšená, potenciálně škodlivá ¹⁶⁹.

Americká ES (Endocrine Society) klasifikuje jako deficit hladiny 25OHD ≤ 20 ng/ml (cca 50 nmol/l), jako insuficenci 25OHD od 21 do 29 ng/ml (50-75 nmol/l). Norma pro děti i dospělé je nad 30 ng/ml (75 nmol/l). Ideální hladiny se pohybují mezi 40 až 60 ng/ml (100-150 nmol/l) a bezpečné do 100 ng/ml (250 nmol/l) ¹⁷⁰.

Referenční hladiny byly stanoveny na základě vlivu vitD na kostní a vápníkový metabolismus. Střevní resorpce vápníku dosahuje maxima při hladinách 25OHD nad 80 nmol/l a suprese PTH je největší při podobných hodnotách (75–100 nmol/l) ¹⁷¹. Při těchto hladinách je patrný i klinický benefit. V randomizovaných studiích, po jejich dosažení, významně klesá frekvence pádů a nonvertebrálních fraktur ¹⁷². Probíhá debata, zda tyto hladiny jsou dostačující i z hlediska extraoseálního působení vitD. V metaanalýze pěti randomizovaných studií, bylo u osob s hladinou 25OHD nad 80 nmol/l (33 ng/ml) patrné snížení rizika kolorektálního karcinomu o 50 % ¹⁷³. V observační kohortové studii, která zahrnovala 250 tisíc osob z Dánska, byla sledována kardiovaskulární morbidita a mortalita. Při hladinách 25OHD mezi 50–90 nmol/l dosáhly oba parametry minima. V podskupině, s hladinou nad 90 nmol/l, mortalita opět stoupala. Vzhledem k multifaktoriálnímu charakteru těchto parametrů, nelze z této korelace vyvozovat kauzální vztah. Studie však ukazuje, že možné asociace s hladinou vitD nemusí mít jednoduchý, lineární, vztah ³⁴. Nelineární („U“ tvar) závislost mezi hladinou vitD a kardiovaskulární morbiditou byla zjištěna i v jiných pracích. Riziko velkých srdečních a mozkových příhod bylo nejvyšší při 25OHD < 30 nmol/l, ale také při hodnotách nad 100 nmol/l ¹⁷⁴. Obdobný vztah pro celkovou mortalitu byl popsán u všeobecné populace (nárůst při hladinách 100-120 nmol/l) ¹⁷⁵. Metaanalýza ¹⁷⁶, zahrnující studie s celkem 26 000 osobami z Evropy, sledovala vztah mezi 25OHD a mortalitou v desetiletém časovém horizontu. Úmrtnost, podle očekávání, stoupala s klesající hladinou 25OHD (od 50 nmol/l). Významný byl její nárůst u skupiny s hladinou pod 40 nmol/l (Obr. 4). Analýza nepotvrdila, že by se při vysokých hladinách 25OHD (50-125 nmol/l

a vyšší) úmrtnost zvyšovala. Pro parametr kardiovaskulární mortality byl závěr obdobný. Prudké zvýšení mortality u osob s hladinou pod 30 nmol/l, bez negativního vlivu hladin nad 100 nmol/l. Práce analyzovala tyto vztahy i pro maligní onemocnění. Žádná závislost zjištěna nebyla.



Obrázek 4. Závislost mezi poměrem rizik (Hazard Ratio) úmrtí z různých příčin a hladinou 25OHD ¹⁷⁶.

Uvedeno jako riziko a 95% CI

Panuje shoda v názorech o škodlivosti nízkých hladin. Kde však leží optimum, není známo. Navržené hodnoty se pohybují od cca 19 do 30 ng/ml (47,5–120 nmol/l) ^{172,175,177}. Referenční hodnoty, doporučené IOM, vychází z modelu, který umožňuje eliminovat deficit u drtivé většiny (97,5 %) americké populace. Kritériem je hladina, od níž se příznivé působení na kost už nezvyšuje. ES používá jiný přístup. Zohledňuje bezpečnost vyšších hladin a negativní dopad nedostatku i z hlediska extraoseálního působení. Hranice jednotlivých kategorií jsou vyšší.

Je s podivem, že na stěžejní otázku z hlediska suplementace vitD, tedy, jaké cílové hladiny bychom měli u pacientů s idiopatickými střevními záněty dosáhnout, neznáme odpověď. Problematika má řadu metodických nejasností. Rozdíly existují už v názoru, jak definovat cíl. Zda to bude změna prevalence choroby nebo její aktivity. Jak řešit metodické rozdíly ve stanovení hladin 25OHD a jak hodnotit samotný vztah. V epidemiologických studiích je hladina vitD většinou pojímána jako kategoriální proměnná (norma, insuficience, deficit), což ke stanovení optimální hladiny nestačí. Tato otázka nebývá primárním cílem prací ^{178,179}.

Pokus o nalezení optima byl jedním z cílů metaanalýzy hodnotících vztahy mezi hladinou vitD a idiopatickými střevními záněty ¹⁵⁶. Pro nedostatek údajů to nebylo možné. Jen jedna práce byla provedena s cílem nalézt optimální hladiny vitD. Autoři jako kritérium účinnosti použili kvalitu života (dotazník SIBDQ), která do jisté míry s tíží zánětu, aktivitou, koreluje. Nejvyššího skóre dosáhly osoby s hladinami vitD cca 120-150 nmol/l ¹⁴².

Tak, jako je tomu u obecné populace i zde panuje shoda, že nízké hladiny mají na IBD negativní vliv. Spekuluje se, že u CD pacientů by bylo vhodné, aby hladiny převyšovaly 75 případně 100 nmol/l. Vyžaduje to objektivní prověření ¹⁸⁰. Jaká je optimální plazmatická hladina 25OHD u IBD pacientů, není v současnosti známo ¹⁸¹.

2.4.9. Problematika suplementace vitamínu D

2.4.9.1. Typ vitamínu

K suplementaci je možno použít jak vitamín D2, tak vitamín D3¹⁷⁰. Téměř výhradně se používá vitD3. Jeho účinnost je o třetinu až polovinu větší a má delší metabolické působení než vitD2^{182,183}. Ergosterol se používá, patrně z ekonomických důvodů, k fortifikaci potravin.

Analoga vitD, buď jako hydroxylované formy (kalcitriol, alfa kalcidiol) nebo odvozené, nové sloučeniny (doxercalciferol, falecalcitriol, apod.) se liší od vitD ve tkáňově specifické vazbě a menším vlivu na kalcémii. Byly vyvinuty s terapeutickým cílem maximalizovat působení na receptor, při minimálním ovlivnění metabolismu vápníku a fosforu. V širším slova smyslu mezi ně lze zařadit polyhydroxylované formy používané u pacientů s renální insuficiencí. U Crohnovy choroby mohou být, alespoň krátkodobě (3 měsíce), účinnější než normální vitD, jak s ohledem na kostní metabolismus (zvýšení produkce a snížení resorpce kosti), tak aktivitu zánětu¹¹⁶. K suplementaci se však analoga nebo hydroxylované formy vitD nepoužívají.

2.4.9.2. Způsob podání

Preferovanou formou je perorální podání. Údaje týkající se účinnosti resorpce vitD u pacientů s CD (UC nejsou studováni) jsou rozporné. Vstřebávání je obecně velmi individuální¹⁵⁴. Výsledné hladiny při perorálním podání kolísají¹⁸⁴. U resekcí tenkého střeva můžeme s významnou malabsorpcí počítat až u velkého zkrácení (nad 300 cm) střeva¹⁵¹. Suplementaci není důvod začít jinak, než perorálním podáním. Parenterální aplikace je na místě u osob s nedostatečnou adherencí nebo nízkou efektivitou perorálního dávkování.

2.4.9.3. Dávkovací interval

Při volbě optimální frekvence užívání je třeba zohlednit dvě protichůdné skutečnosti. Časové období, po které je hladina vitD v žádoucím rozmezí a frekvenci podávání, při které je maximální adherence suplementovaných.

Adherence k dennímu dávkování je nízká ¹⁸⁵. Z tohoto pohledu je lepší režim s co nejdelším časovým odstupem. Testováno bylo podávání vysokých dávek (např. 600 000 IU/rok) 1x ročně. Takto lze i přes dlouhý časový odstup, udržet hladinu vitD na hranici normy ¹⁸⁶. Tyto dávky nejsou fyziologické. Autoři zaznamenali u několika osob vzestup kalcémie (nad 2,76 mmol/l). Zkoušeny byly dávky nižší (100 000 až 540 000 IU). Kearns a spol. se pokusili vzájemně porovnat efektivitu jednotlivých postupů ¹⁸⁷. Interpretace byla obtížná pro značnou heterogenitu vstupních dat. Práce zahrnovaly různé dávkovací způsoby (perorální, intramuskulární), porovnávaly jednotlivé dávky s placebem nebo denním podáváním nízkých dávek vitD. Autoři review šalomounsky uzavírají tím, že nejefektivnější ve zlepšení vitamínového stavu a supresi zvýšeného PTH, jsou jednotlivé dávky vit D3 $\geq 300\,000$ IU a to na dobu až 3 měsíců. Na druhé straně připouští, že mohou stačit i nižší dávky. Před jednorázovým podáváním vysokých množství ($> 500\,000$ IU) varují.

Při určování optimálního intervalu mezi dávkami je třeba zohlednit metabolický poločas vitD. U 25OHD3 činí cca 2-3 týdny. Pokud bude doba mezi dávkami příliš dlouhá, dojde k nežádoucímu poklesu hladiny. Toto dilema se, při delším dávkovacím intervalu, autoři snaží řešit zvýšením bolusové dávky. Armas a Heany sledovali kinetiku hladin vitD po jednorázovém perorálním podání 100 000 IU u osob s deficitem ¹⁸⁸. Hladina vzrostla z cca 67 na 104 nmol/l. Tohoto maxima dosáhla za cca 1 týden. Následně exponenciálně klesala. Spodní hranice normy (80 nmol/l) dosáhla po 2 měsících. Autoři považují 100 000 IU cholekalciferolu á 2 měsíce za bezpečný a finančně efektivní postup při korekci deficitu. Práce potvrzuje starou zkušenost, že po jednorázovém podání hladina 25OHD dosáhne maxima asi za týden. Tento režim je bezpečný u osob v deficitu, kdy vede k vzestupu vitD. Není jasné, jaké výše může 25OHD dosáhnout u osob s normální hladinou, pokud by se tento režim použil k dlouhodobé suplementaci a ne korekci nedostatku. Hladiny byly sledovány po omezenou dobu (maximálně za rok po aplikaci jedenkrát ročně).

Logičtější a bezpečnější volbou je použití menších dávek v kratším intervalu. Chel. a spol. porovnávali efektivitu perorálních, ekvivalentních, dávek v denním (600 IU), týdenním (4200 IU) a v měsíčním intervalu (18 000 IU) u osob v těžkém deficitu (95 % osob 25OHD pod 50 nmol/l) po dobu 4 měsíců ¹⁸⁹. U všech sledovaných došlo po 4 měsících k významnému vzestupu hladiny vitD. Největší nárůst byl při denním a nejmenší při jednoměsíčním dávkování. V randomizované studii Pekkarinen a spol. ¹⁹⁰ porovnávali účinnost ekvivalentních dávek (292 000 IU ročně) podávaných buď denně (800 IU) nebo á 4 měsíce (97 333 IU) po dobu 1 roku. Při denním dávkování dosáhlo cílové hladiny (75 nmol/l) více

osob než při čtyřměsíčním intervalu (47 % vs. 28 %). Zdá se, že častější podávání menších dávek bude lepší.

Existují práce dokazující, že dávkovací interval zásadní roli hrát nemusí. Při použití vyšších dávek (1500 IU /den, 10 500 IU/týdně nebo 45 000 IU měsíčně), došlo u všech osob ke vzestupu hladin a po 2 měsících nebylo mezi jednotlivými skupinami významného rozdílu¹⁹¹. Další práce srovnávala ekvivalentní dávku 500 000 IU za čtyři měsíce podávanou různě často¹⁹². Buď jako 50 000 IU týdně po 8 tý, pak 50 000 IU měsíčně nebo 7000 IU denně po 8 týdnů a pak 12 500 IU týdně po dva měsíce. Frekvence podávání (denně vs. týdně) neměla na hladinu 25OHD žádný vliv. Určující byla pouze celková dávka vitD. V současnosti tedy není jasné, zda pro korekci deficitu je denní dávkování ekvivalentní intermitentnímu podávání vysokých dávek. U pacientů s idiopatickými střevními záněty vliv dávkovacích intervalů studován nebyl.

Otázkou je, co je pro organismus výhodnější. Zda je to dlouhodobě setrvalá nebo naopak kolísající hladina vitD (jak je tomu např. při opalování) nebo zda nejsou obě fyziologického hlediska ekvivalentní.

2.4.9.4. Dávka vitamínu D

Potřebná dávka vitD závisí na řadě okolností, které byly diskutovány již dříve, na aktivitě zánětu, individuální resorpci, hladině VDBP, genetických heterogenitách, medikaci, barvě kůže a slunění, příjmu potravou. Roli bude hrát skutečnost, zda chceme nedostatek odstranit nebo udržet stávající stav zásob.

Korekce nedostatku

V názorech na optimální velikost dávky vitD existuje velká variabilita. Kupříkladu pětíměsíční podávání 0, 1000 IU, 5000 IU a 10 000 IU vitD3 osobám se subnormální a normální hladinou 25OHD (nad 70 nmol/l) ukázalo, že ke vzestupu hladiny vitD dojde až při dávce 5000 IU/den a vyšší¹⁹³. Ukazovalo by to na nedostatečnost 1000 IU pro korekci nedostatku. Na druhé straně údajně už 400 IU vitD za den, u osob s deficitem, je schopno hladinu 25OHD významně zvýšit¹⁹⁴. Většina autorů, kteří se touto problematikou zabývají, se věnuje dávce potřebné k úhradě nedostatku. Používají doporučené fixní dávky (400-1000 IU/den). Snad díky představě, že dlouhodobým podáváním i malých dávek, můžeme

dosáhnout postupné normalizace hladiny. Zdá se, že tomu tak není. Souhrnná práce zahrnující 18 studií s dávkami od 200 do 800 IU/den ukázala, že 400 a 800 IU vitD sice zvýšily hladinu na dvou až trojnásobek (46 až 55 nmol/l), ale k normalizaci hladin nestačily¹⁹⁵.

Případné prodloužení doby podávání vitamínu problém nevyřeší. Dávka 400 IU/den ke korekci nedostatku nestačí ani když se podává po dva roky¹⁹⁶. Je nutné její navýšení. 700 IU/den vitD stav prakticky normalizovalo, ale až po 3 letech užívání (vzestup ze 70 nmol/l na 102 nmol/l)¹⁹⁷. Po ročním podávání bylo dosaženo rychlejšího vzestupu hladin nad 50 nmol/l jen dávkou vyšší než 800 IU/den (porovnáváno 400 - 4800 IU/den)¹⁹⁸.

Úspěšnost úhrady nedostatku vitD je studována převážně jen u osob starších 60 let (postmenopauzálních žen nebo smíšených skupin v indikaci osteoporózy). U těchto osob se předpokládá vyšší potřeba vitD, než u mladších. Osoby s IBD jsou většinou mladšího věku. Práce s věkově srovnatelnými skupinami nejsou. Studie, které by cíleně hodnotily dopad suplementace vitD na hladiny 25OHD u pacientů s idiopatickými střevními záněty jsme našli jen dvě (Medline). Randomizovaná je jen jedna z nich. V této, dvojité zaslepené studii, Jørgensen a spol.¹⁰⁹ podávali 1200 IU vitD3 denně. Po 3 měsících hladina 25OHD stoupla ze subnormálního pásma (průměrně 69 nmol/l) na normu (96 nmol/l). Yang a spol.¹⁹⁹, ve snaze určit dávku, která zvýší během 24 týdnů hladinu 25OHD nad 100 nmol/l, volili adaptivní dávkování. Úhrada byla započata 1000 IU/den. Při nedostatečném vzestupu vitD se dávka postupně zvyšovala až na 5000 IU/den. Ani při tomto množství polovina z účastníků nedosáhla cílové hladiny. Mimo této suplementace, měly sledované osoby i jiný přívod vitD, v dávce 120–800 IU/den (multivitamíny). Autoři považovali 5000 IU/den za efektivní dávku potřebnou ke zlepšení vitD stavu. K vzestupu docházelo při nezměněné dávce ve 12 i 24 týdnů sledování. Je proto možné, že při delším sledování, by celková potřebná dávka byla menší.

Obecně z různých prací vyplývá, že dávky kolem 400 IU/den jsou schopny zvýšit hladinu o 10-40 nmol/l, 600 IU/den o asi 30 nmol/l²⁰⁰, 800 IU o 50–65 nmol/l, za 6 až 18 měsíců^{201,202}. Tyto závěry nejsou univerzálně platné. Veith²⁰³ použil 1000 a 4000 IU/den. Za 3 měsíce po 1000 IU/den hladina 25OHD dosáhla v průměru 68 nmol/l a 96 nmol/l ve skupině se 4000 IU/den. Normalizace hladiny ve sledované kohortě ještě automaticky neznamená, že u všech jejich členů došlo ke korekci deficitu. Normalizovat hladiny (25OHD \geq 75 nmol/l) se dávkou 1000 IU/den podařilo pouze u 2/5 osob, zatím co po 4000 IU/den u téměř všech (88 %). Pro úpravu nedostatku většiny populace bude nutné užívání více než 700–1000 IU vitD¹⁷⁷. Podáváním doporučených dávek (600 IU) asi nejsme schopni deficit v rozumné době korigovat.

Podnětný návod, jak nedostatek racionálně a v krátké době uhradit, nabízí Groningen a spol.²⁰⁴. Použili perorální cholekalciferol. Iničiální kumulativní dávka byla 100 000, 150 000 a 200 000 IU během 2 měsíců. Hladina vitD stoupla v průměru z cca 20 nmol/l na 48, 64 a 90 nmol/l (ve skupinách se 100 000, 150 000 a 200 000 IU). Vzestup sérového 25OHD přímo úměrně závisel na celkové dávce vitD a inverzně koreloval s tělesnou hmotností a výchozí hladinou vitD. Na základě dynamiky hladin autoři navrhli vzorec pro výpočet potřebné dávky: celková dávka (IU) = 40x (75–sérový 25OHD) x hmotnost. Pro osobu o hmotnosti 75 kg a s hladinou 50 nmol/l, to znamená podání cca 150 000 IU vitD během 2 měsíců, aby došlo k normalizaci hladiny vitD. Pak by měla následovat dávka udržovací. Jaká to je však autoři neuvádějí.

Tyto zkušenosti jsou získány od osob bez střevních zánětů. U IBD pacientů byla problematika rychlé úhrady studována u pediatrických nemocných²⁰⁵. Randomizovaně zde bylo použito 5 a 10 tisíc IU/10 kg hmotnosti týdně, po 6 týdnů. Hladina 25OHD se v obou skupinách normalizovala, bez vzájemného rozdílu mezi nimi (102 nmol/l vs. 122 nmol/l). Po ukončení suplementace, byl po 4 týdnech patrný trend k opětovnému poklesu hladin. V další práci byl porovnáván vliv vitD2 a vitD3 na úpravu deficitu (25OHD pod 50 nmol/l)²⁰⁶. První dvě skupiny užívaly vitD2 a vitD3 v dávce 2000 IU/den. Třetí skupina dostávala 50 000 IU vitD2 týdně. U skupiny s 2000 IU/den došlo po 6 týdnech k vyššímu vzestupu po vitD3 než po vitD2 (40 vs. 23 nmol/l). Jak se dá předpokládat, nejvyšší nárůst (62 nmol/l) byl zaznamenán po 50 000 IU vitD2. Metodické nejasnosti (použití vitD2 a vitD3, různé dávky, stanovení 25OHD, délka podávání) generalizaci a klinickou přenositelnost zjištěných závěrů vylučují.

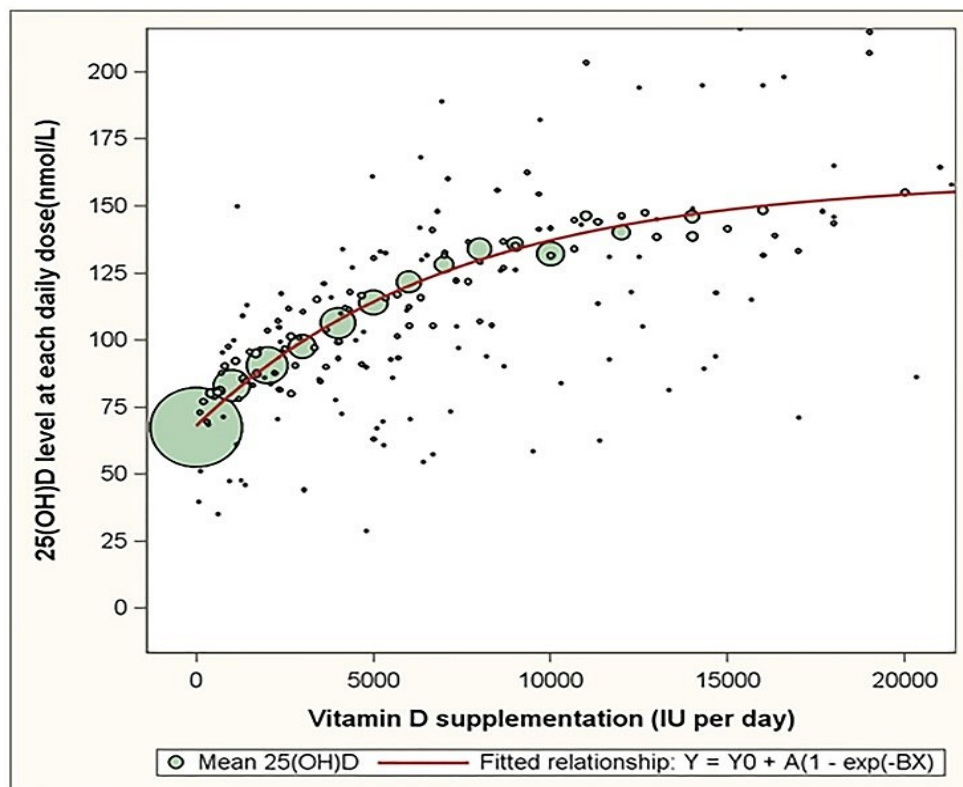
Přes minimum objektivních údajů lze odhadovat, že i u IBD pacientů budou potřebné dávky vitD vyšší, než se doporučuje.

Údaj Groningena o vlivu hmotnosti na potřebnou dávku vitD, vyvolává nové otázky. Je vzestup přímo úměrný pouze podávané dávce? Co všechno může ovlivnit cílovou hladinu a potřebnou dávku?

Heaney a spol.¹⁹³ považují závislost na dávce za lineární. Vypočítali, že na každých podaných 40 IU vitD dojde k nárůstu hladiny o 0,7 nmol/l. Používali 0, 1000, 5000 a 10 000 IU/den. Jiní autoři však zjistili mnohem větší variabilitu. Vzestup hladin se pohybuje od 0,69 do 3,25 nmol/l na 40 IU vitD, za 12 měsíců sledování. Většina prací dokladuje opak Heanyho závěru. Hladina 25OHD nemá lineární průběh, ale roste exponenciálně. Se zvyšující se dávkou (0-20 000 IU/den) rychlost změny klesá (Obr. 5). Při malých diferencích mezi dávkami je změna tak malá, že ji za téměř lineární považovat můžeme²⁰⁷. Toto však

není případ Heaneyho studie. Samotná dávka ovlivňuje strmost růstu a výši plateau. Při podávání 1000 IU/den se hladina ustálí na cca 70 nmol/l, při 4500 IU na 110 nmol/l^{198,203}. Tento průběh byl potvrzen i metaanalýzou²⁰⁸.

Faktorů, které mohou nelinearitu vyvolávat, je více. Rozdílný věk²⁰⁹, tělesná hmotnost, body mass index^{207,209,210}. Zde se v etiologii spekuluje o větším distribučním objemu pro vitD u obézních. Odlišnosti v metabolismu ani vstřebávání vitD popsány nebyly^{211,212}.



Obrázek 5. Nelineární závislost mezi dávkou vitD a dosaženou hladinou 25OHD²⁰⁷

Zdá se, že z nějakých důvodů, hraje roli i výchozí hladina 25OHD. Ve více pracích je zaznamenáno, že osoby s nízkou úvodní hladinou 25OHD, mají při stejné dávce vyšší vzestup než ty, s iniciální hladinou vyšší^{195,208,210,213}.

Udržení setrvalé hladiny

Po úpravě nedostatku, dojde bez dalšího podávání vitD k postupnému poklesu hladiny v těle. Důvodem je nedostatečný přívod vitD potravou. Denní přívod vitD se v Evropě pohybuje kolem 190 IU/den¹²⁵. Toto množství nestačí k pokrytí potřeby organismu, zvláště v zimních měsících. V naší geografické oblasti je, pro udržení setrvalé hladiny, nutné trvalé podávání vitD. Doporučené denní dávky vitD by tento požadavek měly krýt.

Jak bylo již dříve zmíněno, existuje více stanovisek. Americký IOM pro osoby do 70 let doporučuje denní příjem (RDA) 600 IU vitamínu D. Pro osoby starší 70 let o 200 IU více. Doporučení vychází ze simulace závislosti hladiny na dávce vitD, založené na analýze 19 randomizovaných studií. Do hodnocení byly zařazeny práce, provedené v našem zeměpisném pásmu (40-60 st. severní šířky), publikované do roku 2010. Dávka je počítána na referenční hladinu 50 nmol/l, které by mělo dosáhnout 97,5 % populace. Při příjmu 600 IU/den, by se predikovaná průměrná hladina měla pohybovat kolem 63 nmol/l (spodní hranice 95 % CI 56 nmol/l)¹⁶⁹.

Doporučení EFSA²¹⁴ jsou novějšího data. Jsou založena na meta-regresní analýze 35 randomizovaných prospektivních studií. Vybrány byly práce, zabývající se perorálním podáváním vitD, publikované do roku 2014. Podmínkou byla doba trvání nejméně 6 týdnů, které probíhaly době minimální produkce vitD, tedy v průběhu zimy. Dle modelu pak byl odvozen celkový přívod vitamínu D potřebný pro dosažení hladiny 25OHD 50 nmol/l (dolní limit 95 % CI). Pro dospělé dávka činí 600 IU/den. Jedná se o množství shodné s IOM. Tyto doporučené hodnoty jsou však zpochybňovány. Především se jim vytýká, že použitá prahová hladina je příliš nízká a je potřebná vyšší dávka, až 1500 IU/den¹⁷⁰.

Pro pacienty s idiopatickými střevními záněty žádné podobné modelace provedeny nebyly. European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO) doporučuje podávání vitD v dávce 800–1000 IU/den při kortikoterapii nebo u osob se sníženou kostní denzitou (ECCO Statement 10D)²¹⁵. Pro osoby nesplňující tato kritéria jiná doporučení nejsou.

O odhad udržovací dávky se pokusila Pappa a spol.²¹⁶ u pediatrických pacientů. Nemocným s UC a CD, s hladinou 25OHD nad 50 nmol/l, bylo podáváno perorálně buď 400 nebo 1000 IU/den vitamínu D2 během léta a 2000 IU během zimy. Cílem bylo udržet sérovou hladinu 25OHD nad 80nmol/l. U obou skupin došlo k mírnému poklesu hladin (28,1 vs. 29,9 nmol/l, 400 IU vs. 1000 IU), který nebyl významný (iniciální hladina 28 vs. 33 nmol/l). Autoři soudí, že dávky do 2000 IU denně nestačí k udržení hladiny 25OHD během roku.

Hladina byla stacionární jen u 20 % osob a při dávce 1645 IU/den. Je třeba poznamenat, že práce používala vitD2. Na cholekalciferol je množství nepřepočítatelné.

Jistým vodítkem nám byla naše pilotní observační práce. Sledovali jsme dynamiku hladiny 25OHD u pacientů s CD a UC během zimního období a její korelaci s užívanou dávkou vitD3. Při průměrném množství 1104 IU/den došlo na konci sledovaného období k významnému poklesu hladiny 25OHD (ze 71 na 56 nmol/l) ²¹⁷.

Práce cíleně stanovující potřebnou suplementační, udržovací, dávku cholekalciferolu a nejlépe randomizovaně, pro IBD pacienty nejsou. Doporučované dávky 600 IU/den nejspíše k udržení normální hladiny vitD stačit nebudou. Jaké množství vitD tyto nemocní potřebují, není známo.

2.4.10. Nežádoucí účinky vitamínu D

Jedním z důvodů nedostatečného dávkování vitD jsou obavy z nežádoucích účinků a toxicity.

Prvním a nejcitlivějším projevem nadbytku vitD je hyperkalcémie, následovaná hyperkalcémií. Hyperkalcémie vyvolává potíže a má bezprostřední zdravotní dopady. Proto se považuje za kritérium předávkování²¹⁸. Metabolické působení vitD je neseno především volnou aktivní formou 1,25OHD3. Její tvorba je zpětnovazebně regulována. Riziko předávkování kalciferolem bude mnohem nižší, než při podávání samotného 1,25OHD3. Ke zvýšení koncentrace volného 1,25OHD3 dojde v případě, že je buď překročena vazebná kapacita (jednorázové podání vysoké dávky) nebo je tento z vazby vytěsněn nadbytkem jiných metabolitů vitD. Systém má velkou rezervu. Vazebná kapacita VDBP převyšuje plazmatickou koncentraci asi 20x. Jednorázové perorální podání 300 000 IU cholekalciferolu hyperkalcémii nevyvolalo²¹⁹. Toxicita byla zaznamenána až při konzumu megadávek vitD a po delší dobu²¹⁸.

Je otázkou, jaké sérové hladiny 25OH mohou být potenciálně toxické. Nejvyšší hladina, které bylo dosaženo přirozenou expozicí slunci, je 60 ng/ml (cca 150 nmol/l)²²⁰. Hyperkalcémii nevyvolala ani hladina 220 nmol/l 25OHD¹⁹³. Zaznamenána byla až při hodnotách od 320 do 1692 nmol/l¹⁶⁹. V randomizovaných studiích nebyla zjištěna korelace mezi kalcémií a hladinami 25OHD až do výše 257 ng/ml (640 nmol/l). Odpovídalo by to dennímu přívodu 100 000 IU/den¹⁷². K obdobným závěrům dospěli Mason a Morris^{221,222}. Za hladinu schopnou vyvolat u normálních osob hyperkalcémii považují 700 nmol/l.

V souvislosti s toxicitou vitD jsou používány termíny UL a NOAEL.

UL (Tolerable Upper Intake Level) je označení množství, které lze dlouhodobě konzumovat, aniž by se dal předpokládat nežádoucí účinek. NOAEL (No-observed-adverse-effect level) odpovídá nejvyšší dávce, u které nebyl dokumentován nežádoucí účinek²¹⁸. Pro vitD je NOAEL 100 µg vitD/den (4000 IU) a plazmatická hladina 200 nmol/l 25OHD. UL je v EU i USA arbitrálně stanovena na 2000 IU/den^{169,214}. Je to dávka nízká, neodpovídající zkušenostem. V roce 2007 byla publikována rozsáhlá práce Hathcocka a spol.²²³. Autoři se v ní pokusili, na základě analýzy všech dostupných klinických studií s vitD, o redefinici výšky UL. Z interpolace byly vyloučeny práce používající vysoké dávky vitD (nad 18 000 IU/den). Důvodem byly metodické nejasnosti (nedostatečná sledování, malý počet osob, apod.). V pracích používajících 10 000 IU/den nebyla toxicita zjištěna. Navrhují proto

u zdravých považovat tuto dávku za UL. Nežádoucí účinky však nebyly uváděny ani ve vyřazených pracích, které použily vyšší dávky.

S možností nežádoucích účinků/předávkování vitD je třeba počítat u osob se sarkoidózou, lymfomy, aktivní tuberkulózou (nejspíše v důsledku nadprodukce vitD lymfocyty a makrofágy), dětí (omezená regulace hydroxyláz), osob léčených thiazidovými diuretiky (hyperkalcémie).

Nefrolitiáza.

Zvýšená incidence nefrolitiázy byla zaznamenána jen v Women's Health Initiative trial (dávka 400 IU/den +1000 mg/den Ca). Populační kohortové studie toto nepotvrdily. Spekuluje se o souvislosti se společně podávaným vápníkem, než o vlivu samotného vitD ²²⁴.

Ve světle současných poznatků lze konstatovat, že vitD je látkou bezpečnou, se širokým terapeutickým rozmezím ²²⁵. Případná toxicita nesouvisí s vlastní podávanou dávkou, ale s výslednou plazmatickou hladinou vitD. Předpokládané optimální hladiny 25OHD (cca 75 až 160 nmol/l), jsou vzdáleny hladinám potenciálně toxickým ²²⁶. Rizika předávkování se proto nemusíme u zdravých osob, při běžném dávkování, obávat ¹⁸¹.

2.4.11. Interakce vitamínu D

Vitamin A

Tento vztah je velmi málo probádaný. Zdá, že vitamin A má schopnost částečně antagonistovat působení vitD na metabolismus vápníku a fosforu^{227,228}. Předpokládá se, že jde o důsledek receptorové kompetice na retinoid X receptoru, který je společným bodem pro genové působení vitD a retinolu.

Vitamin K

Vitamin D i K mají osteoinhibiční působení. Vitamin K potencuje působení vitD na osteoblasty²²⁹.

Léky

Resorpce vitD může být snížena při léčbě orlistatem⁶. Některá léčiva aktivací pregnan-X receptoru (SXR -steroid and xenobiotic receptor) zvyšují expresi 24-hydroxylázy a zrychlují katabolismus vitD (Tab. 2).

Tabulka 2. Léčiva aktivující pregnan-X receptor (podle²³⁰)

| Ligand pregnan-X receptoru | Látka |
|----------------------------|--------------------------------------|
| Antiepileptika | fenytoin, karbamazepin |
| Cytostatika | cyclofosfamid, paclitaxel, tamoxifen |
| Antibiotika | clotrimazol, rifampicin |
| Hormony | dexametazon, cyproteron |
| Hypotenzíva | nifedipin, spironolacton |
| Antivirotika | ritonavir, saquinavir |

Jednou z těchto látek je dexametazon. Ve více pracích, včetně kohortových, byla popsána inverzní korelace mezi hladinou vitD a užíváním i jiných kortikosteroidů, než je dexametazon. Nabízí se, že obdobně budou účinkovat i jiné kortikosteroidy. Riziko nízkých

hladin 25OHD při kortikoterapii je až dvakrát vyšší, než u osob, které kortikosteroidy neužívají ¹⁶¹. K obdobnému záběru došla i metaanalýza ²³¹. Zde však byla obdobně nízká hladina vitD zjištěna i u osob s aktivním zánětem, ale bez kortikosteroidů. Autoři se domnívají, že rozdíly v hladinách vitD, mezi léčenými kortikosteroidy a kontrolami, mohou být vysvětlitelné jinak - samotnou aktivitou zánětu (následkem čehož jsou nutné kortikosteroidy). Toto zjištění zpochybňuje případný vliv kortikosteroidů na hladiny vitD.

Magnézium

Existuje přímý vztah mezi hladinou hořčíku a vitD. Předpokládá se souvislost s nedostatečnou sekrecí PTH a aktivací hydroxylázy parathormonem ²³².

Poznatků o vitamínu D máme hodně. Přesto je otázek více než odpovědí.

- Panuje shoda v tom, že deficit vitD má negativní vliv na průběh idiopatických střevních zánětů. Asociace je patrně těsnější u Crohnovy choroby než ulcerózní kolitidy.
- Nedostatek vitamínu D je u těchto pacientů minimálně stejně častý, jako je tomu u ostatní populace a není důvod jej nehradit.
- Není známo, jaké jsou optimální hladiny vitamínu D pro pacienty s idiopatickými střevními záněty.
- Není vyjasněn nejlepší způsob dávkování.
- Není známo, jaká je potřebná udržovací dávka pro tyto nemocné.
- Není známo, zda je stejná pro všechny pacienty nebo je nutné, ji na základě nějakých faktorů, modifikovat.

Zodpovězení těchto otázek si vyžádá množství práce. Na výsledky budeme muset patrně ještě delší dobu čekat. Pokusili jsme se proto přispět k objasnění, alespoň jedné z nich, které nás trápí v každodenní praxi.

3. Výzkumná práce

3.1. Cíl práce

Určení denní dávky vitamínu D3 potřebné k udržení setrvalé hladiny u pacientů s idiopatickými střevními záněty, v průběhu zimního období.

3.2. Metodická východiska

Z dostupné literatury nelze určit, v jakém užším rozmezí, by tato dávka mohla pohybovat. Doporučená dávka dle EFSA nebo IOM (600 IU/den) se týká obecné populace a je zpochybňována, jako podhodnocená. Navrhováno je dávkování minimálně dvojnásobné^{170,193}. Rozptyl možných hodnot je velký i u osob s idiopatickými střevními záněty (800, až více než 2000 IU)^{142,216,217}. Nelze je pro přímé ověření slepě převzít.

Možná řešení jsou dvě.

Je možné přímo testovat efektivitu více různých dávek, pokrývajících rozmezí očekávané spotřeby. Nevýhodou je metodická náročnost. V důsledku většího počtu zkoumaných skupin, bude potřebný velký počet probandů. Existuje riziko, že zvolené dávky nebudou zahrnovat oblast skutečné potřeby, bude nutná matematická interpolace a závěr nebude dostatečně validní.

Druhý přístup, který považujeme za schůdnější, vychází z pokusu o odhad potřebné dávky v cílové populaci. Poté následuje ověření jeho správnosti. Vlastní práce byla proto rozdělena do dvou částí.

V první, observační, prospektivní, fázi byla získána data pro zjištění předpokládané potřeby vitamínu D. Analyzovali jsme párové hladiny 25OHD ze začátku a konce sledovaného období, ve vztahu k užití dávce vitD, udané pacientem. Z rozdílů hladin a užívané dávky vitD, byla za pomoci matematického modelu odhadnuta dávka vitD, potřebná pro udržení setrvalé hladiny 25OHD. Jedním z faktorů, které dle literatury, mohou významně modifikovat její výši, je tělesná hmotnost. Proto byla stanovena i denní dávka přepočítaná na kg hmotnosti (IU/kg/den).

Ve fázi druhé, intervenční, byla správnost odhadu ověřena. Pacienti užívali vypočítanou dávku vitD. Sledovali jsme změnu hladiny 25OHD a přítomnost faktorů, které její hodnotu ovlivňují. Na základě získaných dat byl upřesněn matematický model pro stanovení optimální suplementační dávky.

3.3. Část I. Odhad velikosti suplementační dávky vitamínu D

3.3.1. Cíl práce

Určení denní dávky vitamínu D3 potřebné k udržení setrvalé hladiny 25OHD v zimním období.

3.3.2. Materiál a metodika

Soubor

Prospektivní, observační, kohortová studie. Zařazeni byli pacienti s Crohnovou chorobou a ulcerózní kolitidou, sledovaní v gastroenterologické ambulanci Interního oddělení Krajské nemocnice T. Bati ve Zlíně (KNTB), užívající vitD.

Za osoby užívající vitD jsme považovali ty, které v posledních 3 měsících a ve stejné dávce užívaly jakýkoliv perorální přípravek (léčivý přípravek nebo potravinový doplněk s definovaným složením) obsahující cholekalciferol. V naší dřívější práci ²¹⁷ nebyla, u podobné skupiny pacientů, dávka 1100 IU/den cholekalciferolu dostačující k udržení setrvalého stavu. Existuje riziko, že potřebná dávka bude násobně vyšší než ta, kterou pacienti doposud užívali. Určení potřebné dávky by pak nemuselo být možné. Respektive, by bylo možné jen pomocí matematické interpolace. Ta však má vyšší riziko chyby. Proto byli do sběru dat zařazeni i nemocní užívající vyšší dávku vitD, v rámci korekce deficitu, při respektování minimální doby užívání vitD.

Diagnóza Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy byla založena na typickém endoskopickém, ev. histologickém nálezu, případně nálezu zobrazovacích metod.

Vylučující kritéria

Osoby neschopné dostatečné spolupráce nebo udání dávky užívaného vitamínu D

Věk pod 18 a nad 70 let

Funkčně významné jaterní, renální onemocnění (renální insuficience s glomerulární filtrací pod 1ml/s)

Jiné závažné onemocnění (srdeční, plicní, apod.)

Cholestáza

Malabsorpční stavy (celiakie, chronická pankreatitída)

Osoby po resekčních, zkratových nebo bariatrických výkonech na trávicím traktu (mimo ileocékální resekce)

Léčba kalcitriolem, analogy vitamínu D, vitamínovými přípravky s neznámým složením

Hyperparatyreóza (PTH nad 8 pmol/l)

Hyperkalcémie (celkový Ca nad 2,65 mmol/l)

Diagnóza maligního onemocnění

Těhotenství

Sarkoidóza

Nedávný nebo plánovaný větší operační výkon (v době do 3 měsíců zpětně a po dobu sledování)

Aktivita střevního zánětu (Crohn's Disease Activity Index > 220 nebo Partial Mayo Clinic Score > 6)

Návštěvy solária, cesty do tropů

Užívání antikonvulziv (fenytoin, karbamazepin)

Stanovení hladiny 25OHD

Sérová hladina 25OHD (25OHD₂+25OHD₃) byla určována pomocí imunochemiluminiscenční metody Abbott Architect (cut off >75 nmol/l). Vyšetření je na pracovišti klinické biochemie KNTB Zlín standardizováno v rámci programu VDSP (Vitamin D Standardization Program). Variační koeficient použité metody Abbott Architect je cca <6% pro 13,6 ng/ml a 2,2% pro 78,1 ng/ml)²³³. Stanovení jsou prováděna na jednom přístroji, bias lze v tomto případě zanedbat. Odchylka hladiny 25OHD i při nulové změně, se za použití této metodiky může pohybovat v intervalu cca ± 4 nmol/l. Za setrvalou jsme proto považovali, při párovém odběru, hladinu 25OHD ±4nmol/l oproti výchozí.

Deficit vitD byl definován hodnotou 25OHD <50 nmol/l, insuficience pásmem mezi 50 až 75 nmol/l. Hodnoty nad 75 nmol/l odpovídaly normě.

Sběr dat

Údaje byly zjišťovány od nemocných a z medicínské databáze, v rámci pravidelných ambulantních kontrol. Byly zaznamenávány a zpracovány anonymně a s písemným informovaným souhlasem pacientů. Sběr dat byl schválen lokální etickou komisí.

Zaznamenávali jsme základní demografické údaje (věk, pohlaví, hmotnost, typ onemocnění, resekce terminálního ilea). Pacienti byli dotázáni na užívání jakékoliv medikace, potravinových doplňků, multivitaminových přípravků a na jejich množství (dávka, frekvence). V případě, že vitD užívali v delším intervalu než denně (max. 1x týdně), byla dávka na denní přepočítána.

V rámci laboratorních vyšetření, odebraných při pravidelné návštěvě, bylo navíc vyšetřeno CRP, ALP, PTH, Ca, P v séru a hladina 25OHD.

Abychom minimalizovali endogenní produkci vitD, která by nežádoucím způsobem ovlivnila hladinu 25OHD, byla vyšetření prováděna v době od října do konce března (v letech 2014-2015). První vyšetření proběhlo v době od října do konce prosince a druhý odběr od ledna do března. Mezi vyšetřeními byl u každého pacienta minimálně tříměsíční odstup. Při druhé návštěvě byla upřesněna dávka užívaného vitamínu D, eventuálně jsme ji porovnali s údajem z lokální preskripční databáze, pokud byl k dispozici.

Statistická analýza

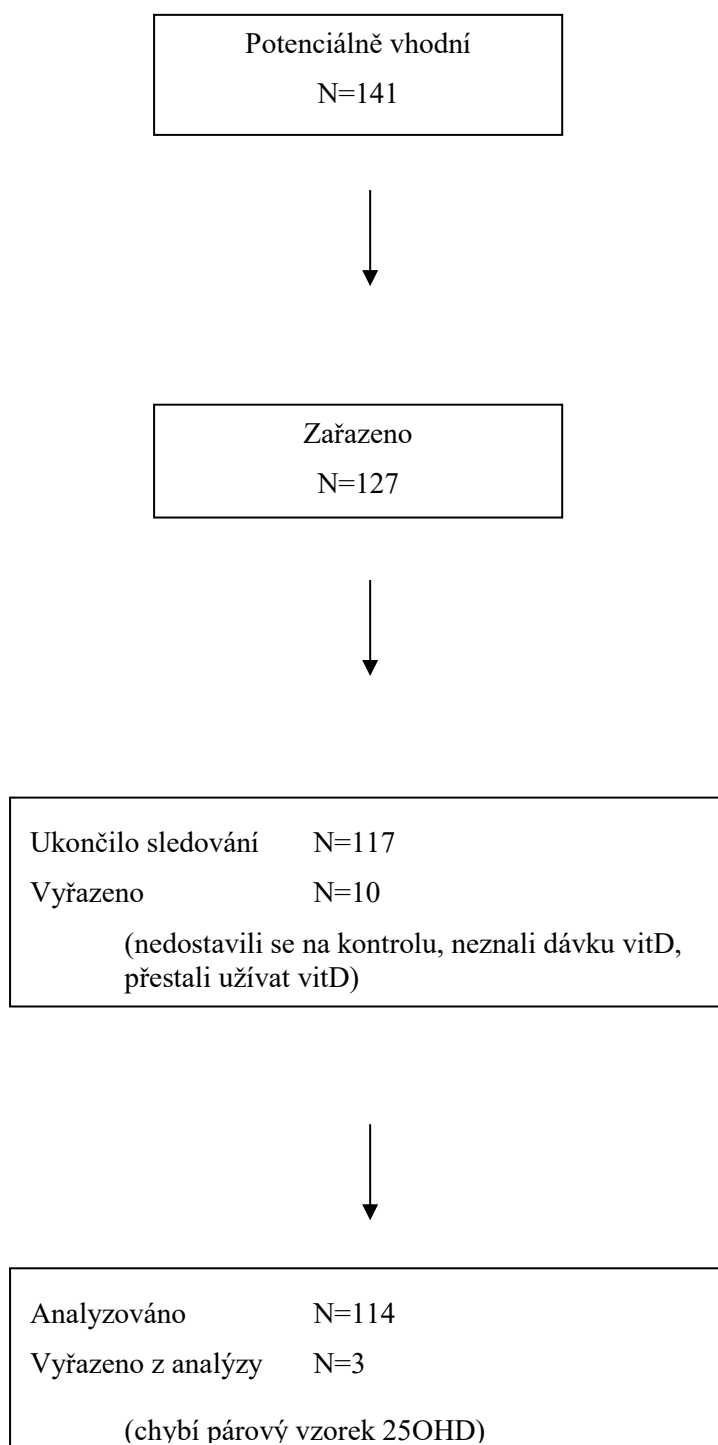
Kvantitativní proměnné byly analyzovány za pomoci Wilcoxonova testu, kategoriální proměnné pomocí Fisherova exaktního testu. Pro stanovení potřebné dávky vitD, byly za pomoci diskriminační analýzy určeny hranice dávky, které nejlépe rozdělují soubor na pacienty s poklesem více než 4 nmol/l, nárůstem nad 4 nmol/l a stabilní skupinu v intervalu ± 4 nmol/l. Statistická analýza byla provedena v Institutu biostatistiky a analýz Lékařské fakulty Masarykovy univerzity Brno.

3.3.3. Výsledky

Do sběru bylo zařazeno celkem 127 osob, analyzovány byly údaje od 114 osob (Tab. 3). Z celkového počtu bylo 64 žen a 50 mužů. Diagnózu Crohnovy choroby mělo 77 osob, ulcerózní kolitídy 37 osob. Základní charakteristika souboru je uvedena v tabulce 4.

Průměrná hladina 25OHD od podzimu do jara významně stoupla z 56,5 nmol/l na 66,0 nmol/l ($p=0,03$). Užívaná suplementační dávka vitD se pohybovala v širokém rozsahu od 114 do 5500 IU/den s průměrem 1869 IU/den. Přes poměrně vysoké průměrné hladiny 25OHD, se v jakémkoliv stupni nedostatku vitD nacházely na podzim cca tři čtvrtiny a na jaře dvě třetiny osob (Tab. 5). Pro stabilní hladinu 25OHD (± 4 nmol/l) byla potřebná dávka vitD určena na 1810 (min.- max. 1258-2943) IU/den. Při dávkování přepočítaném na hmotnost to znamená 28,2 (17,9-46,0) IU/kg/den (Graf 1, 2).

Tabulka 3. Počty zařazených a analyzovaných (STROBE)



Tabulka 4. Základní charakteristika souboru a laboratorní parametry na počátku sledování

| | Celkem (N=114) | p-hodnota |
|----------------------------------|--------------------------|------------------|
| Pohlaví – žena | 64 (56,1 %) | NS |
| – muž | 50 (43,9 %) | |
| Věk (roky) | 44,6 (15,4) | |
| Hmotnost (kg) | 77,9 (16,0) | |
| Crohnova choroba | 77 (67,5 %) | < 0,001* |
| Ulcerózní kolitída | 37 (32,5 %) | |
| Dávka vitD (IU/den) | 1869 (1192) | |
| CRP (mg/l) | 20,8 (21,8) | |
| ALP (μkat/l) | 1,17 (0,34) | |
| Ca (mmol/l) | 2,33 (0,14) | |
| P (mmol/l) | 1,08 (0,29) | |
| PTH (pmol/l) | 3,9 (1,8) | |
| Resekce terminálního ilea | 20 (17,5 %) | |

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr (směrodatná odchylka) nebo absolutní (relativní četnost)

* významné ($p < 0,05$)

CRP – C reaktivní protein, PTH – parathormon, Ca – celkový vápník, P- fosfor, ALP – alkalická fosfatáza, 25OHD – 25OHD₂₊₃ v séru)

Tabulka 5. Zastoupení osob podle stupně nedostatku vitamínu D na počátku a konci sledovaného období

| Celkem (N=114) | | | |
|-----------------------|-------------------------|-----------------------|------------------|
| 25 OHD | říjen - prosinec | leden - březen | p-hodnota |
| Norma | 26 (22,8 %) | 40 (35,1 %) | NS |
| Insuficience | 38 (33,3 %) | 47 (41,2 %) | NS |
| Deficit | 50 (43,9 %) | 27 (23,7 %) | 0,002* |
| 25OHD (nmol/l) | 56,5 ± 27,0 | 66,0 ± 23,5 | 0,03* |

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr (směrodatná odchylka) nebo absolutní (relativní četnost)

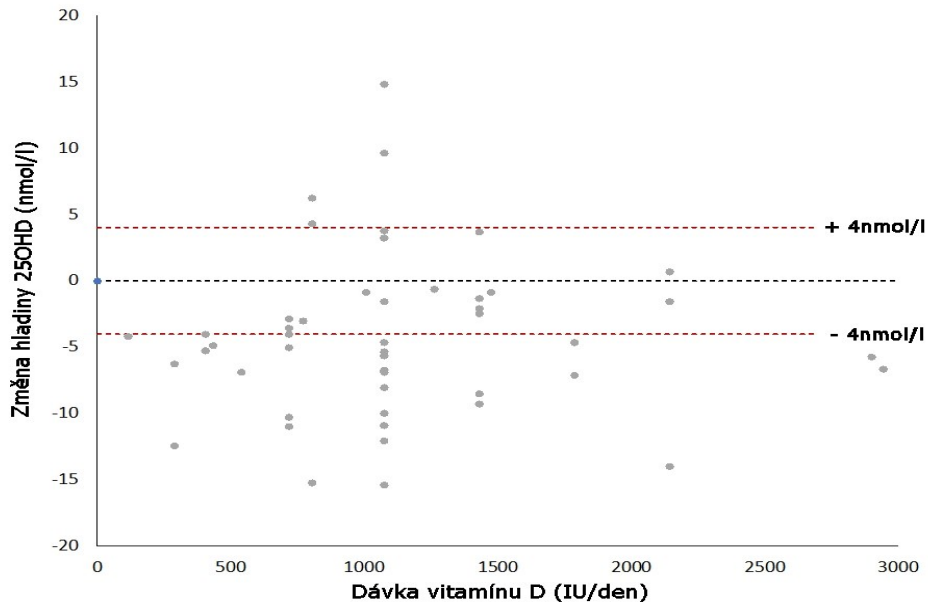
* významné ($p < 0,05$)

Norma: 25OHD >75 nmol/l, Insuficience: 25OHD ≥50 nmol/l a ≤75 nmol/l,

Deficit: 25OHD < 50 nmol/l

Dávkování IU/den

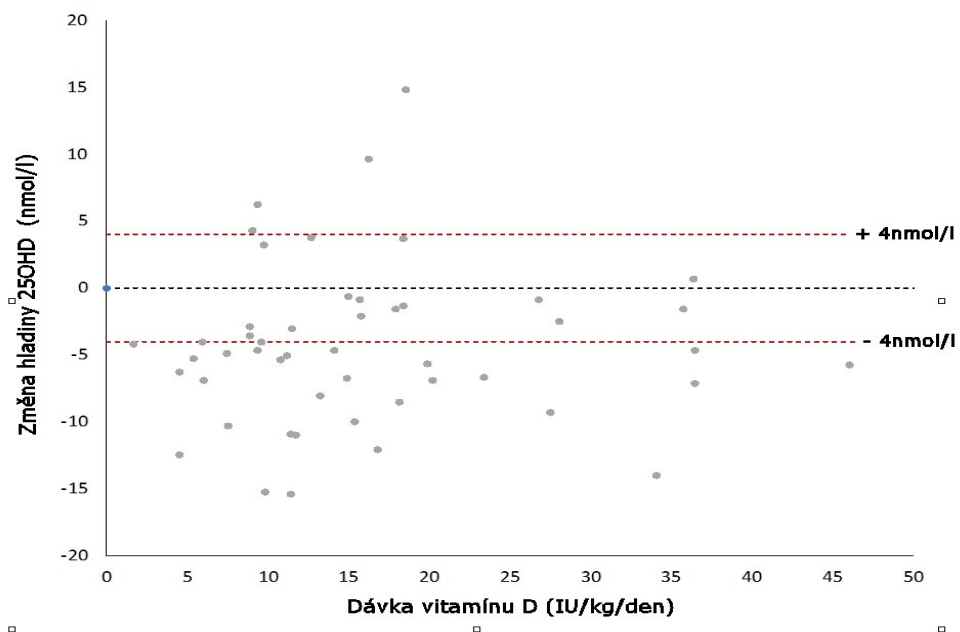
Průměrná dávka pro 25OHD ± 4 nmol/l je 1810 IU/den (1258–2943; min. - max.)



Graf 1. Závislost změny hladiny 25OHD na perorální dávce vitD (IU/den)

Dávkování IU/kg/den

Průměrná dávka pro 25OHD ± 4 nmol/l je 28,2 IU/kg/den (17,9-46,0; min. - max.)



Graf 2. Závislost změny hladiny 25OHD na perorální dávce vitD (IU/kg/den)

3.3.4. Diskuze

Literatura neobsahuje validní údaje pro pacienty s idiopatickými střevními záněty, o které by bylo možno se opřít. Jsme odkázáni na studie u osob bez idiopatických střevních zánětů, nejčastěji s osteoporózou. Jejich výsledky jsou rozporné a pro náš účel špatně přenositelné. Autoři navíc nehledají dávku potřebnou pro udržení hladiny. Primárně předpokládají, že suplementace povede k nárůstu hladin vitD. Soustřeďují se na kvantifikaci této změny. Tento vztah pak vyjadřují např. výší růstu 25OHD na užitý mikrogram vitamínu D3²³⁴, případně efektivitu dávkování hodnotí podle cílové hladiny 25OHD nebo zastoupení osob s určitou hladinou 25OHD. Jako příklad může sloužit roční sledování, ve kterém byly použity dávky od 400 do 4800 IU/den. Křivka výsledné hladiny 25OHD měla tvar hyperboly. Pro dosažení koncentrace 50 nmol/l byla potřebná dávka cca 600 IU/den. Pro hladinu 75 nmol/l to je už cca dvojnásobek (1600 IU/den). Při dávce nad 3200 IU/den se hladina blížila maximu a dále významně nerostla¹⁹⁸. K podobnému závěru došla práce u zdravých sportovců. Horní hranicí příjmu, od které již hladina nestoupala, bylo cca 3000 IU/den²³⁵. Zdá se tedy, že 3000 IU/den by mohla být stropová dávka, nad kterou již nemá smysl suplementaci dále zvyšovat.

Při odhadu minimální dávky nám může pomoci metaanalýza 74 randomizovaných prací, sledující vztah mezi dávkou vitD a hladinou 25OHD²³⁶. Většina prací se týkala starších osob. V analýze byla patrná závislost na dávce, začínající od cca 400 IU/den. Na každých podaných 100 IU vitD3/den hladina stoupla o cca 1-2 nmol/l. Obdobné výsledky zjistil i Gallagher a spol.¹⁹⁸. Už 400 IU/den bylo schopno hladinu 25OHD zvýšit (v přepočtu o 3,2 nmol/l na 1 ug vitD). Nárůst hladiny byl vyšší, než je tomu v jiných studiích. Samotní autoři tuto skutečnost vysvětlují nižší vstupní hladinou 25OHD. V praxi by to znamenalo, že spodní hranice dávky potřebné k udržení hladiny, by se mohla pohybovat i kolem 400 IU/den, v závislosti na iniciální hladině. Je to množství poměrně nízké a celkový rozptyl možného intervalu je velký (400–3000 IU/den).

Jak v případě této studie, tak metaanalýz a systematických review, jde o sekundární zpracování variabilně heterogenních vstupních dat. Dietní přívod vitD je mapován rozličně. V naší populaci zásadní vliv nemá. Potvrzuje to Gallagher a spol.¹⁹⁸. V jejich souboru se průměrný přívod vitD pohyboval kolem 114 IU/den. Pokud byla v analýze dávka vitD zaměněna za celkový přívod, na výsledek to významný vliv nemělo. Analyzované práce měly různě dlouhé trvání, s dobami od jednoho do šedesáti měsíců. Zahrnovaly jak osoby dlouhodobě hospitalizované, méně mobilní, tak jedince aktivní, pohybující se venku²³⁴.

Za této situace není zohledněn významný vliv slunečního záření. V případě sledování probíhajícího po celý rok, zvl. tam, kde byli pacienti zařazováni v průběhu roku, to dopad na hladiny jistě a nepředvídatelně, mít bude.

Pro nás mají význam práce prováděné jen v zimních měsících. Je třeba zmínit studii Heaney a spol., kteří sledovali v průběhu zimy (20 týdnů) hladiny 25OHD po podání 0, 25, 125, a 250 ug vitD3. Dávky 0 a 25 ug neměly žádný vliv. K vzestupu 25OHD došlo až při 125 ug (5000 IU/den). I zde nebyla dynamika 25OHD lineární. Ustálené hladiny dosáhla kolem třetího měsíce ¹⁹³. Na základě těchto prací lze předpokládat, že dávka potřebná k udržení hladiny bude vyšší než 1000 IU/den. A patrně nižší než 3000 IU/den. Námi zjištěná hodnota cca 1800 (1258 – 2943) IU/den tedy vyhlíží reálně.

Řada prací si všímá faktu, že závislost mezi dávkou a změnou hladiny není lineární. Významná korelace je pozorována s tělesnou hmotností. V systematické analýze 94 studií autoři popisují logaritmickou závislost mezi dávkou na kg/den a vzestupem plazmatického 25OHD. V modelu, tato proměnná vysvětluje variabilitu hladiny 25OHD až z jedné třetiny ²⁰⁹. Souvislost je popisována s BMI ¹⁹², případně s oběma proměnnými. Rozdíl dosažených hladin mezi normálními a obézními osobami dosáhl až 17 nmol/l ²⁰⁷. Závislost na hmotnosti není jednohlasně potvrzena ¹⁹⁸. Přesto jsme se pokusili o odhad potřebné dávky přepočítané na hmotnost a den a ověření vhodnosti tohoto dávkovacího režimu.

3.3.5. Závěr

Předpokládaná perorální dávka vitamínu D3, při které nedojde k poklesu hladiny 25OHD během zimního období, je 1800 (1258-2943) IU/den, případně 28 (17,9-46,0) IU/kg/den.

3.4. Část II. Ověření velikosti potřebné dávky vitamínu D a identifikace faktorů, které ji ovlivňují

V úvodní části byla odhadnuta předpokládaná dávka vitD. Odhad má široké meze tolerance (1300 - 3000 IU/den), nebere v úvahu možné interferující vlivy. Validitu navrženého množství je nutno ověřit. Na základě literárních referencí se nabízí otázka. Nebude dávkování respektující tělesnou hmotnost vhodnější, než je tomu u fixní denní dávky?

3.4.1. Cíle práce

Primární cíl

1. Jsou dávky 2000IU/den a 28 IU/kg/den dostačující k udržení setrvalé hladiny 25OHD v zimním období?

Hodnocený parametr: Hladina 25OHD na počátku a konci suplementace, u skupiny s fixní dávkou vitD a dávkou na kg/den.

Sekundární cíle

1. Je dávkování 28 IU/kg účinnější pro udržení setrvalé hladiny 25OHD, než fixní dávka 2000IU/den ve sledovaném období?

Hodnocený parametr: počty osob se změnou hladiny 25OHD, deficitem, insuficiencí a normální hladinou 25OHD

2. Určení faktorů spojených s vyšší/nížší změnou hladiny 25OHD

3. Určení dávky potřebné k udržení stálé hladiny 25OHD v zimním období

3.4.2. *Materiál a metodika*

Soubor

Prospektivní, nezaslepená, multicentrická, intervenční, randomizovaná studie s aktivním komparátorem.

Zařazeni byli pacienti s Crohnovou chorobou, ulcerózní kolitidou, ve věku 18 let až 70 let. Účastníci byli sledováni v gastroenterologické ambulanci Interního oddělení Krajské nemocnice T. Bati a.s. Zlín a II. Interní kliniky, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha. Sběr dat probíhal v době od října 2016 do konce března 2017. Údaje byly zaznamenávány anonymně. Všichni účastníci podepsali informovaný souhlas s účastí. Studie byla schválena etickou komisí Krajské nemocnice T. Bati Zlín (12.1.2016) a je zaregistrována na <https://clinicaltrials.gov> (NCT02958501).

Vylučující kritéria:

Funkčně významné jaterní, renální onemocnění (renální insuficience s glomerulární filtrací pod 1ml/s)

Jiné závažné onemocnění (srdeční, plicní, apod.)

Cholestáza

Malabsorpční stavy (celiakie, chronická pankreatitis)

Osoby po resekčních, zkratových nebo bariatrických výkonech na trávicím traktu (mimo ileocékální resekce)

Aktivita střevního zánětu (Crohn's Disease Activity Index > 220 nebo Partial Mayo Clinic Score > 6)

Léčba kalcitriolem, analogy vitamínu D nebo jiným typem vitamínu D, než je cholekalCIFEROL

Užívání multivitaminových přípravků v době kratší než 8 týdnů před zařazením

Hyperparatyreóza (PTH nad 8 pmol/l)

Hyperkalcémie (celkový Ca nad 2,65 mmol/l)

Diagnóza maligního onemocnění

Těhotenství

Sarkoidóza

Nedávný nebo plánovaný větší operační výkon (v době do 3 měsíců zpětně a po dobu sledování)

Užívání antikonvulziv (fenytoin, karbamazepin)

Osoby neschopné dostatečné spolupráce nebo udání dávky užívaného vitamínu D

Záněty střeva nejasné etiologie a typu

Návštěvy solária, pobyt v tropech v době sledování

Hladina 25OHD3 nad 120 nmol/l.

Diagnostická kritéria pro Crohnovu chorobu a ulcerózní kolitidu byla shodná s částí I. Pro určení distribuce postižení byla u Crohnovy choroby použita Montrealská klasifikace ²³⁷, ulcerózní kolitida byla klasifikována dle doporučení ECCO ²³⁸, na proktitidu, levostranný a extenzivní tvar.

Aktivita střevního zánětu byla kvantifikována jako aktivní/neaktivní. Za aktivní jsme považovali ulcerózní kolitidu s pMCS skóre (partial Mayo score) ≥ 3 nebo endoskopickým průkazem aktivity (endoskopické Mayo skóre ≥ 1) ²³⁹. Crohnova choroba byla označena za aktivní v případě CDAI indexu ≥ 150 nebo zvýšení hladiny kalprotektinu nad 200 ug/g (v intervalu ± 1 měsíc od kontroly) ²⁴⁰, případně průkazu aktivity zánětu endoskopicky nebo zobrazovacími metodami (CT, magnetická rezonance).

Dávkování vitamínu D

Pro suplementaci jsme zvolili perorálně podávaný cholekalciferol (Vigantol. por. gtt. sol. Merck KGaA, Darmstadt, Německo). 1 kapka Vigantolu gtt obsahuje 500 IU vitD3. Podávaný počet jednotek musí být dělitelný pěti sty. Odhadnutou dávku 1800 IU/den jsme proto zaokrouhlili na 2000 IU/den. Pro dávku přepočítanou na hmotnost, byl použit převod dle vzorce: $28 \times \text{hmotnost (kg)}$, opět zaokrouhlený na vyšší, pěti sty dělitelné číslo. Jako kompromis mezi adherencí a dopadem na výslednou hladinu 25OHD, byl zvolen dávkovací interval 2x týdně ¹⁸⁹. Pro 2000IU/den to činí 2x týdně 14 kapek. Za adherentní jsme považovali osoby, které dodržely dávkování v rozmezí $\pm 10\%$ doporučené dávky.

Stanovení hladiny 25OHD

Hladiny sérového 25OHD (25OHD₂+25OHD₃) byly stanovovány na oddělení klinické biochemie Krajské nemocnice T. Bati Zlín pomocí imunochemiluminiscenční metody Abbott Architect. Ústav laboratorní diagnostiky Fakultní nemocnice Královské Vinohrady používá assay Advia Centaur XP, Siemens Healthcare Diagnostics. Jde o odlišné metodiky. Obě pracoviště jsou standardizována v rámci programu VDSP (Vitamin D Standardization Program). Výsledky mezilaboratorního porovnávání ukazují přijatelnou shodu výsledků²⁴¹. Získaná data lze použít pro společnou analýzu. Referenční hladiny pro normu, deficit a insuficienci, jsou u obou metod shodné s první částí.

Plán vyšetření

Délka intervence

VitD byl podáván po dobu 12-16 týdnů, v době od října do března. Odstup mezi kontrolami (4. měsíc) byl zvolen tak, aby byl delší než 4 poločasy 25OHD a zároveň umožnil zařazení dostatečného počtu subjektů během podzimu a počátku zimy.

Vstupní vyšetření (týden 1)

Při této návštěvě byly zaznamenány základní demografické údaje, tj. hmotnost, výška, typ střevního zánětu a jeho rozsah, délka trvání, údaj o případné ileocékální resekcii, léčbě perorálními kortikosteroidy, známé osteoporóze, osteopénii. Pacienti byli dotázáni na užívání jakékoliv medikace, potravinových doplňků a multivitaminových přípravků, jejich množství (dávka, frekvence).

V rámci pravidelných laboratorních vyšetření byla dále vyšetřena hladina sérového Ca (celkový, ionizovaný), P, PTH, CRP, albumin, ALP, 25OHD a vypočítána clearance kreatininu. Pacient byl dle on-line dostupné randomizační tabulky, zařazen do některé z intervenčních skupin. Byl poučen o dávce a intervalu užívání vitamínu D.

Kontrolní vyšetření (týden 13-16)

Byla změřena hmotnost, stanovena aktivita zánětu, vyšetřena hladina Ca (celkový, ionizovaný), P, PTH, CRP, albumin, ALP, 25OHD. Pacienti byli dotázáni na dávku a frekvenci užívání vitD.

Stanovení velikosti souboru

Rozvaha vycházela z dat získaných v první části. Hodnoceným parametrem je hladina 25OHD. Odchylna stanovení metodiky se i při nulové změně může pohybovat v intervalu ± 4 nmol/l. Pro tento rozdíl je, při superiority designu (hranice superiority 8), pro dosažení síly testu 0,8 a alfa chybě 0,05, nutné zařadit minimálně 73 subjektů. Předpokládali jsme 30 % vyřazených z analýzy (pro non-adherenci, apod.). Celkový potřebný počet subjektů v jedné intervenční větvi činí 92 osob. Tedy celkem 184 analyzovaných osob.

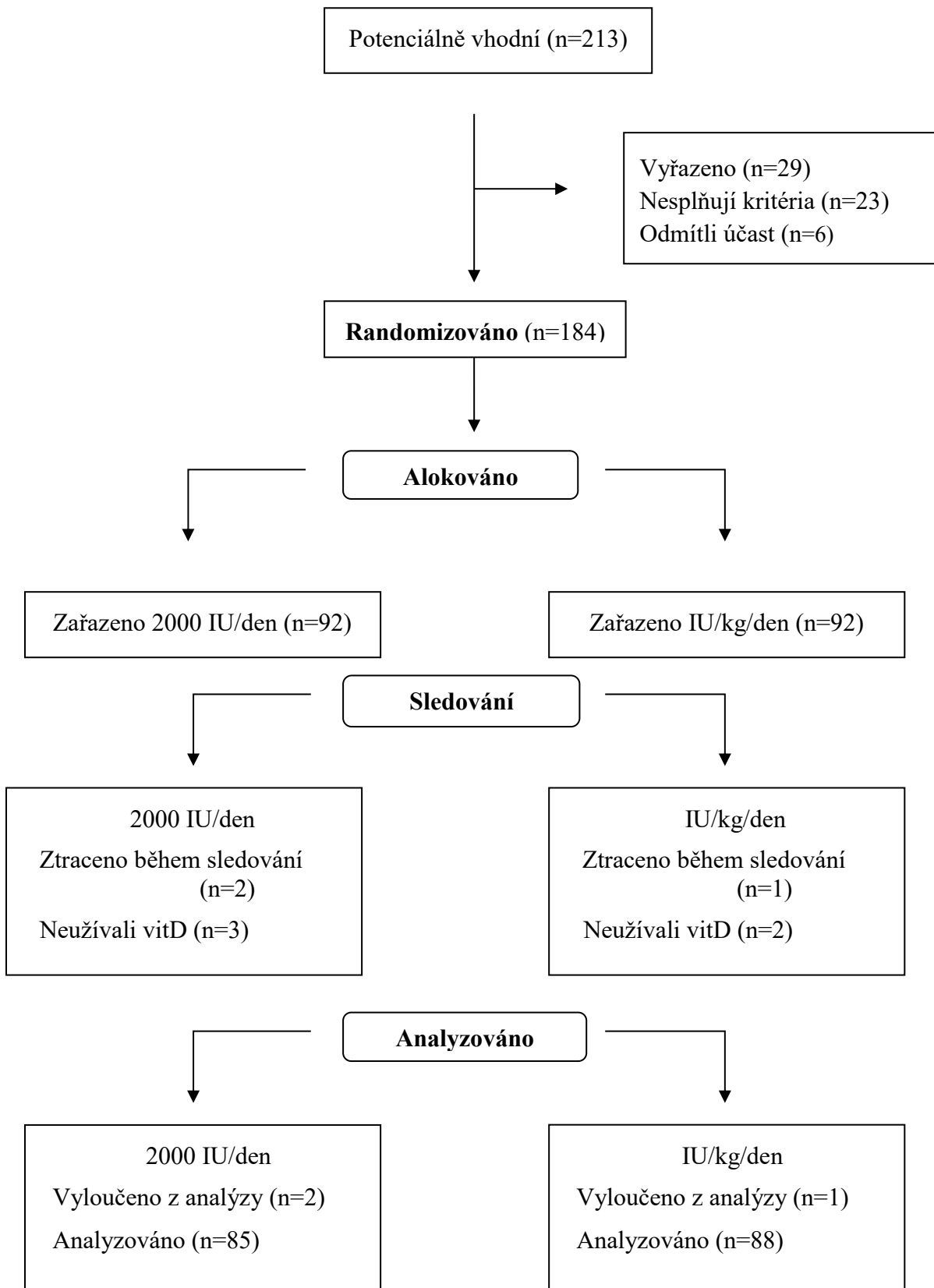
Randomizace

Pro zajištění shodnosti obou skupin v parametrech, které mohou výslednou změnu ovlivňovat (hmotnost, iniciální hladina 25OHD), byla použita metoda stratifikované permutační blokované randomizace (velikost bloku 8). Jako stratum byl zvolen medián iniciální hladiny 25OHD (55 nmol/l) a hmotnosti (75 kg). Tyto hodnoty vycházely z dat získaných v první části. Každá ze 4 skupin měla 46 subjektů. Vlastní randomizaci prováděl při návštěvě pacienta vyšetřující lékař, za pomoci on-line dostupné randomizační tabulky, předem vygenerované programem Clinstat (<http://www-users.york.ac.uk/~mb55/soft/soft.htm>).

Statistická analýza

Kvantitativní proměnné byly analyzovány za pomoci párového T- testu (Wilcoxonova testu) nebo nepárového T testu (Mann Whitney testu), dle normality dat. Kategoriální proměnné byly analyzovány pomocí Fisherova exaktního testu. Faktory spojené s nižší/vyšší účinností léčiva (resp. faktory mající vliv na měsíční změnu hladiny vitamínu D) byly identifikovány pomocí jednorozměrného a vícerozměrného lineárního regresního modelu. Na základě analýzy reziduí použitého modelu byli z analýzy dodatečně vyřazeni dva pacienti. Při konstrukci zjednodušeného predikčního modelu změny hladiny, byla použita hmotnost pacienta, počáteční hladina 25OHD a denní dávka vitD. Statistická analýza byla provedena v Institutu biostatistiky a analýz Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno.

Tabulka 6. Průběh zařazování nemocných (dle CONSORT)



3.4.3. Výsledky

Demografické údaje

Do hodnocení bylo zařazeno celkem 184 osob, analyzováno bylo 173 osob (Tab. 6). Průměrný věk činil 40,8 roku, ženy tvořily 41,6 % (72), muži 58,4 % (101) celkového počtu. Dvě třetiny osob (114) měly Crohnovu chorobu, 59 osob ulcerózní kolitidu. Ve skupině suplementovaných podle hmotnosti, bylo menší zastoupení žen (33,0 % vs. 50,6 %, $p=0,021$), v ostatních sledovaných parametrech (věk, hmotnost, BMI, trvání choroby, typ zánětu, resekce terminálního ilea, aktivita) se obě skupiny od sebe nelišily. Demografické údaje jsou uvedeny v tabulce 7.

Biochemické parametry

Průměrná hladina 25OHD na počátku sledování činila $62,7 \pm 25,5$ nmol/l pro celou skupinu. Mezi skupinami s různým suplementačním režimem nebylo rozdílu jak v iniciální hladině 25OHD, tak dalších parametrech (CRP, PTH, Ca, P, ALP, albumin), jak ukazuje tabulka 8 a tabulka 9.

Na konci sledování došlo ke vzestupu aktivity ALP (1,21 vs. 1,26, $p=0,007$), která zůstává v normálním rozmezí. Žádný z dalších sledovaných biochemických parametrů, včetně kalcémie a hladiny fosforu, se nezměnil (Tab. 9).

Tabulka 7. Základní charakteristika analyzovaného souboru

| | | Celkem (N=173) | Dávka 2000 IU/den (N=85) | Dávka 28 IU/kg/den (N=88) |
|--|--------------------|--------------------------|--|---|
| Pohlaví – žena | | 72 (41,6 %) | 43 (50,6 %) | 29 (33,0 %) |
| – muž | | 101 (58,4 %) | 42 (49,4 %) | 59 (67,0 %) |
| Věk (roky) | | 40,8 (13,2) | 42,1 (13,8) | 39,6 (12,5) |
| Hmotnost (kg) | | 76,3 (17,6) | 76,6 (17,8) | 75,9 (17,5) |
| Výška (cm) | | 172,5 (9,6) | 172,4 (10,0) | 172,6 (9,3) |
| BMI (kg/m²) | | 25,5 (5,1) | 25,7 (5,4) | 25,3 (4,8) |
| Trvání choroby (roky) | | 8,3 (6,4) | 7,6 (6,1) | 9,1 (6,7) |
| Typ choroby | Crohnova choroba | 114 (65,9 %) | 53 (62,4 %) | 61 (69,3 %) |
| | Ulcerózní kolitída | 59 (34,1 %) | 32 (37,6 %) | 27 (30,7 %) |
| Forma Crohnovy choroby | L1 | 46 (40,4 %) | 23 (43,4 %) | 23 (37,7 %) |
| | L2 | 18 (15,8 %) | 10 (18,9 %) | 8 (13,1 %) |
| | L3 | 47 (41,2 %) | 17 (32,0 %) | 30 (49,2 %) |
| | L4 | 3 (2,6 %) | 3 (5,7 %) | 0 (0,0 %) |
| Forma ulcerózní kolitídy | LT | 17 (28,8 %) | 9 (28,1 %) | 8 (29,6 %) |
| | PK | 41 (69,5 %) | 22 (68,8 %) | 19 (70,4 %) |
| | R | 1 (1,7 %) | 1 (3,1 %) | 0 (0,0 %) |
| Osteopenie/poróza | | 29 (16,8 %) | 16 (18,8 %) | 13 (14,8 %) |
| Resekce terminálního ilea | | 26 (15,0 %) | 15 (17,6 %) | 11 (12,5 %) |
| Aktivní zánět | | 47 (27,2 %) | 24 (28,2 %) | 23 (26,1 %) |
| Prednison | | 14 (8,1 %) | 9 (10,6 %) | 5 (5,7 %) |

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr (směrodatná odchylka) nebo absolutní (relativní četnost)

BMI body mass index, L1- postižení terminálního ilea, L2 - postižení tlustého střeva, L3 - ileokolické postižení, L4 - postižení tenkého střeva a horní části trávicího traktu, LT - levostranný tvar, PK - pankolitída, R – proktitída

Tabulka 8. Základní laboratorní parametry na počátku sledování u jednotlivých skupin

| | Celkem (N=173) | Dávka 2000 IU/den (N=85) | Dávka 28 IU/kg/den (N=88) |
|----------------------|--------------------------|--|---|
| CRP (mmol/l) | 5,4 (6,6) | 5,9 (6,5) | 4,9 (6,8) |
| PTH (pmol/l) | 3,7 (1,8) | 3,6 (1,6) | 3,8 (2,0) |
| Ca (mmol/l) | 2,36 (0,11) | 2,37 (0,1) | 2,35 (0,1) |
| P (mmol/l) | 1,05 (0,21) | 1,06 (0,2) | 1,04 (0,1) |
| ALP (ukat/l) | 1,2 (0,3) | 1,2 (0,3) | 1,2 (0,3) |
| Albumin (g/l) | 44,3 (3,7) | 44,1 (3,7) | 44,4 (3,6) |

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr (směrodatná odchylka)

CRP – C reaktivní protein, PTH – parathormon, Ca – celkový vápník, P- fosfor, ALP – alkalická fosfatáza

Tabulka 9. Srovnání hladin vybraných proměnných na počátku a konci sledování pro celý soubor

| | N | Hladina počátek | Hladina konec | p-hodnota |
|---------------|-----|-----------------|---------------|---------------|
| Ca (mmol/l) | 173 | 2,36 (0,11) | 2,38 (0,26) | NS |
| P (mmol/l) | 173 | 1,05 (0,21) | 1,07 (0,24) | NS |
| PTH (pmol/l) | 173 | 3,7 (1,8) | 3,9 (1,7) | NS |
| ALP (ukat/l) | 173 | 1,21 (0,31) | 1,26 (0,32) | 0,007* |
| CRP (mmol/l) | 173 | 5,7 (6,6) | 6,2 (7,5) | NS |
| Albumin (g/l) | 173 | 44,3 (3,7) | 44,1 (3,4) | NS |

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr (směrodatná odchylka)

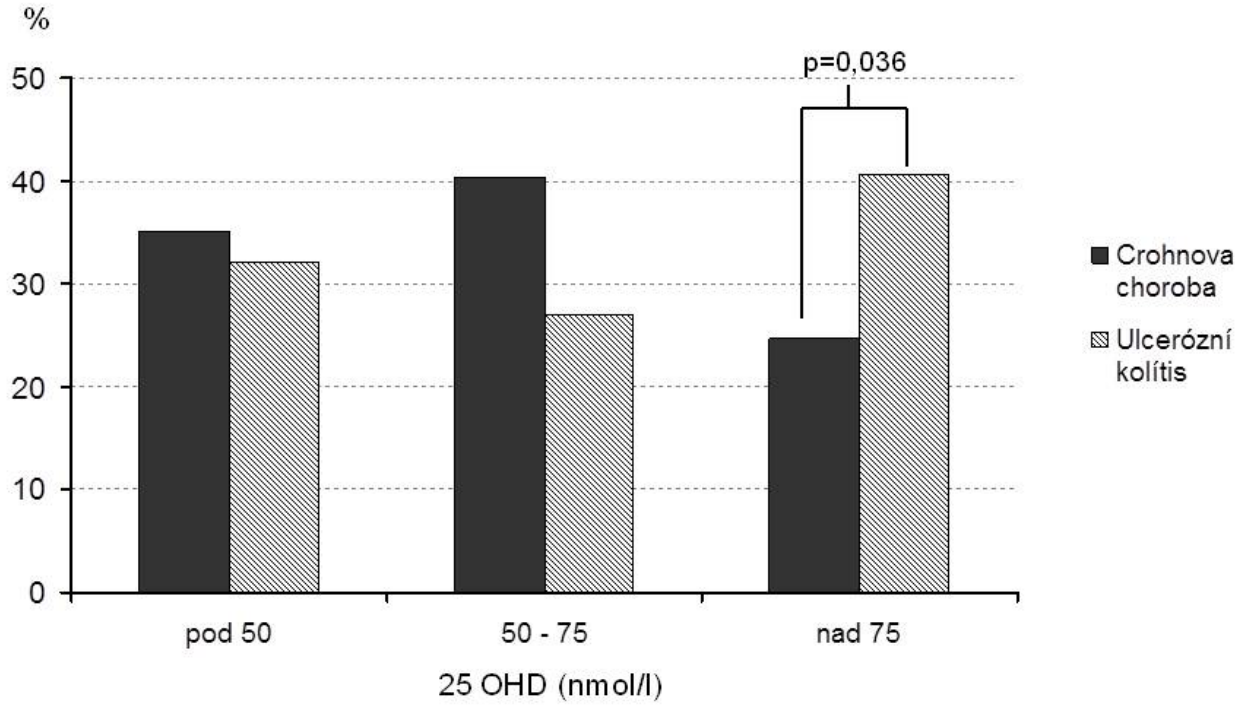
* významné ($p < 0.05$)

CRP – C reaktivní protein, PTH – parathormon, Ca – celkový vápník, P- fosfor, ALP – alkalická fosfatáza

U nemocných s Crohnovou chorobou, bylo na podzim menší zastoupení osob s normální hladinou 25OHD, oproti skupině s ulcerózní kolitidou (26,6 % vs. 40,7 %, $p = 0,036$). Jinak se v četnosti různých stupňů nedostatku vitD skupiny od sebe nelišily (Graf 3).

Průměrná užívaná dávka vitD byla ve skupině SK_2000 (2000IU/den) 1936 ± 499 IU/den a ve skupině SK_IU/kg (dávka dle hmotnosti) 1854 ± 681 IU/den, což není rozdílné. Ve skupině SK_2000 dodrželo doporučené dávkování 57 (67,1 %) osob. Ve skupině SK_IU/kg bylo adherentních 52 osob (59,1 %). Průměrné užívané dávky vitD byly i v těchto podskupinách vzájemně srovnatelné (2001 ± 63 IU/den vs. 2042 ± 505 IU/den). Nonadherentní osoby užívaly nižší dávku vitD jen ve skupině SK_IU/kg ($19,6 \pm 8,8$ vs. $27,5 \pm 2,3$ IU/kg/den, $p < 0.001$). SK_2000 (1852 ± 764 vs. 1997 ± 41 IU/den, $p = \text{NS}$).

Rozdělení podle stupňů nedostatku vitamínu D
(Crohnova choroba vs. ulcerózní kolitída, podzim)



Graf 3. Zastoupení osob s různým stupněm nedostatku vitD
významné ($p < 0.05$)

Primární cíl

Jsou dávky 2000IU/den a 28 IU/kg/den dostačující k udržení hladiny 25OHD v zimním období?

Ve skupině SK_2000 hladina 25OHD stoupla o $9,5 \pm 26,8$ nmol/l ($p=0,003$), ve skupině SK_IU/kg nebyla změna významná ($2,2 \pm 26,5$ nmol/l).

Pokud byla hodnocena změna hladiny 25OHD jen u adherentních osob, pak v obou skupinách hladina významně stoupla (SK_2000 $9,7 \pm 26,9$ nmol/l, $p=0,012$, SK_IU/kg $9,8 \pm 26,7$ nmol/l, $p=0,011$) (Tab. 10).

Oba dávkovací režimy dostačují, aby hladina 25OHD během zimního období neklesla.

Tabulka 10. Hladiny 25OHD na začátku a konci sledování

| | N | Hladina 25OHD - začátek (nmol/l) | Hladina 25OHD - kontrola (nmol/l) | Změna hladiny 25OHD (nmol/l) | p- hodnota |
|--------------------------------------|-----|---|--|------------------------------------|---------------|
| Celkem | 173 | 62,7 (25,5) | 68,5 (25,2) | 5,8 (27,2) | 0,008* |
| 2000 IU/den celá skupina | 85 | 61,2 (26,0) | 70,7 (24,4) | 9,5 (26,8) | 0,003* |
| 28 IU/kg/den celá skupina | 88 | 62,9 (24,9) | 66,2 (26,5) | 2,2 (26,5) | 0,25 |
| 2000 IU/den adherentní | 57 | 61,3 (27,5) | 71,1 (25,4) | 9,7 (26,9) | 0,012* |
| 28 IU/kg/den adherentní | 52 | 62,0 (26,2) | 71,7 (26,5) | 9,8 (26,7) | 0,011* |

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr (směrodatná odchylka)

* významné ($p < 0.05$)

Sekundární cíle

1. Je dávkování 28 IU/kg je účinnější v udržení setrvalé hladiny vitamínu D, než fixní dávka 2000 IU/den?

Počet osob, u nichž se hladina 25OHD mezi kontrolami nezměnila, byl obdobný v obou skupinách. Srovnatelné bylo i zastoupení osob, u nichž došlo k poklesu nebo vzestupu hladiny 25OHD. S ohledem k nonadherenci, byl tento parametr hodnocen v podskupině osob, které dodržely doporučené dávkování z obou ramen studie. Mezi skupinami také nebylo rozdílu (SK_2000 12,8 %, SK_IU/kg 16,8 %).

Obě skupiny jsou srovnatelné v dávce vitD i ve hmotnosti. Výhoda dávkování na kg se může projevit u osob s hmotností odlišnou od mediánu skupiny. Podané dávky v přepočtu na den, se mezi skupinami ve stejné váhové kategorii významně lišily. Režim IU/kg štíhlé poddávkoval a osoby s vyšší hmotností předávkoval oproti konstantní dávce na den, jak je uvedeno v tabulce 11.

Tabulka 11. Dávky vitamínu D ve skupinách, rozdělené podle hmotnosti

| <i>Režim a hmotnost</i> | <i>N</i> | Dávka cholekalci-ferolu (IU) | p-hodnota |
|------------------------------|----------|-------------------------------------|-------------------|
| 2000 IU/den pod 75kg | 31 | 2009 (36) | <0,001* |
| 28 IU/kg/den pod 75kg | 27 | 1661 (236) | |
| 2000 IU/den nad 75kg | 25 | 1992 (81) | <0,001* |
| 28 IU/kg/den nad 75kg | 25 | 2550 (415) | |

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr (směrodatná odchylka)

* významné ($p < 0.05$)

Byly proto vzájemně porovnány adherentní podskupiny s hmotností nad a pod mediánem skupiny (75 kg) a různým dávkovacím režimem. Ani zde nebylo rozdílu v četnosti osob s poklesem či vzestupem nebo bez změny hladiny 25OHD (Tab. 12).

Tabulka 12. Počty adherentních osob u nichž nedošlo ke změně hladiny o více než 4 nmol/l

| Dávkovací režim | Hmotnost nad 75kg | | | Hmotnost pod 75kg | | |
|---------------------|-------------------|----------|-----------|-------------------|----------|-----------|
| | N | % | p-hodnota | N | (%) | p-hodnota |
| 2000 IU/den | 25 | 8 (32,0) | NS | 31 | 3 (9,7) | NS |
| 28 IU/kg/den | 25 | 3 (12,0) | | 27 | 3 (11,1) | |

Hodnoty jsou vedeny jako absolutní (relativní) četnost

* významné ($p < 0.05$)

V průběhu sledovaného období došlo ke změnám počtu osob s normální hladinou a různými stupni nedostatku vitD v obou hmotnostních kategoriích. Žádná z nich však nebyla významná.

Neprokázali jsme, že by dávkování vitD podle tělesné hmotnosti (28IU/kg/den) bylo účinnější než fixní dávka (2000 IU/vitD za den).

2. Určení faktorů spojených s vyšší /nižší účinností suplementace

Za pomoci regresní analýzy byly hodnoceny asociace mezi absolutní změnou hladiny 25OHD ve sledovaném období a vybranými proměnnými. Bylo vytvořeno více modelů, z nichž byl vybrán finální, nejlépe vysvětlující vzájemné vztahy ($r^2 = 0,49$) (Tab.13).

Tabulka 13. Multifaktoriální analýza vlivu různých faktorů na změnu hladiny 25OHD

| Změna hladiny 25OHD | Vícerozměrný model | | |
|----------------------------------|-----------------------------|-------------------|-------|
| | β (95 % CI) | p – hodnota | r^2 |
| Typ zánětu | | | |
| Crohnova choroba | <i>Referenční kategorie</i> | | |
| Ulcerózní kolitída | - | - | |
| Lokalizace zánětu | | | |
| Crohnova choroba - L1 | <i>Referenční kategorie</i> | | |
| Crohnova choroba - L2 | -1,81 (-4,97; 1,34) | 0,260 | |
| Crohnova choroba - L3 | -0,90 (-3,13; 1,32) | 0,425 | |
| Crohnova choroba – L4 | 3,11 (-2,33; 8,55) | 0,263 | |
| Ulcerózní kolitída | 0,21 (-2,04; 2,45) | 0,857 | |
| Pohlaví (žena) | -1,19 (-3,06; 0,68) | 0,213 | 0,487 |
| Věk | 0,12 (0,05; 0,19) | 0,001* | |
| Hmotnost | -0,07 (-0,12; -0,02) | 0,011* | |
| Doba trvání nemoci | -0,21 (-0,34; -0,07) | 0,003* | |
| Hladina 25OHD | -0,15 (-0,19; -0,12) | <0,001* | |
| Dávka cholekalciferolu | 0,26 (0,11; 0,40) | <0,001* | |
| Osteopenie/osteoporóza | -0,97 (-3,21; 1,28) | 0,398 | |
| Resekce terminálního ilea | -1,77 (-4,25; 0,70) | 0,160 | |
| Prednison | -0,45 (-3,40; 2,50) | 0,765 | |
| Aktivní zánět | -0,99 (-2,90; 0,92) | 0,310 | |

β – standardizovaný regresní koeficient

* významné ($p < 0.05$)

L1- postižení terminálního ilea, L2 - postižení tlustého střeva, L3 - ileokolické postižení, L4 - postižení tenkého střeva a horní části trávicího traktu, LT - levostranný tvar, PK - pankolitída, R – proktitída

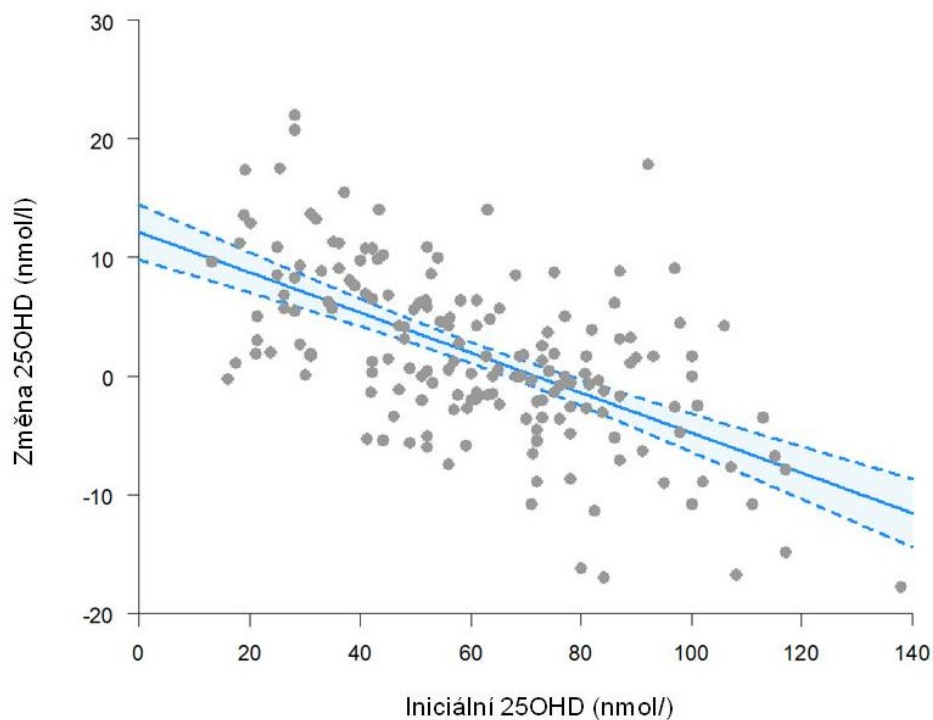
Ve vícerozměrné analýze jsme nenalezli asociaci mezi typem idiopatického střevního zánětu, ať Crohnovy choroby či ulcerózní kolitidy a změnou hladiny 25OHD. Roli nehrála ani lokalizace zánětu nebo údaj o provedené ileocékální resekci. Nebyla prokázána souvislost s aktivitou zánětu, užíváním kortikosteroidů (Prednison, průměrná dávka $7,9 \pm 5,4$ mg/den) či pohlavím. Významná byla kladná asociace s věkem nemocných ($p=0,001$) a inverzní vztah k délce trvání choroby ($p=0,003$). Síla těchto vztahů je nízká, koeficient determinace nepřevyšuje 3 %.

Vyšší váhu mají jiné faktory. Pozitivní je vztah k podané dávce vitD ($p < 0,001$, $r^2 = 0,078$), inverzní je s hmotností ($p=0,011$, $r^2 = 0,05$) a iniciální hladinou 25OHD ($p < 0,001$) (Graf 4). Její váha je v modelu ze všech sledovaných parametrů nejvyšší ($r^2=0,35$).

Největší vzestup hladiny 25OHD lze očekávat u osob s nízkou úvodní hladinou 25OHD. Nárůst hladiny je dále přímo úměrný podané dávce vitD a nepřímo tělesné hmotnosti. Menší změnu hladiny lze očekávat u osob s vyšší hmotností.

Závislost změny hladiny 25OHD na vstupní hladině 25OHD

($\beta = -0,15$; $-0,19$ - $0,12$ 95 % CI, $r^2 = 0,35$)



Graf 4. Závislost změny hladiny 25OHD na úvodní hladině 25OHD

3. Určení dávky potřebné k udržení stálé hladiny 25OHD

Pro vytvoření regresní rovnice byly použity proměnné, které se v modelu podílí na celkové varianci z více než 5 %. Jde o hmotnost/BMI, denní dávku vitD a iniciální hladinu 25OHD. Ostatní, jako nevýznamné, byly vynechány.

Výsledná rovnice pak má tvar ($r^2 = 0,401$)

$$\text{Denní dávka vitamínu } D = -100/0,28 * (8,96 - \text{změna hladiny } 25\text{OHD} - 0,16 * \text{inic}25\text{OHD} - 0,03 * \text{hmotnost})$$

Pro určení dávky pro setrvalou hladinu 25OHD ji lze zjednodušit:

$$\text{Denní dávka vitamínu } D = -100/0,28 * (8,96 - 0,16 * \text{inic}25\text{OHD} - 0,03 * \text{hmotnost})$$

Rovnici lze použít i k odhadu dávky pro dosažení cílové hladiny

$$\text{Denní dávka vitamínu } D = -100/0,28 * (8,96 - (\text{cílová } 25\text{OH} - \text{inic}25\text{OHD}) - 0,16 * \text{inic}25\text{OHD} - 0,03 * \text{hmotnost})$$

Inic25OHD – výchozí hladina 25OHD v séru

Cílová 25OH – žádaná hladina 25OHD po suplementaci

Rovnice není vhodná pro hmotnost a hladiny 25OHD z okrajů sledovaného pásma (hmotnost pod 45 a nad 120 kg a 25OHD pod 20 nmol/l a nad 120 nmol/l).

3.4.4. Diskuze

V práci jsme se pokusili o exaktní určení dávky vitD, kterou by měli pacienti s idiopatickými střevními záněty užívat tak, aby u nich nedošlo k poklesu hladiny 25OHD v období bez endogenní tvorby vitD.

Zjištěná dávka cholekalciferolu (2000 IU/den pro hmotnost 75 kg a hladinu 75 nmol/l) je trojnásobkem denního příjmu doporučeného pro zdravé, ve stejné věkové kategorii^{169,214}. Je minimálně dvakrát vyšší, než doporučuje ECCO (800–1000 IU/den) u osob s IBD užívajících kortikosteroidy²¹⁵.

Zda je náš výsledek správný, nejsme schopni porovnáním s jinými posoudit. Randomizované studie, věnující se potřebě vitD u IBD pacientů během zimního období, neexistují. Jsme odkázáni na observační práce. Přívod vitD a hladiny 25OHD v průběhu zimního období sledoval Grundbaum a spol.²⁴². Při celkovém příjmu (strava + suplementace) ve výši 1110±780 IU vitD/den, měli suplementovaní průměrnou hladinu 25OHD významně vyšší (79,8 vs. 59,4 nmol/l), než nesuplementovaní (přívod 404±409 IU/den). Předpokládaný přívod suplementací byl cca 700 IU vitD/den. Určení dávky potřebné k udržení hladiny 25OHD autoři neprováděli a nelze ji z údajů ani odhadnout.

Hlavatý a spol.¹⁴² sledovali vliv podávání vitD na kvalitu života u nemocných s IBD během zimního období. Při dávce 800 IU/den (400-1000 IU) došlo k poklesu hladiny 25OHD z 28,2 ng/ml na 23,8 ng/ml. Toto množství pro udržení hladiny 70nmol/l nestačilo. Z práce vyplývá, že potřebná dávka bude vyšší, než je pro zdravou populaci doporučeno, tj. více než 600 IU/den. Vhodnost této doporučené dávky je v posledních letech zpochybňována s tím, že potřebné množství by mělo převyšovat 2000 IU/den²⁴³.

Proč je námi zjištěné množství vyšší? Je to dáno specifiky osob s idiopatickými střevními záněty nebo jde o jev s IBD nesouvisející?

Zásadní odlišností IBD, oproti zdravé populaci, je zánětlivé postižení střeva. Za příčinu nedostatku vitD u aktivního střevního zánětu se považuje tzv. protein losing enteropatie (ztráty VDBP), bakteriální přerůstání či vyšší spotřeba vitamínu při zánětu. V případě postižení tenkého střeva, se nedostatek považuje za důsledek malabsorpce a poruchy enterohepatální cirkulace žlučových kyselin a vitD¹⁴⁹. Pokud budeme považovat za hlavní příčinu nedostatku vitD jeho malabsorpci, ať primární nebo sekundární v rámci malabsorpce žlučových kyselin, pak by se měla týkat pouze Crohnovy choroby s postižením tenkého střeva, eventuálně pacientů po resekcích tenkého střeva. Neměli bychom ji najít u kolické formy CD a ulcerózní kolitidy. U osob s CD jsou opravdu častěji zjišťovány nižší hladiny

25OHD a vyšší prevalence nedostatku vitD oproti ulcerózní kolitídě^{244,245}. Ne všichni však tento vztah zaznamenali^{178,246}. U Crohnovy choroby byly popisovány i vyšší hladiny vitD, než u ulcerózní kolitidy²⁴⁷.

Samotná průměrná hladina 25OHD nemusí dostatečně odrážet nedostatek vitD ve studované populaci. Lepší informaci nám podá zastoupení osob s různými stupni nedostatku. U CD byl častější deficit vitD (ne insuficience), než u UC^{244,248}. Většinou však mezi CD a UC nejsou odlišnosti v počtech osob s deficitem a insuficiencí^{156,242}. V našem souboru byl u osob s CD nedostatek vitD častější, než u skupiny s UC (75 % vs. 59 %). Vitamínový status mezi oběma skupinami (Crohnova choroba a ulcerózní kolitida) jsme porovnávali bez jejich bližší diferenciaci. Toto hrubé dělení je zavádějící. Nezohledňuje okolnosti, které mohou mít na hladiny 25OHD vliv, např. aktivitu zánětu, jeho lokalizaci. Pro vytvoření výchozího názoru lze čerpat jen malého počtu prací, které je při analýze vzaly v úvahu. Jejich výsledky, validitu tvrzení o významu postižení tenkého střeva a podílu ileocékální resekce na nedostatku vitD, relativizují. Tajika a spol.²⁴⁹ našli deficit vitD u 100 % pacientů po resekci terminálního ilea ve srovnání s 38 % těch, co resekční výkon neměli. Analyzované počty v této práci jsou nízké (9 pacientů po resekci a 15 neresekováno). Zde bude výsledek pravděpodobně zkreslen malým počtem probandů. Validnější údaje publikoval Suibhne¹⁴⁷. Ve skupině 81 pacientů s CD, mělo izolované postižení tenkého střeva 47 % osob. Žádnou asociaci mezi nedostatkem vitD a lokalizací zánětu autoři nenašli. Obdobně Zullowová, na smíšené skupině 255 osob s CD a UC, také žádnou spojitost neobjevila²⁴⁵. Regresní analýza v naší skupině, případnou asociaci mezi typem zánětu, jeho lokalizací, aktivitou a změnou hladiny 25OHD, také nenalezla.

Terminální ileum je místem vstřebávání žlučových kyselin a je klíčové pro jejich enterohepatální oběh. K malabsorpci může dojít při zkrácení délky ilea resekci nebo při aktivním zánětu (redukci apikálního Na⁺dependentního transportéru žlučových kyselin na enterocyty). K detekci malabsorpce žlučových kyselin se používá tzv. ⁷⁵SeHCAT (⁷⁵Se-homotaurocholová kyselina) test. Patologický výsledek tohoto vyšetření je zjišťován u 40-80 procent nemocných s CD nebo osob po resekci terminálního ilea²⁵⁰. Korelace mezi resekovanou délkou střeva a stupněm malabsorpce žlučových kyselin však není příliš těsná²⁵¹. Hladina 25OHD po resekci terminálního ilea nekoreluje ani s hladinou vitamínu B₁₂, který je v terminálním ileu výhradně vstřebáván²⁵².

Farraye a spol. sledovali dynamiku hladiny 25OHD po perorálním podání 50 000 IU vitD, u pacientů s CD s postižením tenkého střeva nebo po resekci ilea. Resorpce byla individuálně velmi variabilní. Míra vzestupu hladiny 25OHD neměla žádný vztah k postiženému či

resekovanému segmentu střeva (resekce tenkého střeva, ileocékální resekce, ileostomie), tedy ani terminálnímu ileu ¹⁵⁴. Leichtmann ¹⁵¹ se pokusil stupeň malabsorpce vitD, v závislosti na délce resekovaného střeva, kvantifikovat. Resorpce se zhoršovala s rostoucí délkou resekce. Nicméně resekční výkony do 100 cm tenkého střeva, což je více, než se u běžných ileocékálních resekcí děje, na efektivitu orálního podávání významný vliv neměly. VitD je vstřebáván už od proximální části tenkého střeva, v individuálně nepredikovatelné míře ²⁵³. Tyto skutečnosti mohou snížené vstřebávání v kratším terminálním ileu kompenzovat a případnou asociaci maskovat.

Zajímavou alternativou, která řeší problém variabilní střevní resorpce, je orálně vstřebatelná tzv. „nano“ forma vitD. Jde lipidové mikrokapénky obsahující cholekalciferol, které se vstřebávají sliznicí dutiny ústní. Ve srovnání s konvenční formou cholekalciferolu, je biologická dostupnost této formy o asi 1/3 vyšší ²⁵⁴.

V randomizované práci Satia a spol. ²⁵⁵ porovnali hladiny 25OHD při použití ekvivalentních dávek (1000 IU/den) cholekalciferolu ve formě orálně vstřebatelné nanoemulze a želatinových kapslí, resorbujících se ve střevě. Za 30 dní došlo po orálně vstřebatelné formě k dvojnásobnému nárůstu hladiny 25OH (8ng/ml vs. 4ng/ml) oproti konvenční formě. U podskupiny s prokázaným malabsorbčním syndromem byl vzestup ještě větší (10,4 vs. 4,0 ng/ml).

V analýze jsme zjistili inverzní spojitost mezi délkou trvání střevního zánětu a změnou hladiny 25OHD. Tedy, čím kratší onemocnění, tím vyšší vzestup hladiny. Odpovídá to popisované přímé závislosti mezi nedostatkem vitD a trváním IBD ^{147,249}.

Han a spol. ²⁵⁶ u nemocných s krátkým trváním zánětu (průměrně 5 měsíců) tuto závislost nenalezl, Tajika ²⁴⁹ při šestiletém trvání choroby ano. Souvislost nebyla patrná v práci Zullowové ²⁴⁵, kde délka choroby činila 10 let. Přítomna byla u Suibhna ¹⁴⁷, ale jen u Crohnovy choroby (6 let trvání). Proč existuje tato diskrepance není známo. Autoři možné příčiny neanalyzovali. Při multifaktoriální etiologii nedostatku vitD lze jen spekulovat. Roli může hrát zhoršené vstřebávání při morfologickém postižení střeva dlouhotrvajícím zánětem, malnutrice, ale třeba také nižší endogenní tvorba vitD při omezeném pobytu na slunci, následkem limitace dlouhodobou chorobou.

Za zmínku stojí fakt, že jsme nezaznamenali vztah k aktivitě zánětu. Tato závislost je ve studiích zmiňována poměrně často ^{146,179,249,257}, ne však vždy ^{147,258}. Na čí straně je pravda, nebyla schopna rozhodnout ani metaanalýza publikovaných prací. Důvodem byl jednak nedostatek údajů k metaanalýze, ale i jejich heterogenita, daná např. rozličností použitých

ukazatelů aktivity zánětu (nejčastěji CDAI a Harvey-Bradshaw index), případně rozdílnými limitními hodnotami pro hladiny 25OHD.

My jsme k hodnocení aktivity použili více kritérií. Kombinaci indexů s dalšími objektivními údaji - hladinou kalprotektinu, nálezem endoskopickým nebo zobrazovacích metod. Jako aktivní, jsme pak klasifikovali zánět u cca jedné třetiny všech osob. Důvod chybění případné asociace, bude nejspíše skryt v oné kombinaci zvolených ukazatelů. V práci, která jako kritérium aktivity použila kalprotektin, byla spojitost jasná ²⁵⁹. Při hodnocení aktivity pouze pomocí indexu CDAI, už nebyl vztah deficitu vitD jednoznačný ²⁶⁰.

Pokud vzájemně porovnáme spolehlivost endoskopického nálezu aktivity (SES-CD skóre) se stanovením kalprotektinu, jinými laboratorními ukazateli (leukocyty, CRP) a indexem CDAI, pak nejlepší korelaci má kalprotektin ($r=0,75$). Následován je CRP ($r=0,53$) a leukocyty ($r=0,42$). Nejhorší je index CDAI ($r=0,38$) ²⁶¹. V našem souboru u každého pacienta endoskopický nález či hladina kalprotektinu nebyly vyšetřeny. CDAI ano, což může být příčinou zkreslení.

Efektivitu podávání vitD modifikují léčiva. Abychom vyloučili toto zkreslení, byli pacienti s medikací, o níž je známo, že může ovlivňovat hladiny 25OHD (antiepileptika, orlistat, cholestyramin) vyloučeni. Dopad systémových kortikosteroidů na hladinu 25OHD je udáván variabilně a je obtížně oddělitelný od vlivu samotné aktivity zánětu. Počet léčených prednisonem je v naší skupině malý. Analýzu jsme proto neprováděli.

Jediným faktorem, který měl vliv na hladinu 25OHD a je specifický pro IBD, byla délka trvání choroby. Její podíl na celkové variabilitě je však velmi malý ($r^2=0,03$).

Domníváme se, že potřeba vyšší dávky vit D musí být dána jinými faktory, s idiopatickým střevním zánětem nesouvisejícími.

Překvapivý je nález pozitivní asociace věku a amplitudy změny hladiny 25OHD. Tato závislost je opačná, než se uvádí. S věkem stoupá výskyt hypovitaminózy a potřeba vitD. Přiřítá se to nedostatečné expozici slunečnímu záření, nedostatečnému dietnímu přívodu a nižší kožní tvorbě cholekalciferolu po expozici UV-B. Odhaduje se, že potřeba vitD u osob starších 70 je asi 1,5-2x vyšší než v mládí ⁵⁴. Během stárnutí se snižuje exprese VDBP a klesá tvorba aktivních hydroxylovaných forem. Vstřebávání vitD ze střeva se s věkem nemění. Efektivita perorální suplementace není věkem významně ovlivněna ^{262,263}. Faktor věku, tak jako délka trvání zánětu, vysvětluje v naší práci jen velmi malou část celkové variability hladiny 25OHD. Zde máme pohybnosti, do jaké míry matematický průkaz závislosti odpovídá skutečné spojitosti, zvl. v případě asociace s věkem.

Mnoho autorů poukázalo na souvislost mezi nízkou hladinou 25OHD a obezitou – ať byla definována pomocí BMI, hmotnosti nebo obsahem tělesného tuku. U obézních (BMI \geq 30 kg/m²) je vzestup hladiny po podání vitD až o pětinu menší, než tomu je u osob s BMI pod 25 kg/m² ²⁶⁴⁻²⁶⁶.

Obezita ovlivňuje i dlouhodobou dynamiku vitD. Hladiny 25OHD u obézních klesají pozvolněji ²⁶⁷. Pomalé změny mají své kladné stránky. U obézních je v průběhu zimy pokles 25OHD pomalejší než osob štíhlých ²⁶⁸, což může oddálit rozvoj nedostatku v tomto období ²¹⁰.

Vliv nadváhy je vysvětlován řadou mechanismů. Větší tvorbou 1,25OHD, větším distribučním objemem pro vitD i vlivy s nadváhou přímo nesouvisejícími, např. kratším pobytem na slunci a nižší endogenní tvorbou vitD, nižším dietním přívodem. Wortsman a spol. ²¹¹ se pokusili objasnit, který z těchto dvou faktorů (kožní produkce nebo snížená dostupnost) hraje u obézních větší roli. Měřili hladiny 25OHD, po opalování a po perorálním podání vitD, u osob s BMI nad 30 a neobézních. Kožní produkce byla u obou skupin podobná (měřeno koncentrací 7-dehydrocholesterolu v kůži), zatímco u obézních byl v obou případech vzestup hladiny 25OHD menší. Ukazuje to na nižší dostupnost vitD při obezitě.

Wortsmanova práce je pokládána za zásadní podporu tzv. sekvestrační teorie. Tato považuje za příčinu nízkých hladin depozici vitD do tělesného tuku. Je potvrzeno, že k hromadění vitD v tělesném tuku dochází. Tuková tkáň osob, které po dobu 3-5 let konzumovaly 20 000 IU vitD týdně, obsahovala až 6x více 25OHD₃, než ve skupině s placebem (209 vs. 32 ng/ml, při sérové koncentraci 99 vs. 62 nmol/l). Autoři ²⁶⁹ odhadli, že u substituovaných může být v tuku uloženo až 260 000 IU vitD. Odpovídá to denní dávce 800 IU na dobu 1 roku. U placebové skupiny to bylo jen 40 000 IU. Jakým mechanismem je vitD do tuku deponován a uvolňován, zda jde o prostou difúzi nebo aktivní mechanismus, není známo.

Hypotéza tzv. volumetrické diluce naopak počítá s tím, že vitD se ve významné míře deponuje i jiných tkáních, v játrech, svalech. Pokud se započítá takto zvětšený distribuční objem, pouhá diluce údajně vysvětlí nižší sérovou hladinu 25OHD u obézních.

Exitující data podporují obě hypotézy. Zda platí pouze jedna z nich nebo obě, nelze v současnosti rozhodnout. Jasně je, že u obézních musíme při podávání vitD počítat s menším vzestupem hladin 25OHD.

Vliv hmotnosti může být velký. V metaanalýze 94 studií ²⁰⁸, dávka vyjádřená v IU/kg byla nejsilnějším prediktorem změny 25OHD ($r^2=0,345$). V naší analýze, v pracovním jednorozměrném modelu, měla nadváha dopad menší. Předpokládáme, že to souvisí se

specifikem sledované kohorty. Námi analyzované osoby spadají do kategorie na pomezí hmotnosti normální a nadváhy (medián BMI 24,9; min.- max. 21,7–28,4). Významně menší dynamika hladin byla pozorována až u osob s nadváhou a obezitou ²⁶⁷, případně od BMI 30 a více ^{209,270}. Patrně proto jsme nepotvrdili větší účinnost dávkování dle hmotnosti. Dalším důvodem, relativizujícím zásadní význam hmotnosti a dávkování dle hmotnosti, je výše dávek. Rozdíl mezi skupinami s fixní dávkou a dávkou dle hmotnosti činí cca 500 IU/den. Je to maximálně jedna čtvrtina podávané dávky. Toto množství je na hranici možného vlivu na hladinu ¹⁹³. Domníváme se, že tyto skutečnosti vysvětlují malou hmotnostní závislost v našem souboru. V praxi, proto u těchto nemocných, nebude úprava dávky dle hmotnosti zásadní.

Iniciální hladina 25OHD byla faktorem, který měl v našem souboru největší vliv na změnu hladiny 25OHD. Závislost byla nepřímá. Nejde o nález izolovaný. Shodný vztah popisuje více autorů ^{263,270–272}. Patrný je v širokém rozmezí podávaných dávek od 800 do 4000 IU/den ^{273,274}. Není vázán na perorální přívod vitD. Byl pozorován i při monitorování vlivu opalování na hladinu 25OHD, jako ukazatele endogenní produkce cholekalciferolu ^{275,276}. Příčinou tedy nemohou být limitace dané resorpcí vitD, ale důvody metabolické. 25-hydroxyláza je enzymem, který není oproti 1,25-hydroxyláze zpětnovazebně regulován. Přesto hladina 25OHD nestoupá v závislosti na podané dávce vitD3 lineárně. Při setrvalém přívodu dosahují hladiny sérového vitD3 plateau asi za 3 týdny. Hladina rychle lineárně stoupá až do sérové koncentrace kolem 80–100 nmol/l (a 25nmol/l vitD3). Od tohoto bodu roste dále, ale mnohem pomaleji. Obě fáze mají lineární průběh, s cca 10 násobným rozdílem ve velikosti směrnic ²⁷⁶. V první fázi je rychlost produkce 25OHD přímo úměrná koncentraci substrátu – jde o reakci s kinetikou 1. řádu. Ve fázi pomalého růstu, hladina 25OHD není koncentrací vitD3 úměrná. Jde o průběh charakteristický pro reakci s kinetikou 0. řádu. Znamená to, že 25 hydroxyláza je satureovatelným enzymem. Po dosažení maxima, produkce 25OH probíhá konstantní rychlostí, bez závislosti na výchozí koncentraci cholekalciferolu. Tento fakt má několik významných konsekvencí. Limitní hladina pro vitD3 (15 nmol/l), odpovídá dennímu přívodu cca 2000 IU/den ²⁷⁶. Při vyšší hladině se vitD v organizmu kumuluje. Enzymatický limit pro 25OHD (80-100 nmol/l), může odrážet žádoucí normu pro organismus, nad kterou nemá význam hladinu zvyšovat.

Naše rovnice vysvětluje příčiny změn hladiny 25OHD z necelé poloviny. Je to číslo v absolutní hodnotě poměrně nízké, a obdobné hodnotě jiných autorů. Zittermannův model ²⁰⁹, za použití iniciální hladiny 25OHD, věku, přívodu Ca a dávky vitD/kg, dosáhl koeficientu determinace 0,54. Singh s méně parametry (iniciální hladina 25OHD, věk,

albumin, BMI) koeficientu 0,16 – 0,59²⁴³, Zhao²⁷⁷ hodnoty 0,47 (dávka vitD, iniciační hladina 25OHD, roční období, kalcémie, BMI).

Hladinu vitD ovlivňuje řada dalších, hůře postižitelných i zatím neznámých vlivů. Mimo již studovaných, hrají roli genetické polymorfizmy (metabolismus DHCR7, CYP2R1, CYP24A1, VDBP). Mohou se podílet individuální rozdíly v resorpci, slunění, odlišný přívod vitD potravou, kouření.

Míra absorpce vitD je ovlivňována kompeticí s vitamíny E a K. Příčinou je nejspíše společný transportér²⁷⁸.

Další vlivy lze postihnout obtížně, např. adherenci. Minimálně jedna třetina našich sledovaných připustila nedodržení doporučené dávky. Objektivně jsme ji neověřovali, ale lze předpokládat, že ve skutečnosti bude ještě nižší. Není to překvapující. Při objektivním hodnocení adherence pacientů k léčbě osteoporózy kombinací Ca a vitD, byl použit systém elektronických lékovek (Medication Events Monitoring System). V doporučeném intervalu medikaci trvale užívala jen polovina osob. Obdobná je situace např. při užívání 5-aminosalicylátů²⁷⁹ u osob s IBD.

Pokud pomocí naší rovnice vypočítáme dávku vitD pro osobu s hmotností 75kg a hladinu 50 nmol/l zjistíme, že potřebuje 590 IU/den vitD. Je to hodnota shodná s kritizovaným doporučením IOM, EFSA a odlišná od našeho závěru 2000 IU/den. Jak je to možné?

IOM i EFSA za cílovou hladinu používají 50 nmol/l. V našem případě je cílová hladina jiná. Hodnoty 50 nmol/l jsou pro pacienty s idiopatickými střevními záněty nízké. Cílem suplementace je normalizace hladiny vitD, tedy udržení minimálně 75 nmol/l. Pokud za cílovou hodnotu použijeme tuto spodní hranici normy, pak je vypočtená dávka pro stejnou osobu 2034 IU/den. Toto odpovídá našemu zjištění a je v souladu s kritickými názory na doporučení IOM^{243,280,281}.

Dávku 2000 IU/den považujeme spíše za minimální než za optimální. Důvodem je vysoká prevalence různých stupňů nedostatku vitD mezi pacienty a především jejich nízká adherence k užívání vitD.

Jedním z důvodů poddávkování vitD jsou obavy toxicity. Z naší práce, ve shodě s literárními údaji, vyplývá, že tyto obavy jsou, při dávce kolem 2000 IU/den, neopodstatněné. V průběhu sledování se hladiny Ca, P nezměnily. Nejvyšší hodnota, které hladina 25OHD v našem souboru dosáhla, bylo 147 nmol/l. Je značně vzdálená potenciálně toxické koncentraci nad 600 nmol/l¹⁷². Monitorování hladin 25OHD v průběhu suplementace je vhodné z důvodů optimalizace dávky a kontroly adherence, ne z důvodů bezpečnostních.

Slabiny práce

Především, skutečně užívaná dávka vitD vycházela z údajů pacientů a nebyla objektivizována. Toto je možné v případě osob institucionalizovaných, kterým vitamín podává jiná osoba. U plně aktivních jedinců, kteří jej užívají sami a doma, je řešení obtížné. Vyžadovalo by to jinou, nejlépe tabletovou formu, která by umožnila jednoduchou kontrolu užitého množství. V době zahájení studie k dispozici nebyla. Logisticky obtížně realizovatelný je elektronický systém monitorující otevření lékovek.

Do analýz, týkajících se sekundárního cíle, nebylo možno v důsledku vysoké nonadherence zařadit předpokládaný počet probandů. Síla testu pro adherentní podskupinu nedosáhla předpokládaných 80 %.

Vitamín D byl podáván 2x týdně a denní dávka byla interpolována výpočtem z celkové dávky týdně. Sérový poločas 25OHD je násobně delší než je použitý dávkovací interval. Rozdíl v hladinách 25OHD při dávkování denně a 1x týdně zaznamenán nebyl ¹⁹¹. Domníváme se proto, že tento přepočít je možný.

Ze všech faktorů, které mohou mít na hladiny 25OHD vliv, byly sledovány jen některé.

3.5. Závěry

- Nedostatek vitamínu D je u nemocných s idiopatickými střevními záněty častý
- Doporučená suplementační dávka 600 IU/den pro běžnou populaci, není dostačující pro osoby s idiopatickými střevními záněty
- Pro osoby s idiopatickými střevními záněty je pro udržení setrvalé normální hladiny 25OHD potřebná denní dávka minimálně 2000 IU cholekalciferolu perorálně.
- Dávkování vitamínu D, upravené dle hmotnosti, nemá u neobézních osob výhodu oproti fixní dávce na den.
- Faktory specifické pro střevní záněty, jako je typ, lokalizace zánětu, jeho aktivita a délka trvání, významný vliv na hladiny 25OHD nemají.
- Postižení tenkého střeva a resekce terminálního ilea, vyšší potřebné dávky vitamínu D neovlivňuje.
- Největší vzestup hladiny 25OHD lze při suplementaci očekávat u osob s nízkou iniciální hladinou 25OHD.
- Adherence k užívání vitamínu D je nízká a je vhodné ji aktivně kontrolovat.
- Dávka 2000 IU cholekalciferolu denně není spojena s rizikem předávkování a nevyžaduje pravidelné laboratorní sledování.

4. Seznam použitých zkratk

| | |
|------------|--|
| ALP | alkalická fosfatáza |
| ATPáza | adenosin trifosfatáza |
| BMI | body mass index |
| Ca | vápník |
| CD | Crohnova choroba |
| CDAI | Crohn's Disease Activity Index |
| CI | interval spolehlivosti |
| CONSORT | Consolidated Standards of Reporting Trials |
| CRP | C- reaktivní protein |
| DNA | deoxyribonukleová kyselina |
| ECCO | European Crohn's and Colitis Organisation |
| EFSA | Evropský úřad pro bezpečnost potravin |
| EU | Evropská unie |
| FGF23 | fibroblast growth factor 23 |
| IBD | idiopatický střevní zánět |
| IFN | interferon |
| IL | interleukin |
| IOM | North American Institute of Medicine |
| IU | mezinárodní jednotka |
| IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry |
| HR | hazard ratio |
| JAK | Janus-kináza |
| NK- buňky | “natural killer” buňky |
| NOAEL | No-Observed-Adverse-Effect Level |
| NOD | nucleotide- binding oligomerization domain-like receptor |
| OR | odds ratio |
| P | fosfor |
| pMCS skóre | partial Mayo score |
| PRR | pattern recognition receptor |
| PTH | parathormon |
| RDA | Reference Daily Allowance |

| | |
|---------------|--|
| RR | relativní riziko |
| r^2 | koeficient determinace |
| STAT | signal transducer and activator of transcription |
| SK_IU/kg | 28 IU/kg/den vitD3 |
| SK_2000 | 2000 IU/den vitD3 |
| STROBE | STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology |
| UV-A | ultrafialové záření dlouhovlnné (280- 315 nm) |
| UV-B | ultrafialové záření středněvlnné (315 – 400 nm) |
| VDR | receptor pro vitamín D |
| VDBP | vazebný protein pro vitamín D |
| vitD | vitamín D (obecné označení) |
| vitD2 | ergokalciferol |
| vitD3 | cholecalciferol |
| Th lymfocyty | helper (pomocné) lymfocyty |
| TLR | toll-like receptor |
| TNF- α | tumor necrosis faktor alfa |
| Treg lymfocyt | regulační T lymfocyt |
| UC | ulcerózní kolitída |
| UL | Tolerable upper intake Level |
| USA | Spojené státy americké |
| 1,25OHD | 1,25-dihydroxyvitamín D |
| 1,25OHD2 | 1,25-dihydroxyergokalciferol |
| 1,25OHD3 | 1,25-dihydroxykalciferol |
| 1,24,25OHD2 | 1,24,25-trihydroxyergokalciferol |
| 24,25OHD | 24,25-dihydroxyvitamín D |
| 24OHD2 | 24-hydroxyergokalciferol |
| 25OHD | 25-hydroxyvitamín D (vitD2 + vitD3) |
| 25OHD2 | 25-hydroxyergokalciferol |
| 25OHD3 | 25-hydroxykalciferol |

5. Literatura

1. Holick MF. Vitamin D: Evolutionary, Physiological and Health Perspectives. *Current Drug Targets*. Published December 31, 2010. Accessed May 29, 2018. <http://www.eurekaselect.com/72892/article>
2. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 2014;21(3):319-329. doi:10.1016/j.chembiol.2013.12.016
3. Tripkovic L, Lambert H, Hart K, et al. Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2012;95(6):1357-1364. doi:10.3945/ajcn.111.031070
4. Tian XQ, Holick MF. A liposomal model that mimics the cutaneous production of vitamin D3. Studies of the mechanism of the membrane-enhanced thermal isomerization of previtamin D3 to vitamin D3. *J Biol Chem*. 1999;274(7):4174-4179.
5. Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol*. 2013;5(1):51-108. doi:10.4161/derm.24494
6. Borel P, Caillaud D, Cano NJ. Vitamin D bioavailability: state of the art. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015;55(9):1193-1205. doi:10.1080/10408398.2012.688897
7. Kochupillai N. The physiology of vitamin D : current concepts. *Indian J Med Res*. 2008;127(3):256-262.
8. Jones KS, Assar S, Harnpanich D, et al. 25(OH)D2 half-life is shorter than 25(OH)D3 half-life and is influenced by DBP concentration and genotype. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(9):3373-3381. doi:10.1210/jc.2014-1714
9. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010;39(2):243-253, table of contents. doi:10.1016/j.ecl.2010.02.002
10. Schuessler M, Astecker N, Herzig G, Vorisek G, Schuster I. Skin is an autonomous organ in synthesis, two-step activation and degradation of vitamin D3: CYP27 in epidermis completes the set of essential vitamin D3-hydroxylases. *Steroids*. 2001;66(3-5):399-408. doi:10.1016/S0039-128X(00)00229-4
11. Slominski AT, Janjetovic Z, Fuller BE, et al. Products of vitamin D3 or 7-dehydrocholesterol metabolism by cytochrome P450scc show anti-leukemia effects, having low or absent calcemic activity. *PloS One*. 2010;5(3):e9907. doi:10.1371/journal.pone.0009907
12. Hewison M, Zehnder D, Bland R, Stewart PM. 1alpha-Hydroxylase and the action of vitamin D. *J Mol Endocrinol*. 2000;25(2):141-148.
13. Veldurthy V, Wei R, Oz L, Dhawan P, Jeon YH, Christakos S. Vitamin D, calcium homeostasis and aging. *Bone Res*. 2016;4:16041. doi:10.1038/boneres.2016.41

14. Murayama A, Takeyama K, Kitanaka S, et al. Positive and negative regulations of the renal 25-hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase gene by parathyroid hormone, calcitonin, and 1alpha,25(OH)2D3 in intact animals. *Endocrinology*. 1999;140(5):2224-2231. doi:10.1210/endo.140.5.6691
15. Caniggia A, Lorè F, di Cairano G, Nuti R. Main endocrine modulators of vitamin D hydroxylases in human pathophysiology. *J Steroid Biochem*. 1987;27(4-6):815-824.
16. Raman M, Milestone AN, Walters JRF, Hart AL, Ghosh S. Vitamin D and gastrointestinal diseases: inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *Ther Adv Gastroenterol*. 2011;4(1):49-62. doi:10.1177/1756283X10377820
17. Gyetko MR, Hsu CH, Wilkinson CC, Patel S, Young E. Monocyte 1 alpha-hydroxylase regulation: induction by inflammatory cytokines and suppression by dexamethasone and uremia toxin. *J Leukoc Biol*. 1993;54(1):17-22.
18. Boyan BD, Dean DD, Sylvia VL, Schwartz Z. Nongenomic regulation of extracellular matrix events by vitamin D metabolites. *J Cell Biochem*. 1994;56(3):331-339. doi:10.1002/jcb.240560309
19. Bikle DD. Vitamin D and bone. *Curr Osteoporos Rep*. 2012;10(2):151-159. doi:10.1007/s11914-012-0098-z
20. Diaz de Barboza G, Guizzardi S, Tolosa de Talamoni N. Molecular aspects of intestinal calcium absorption. *World J Gastroenterol*. 2015;21(23):7142-7154. doi:10.3748/wjg.v21.i23.7142
21. Christakos S. Recent advances in our understanding of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) regulation of intestinal calcium absorption. *Arch Biochem Biophys*. 2012;523(1):73-76. doi:10.1016/j.abb.2011.12.020
22. Žofková I, Nováková A. Fyziologie, patofyziologie a klinický význam vitamínu D. *Postgraduální Medicína Odb Časopis Lékaře*. 2002;4(2):182-187.
23. Fukumoto S. Phosphate metabolism and vitamin D. *BoneKEy Rep*. 2014;3. doi:10.1038/bonekey.2013.231
24. Takeda S, Yoshizawa T, Nagai Y, et al. Stimulation of osteoclast formation by 1,25-dihydroxyvitamin D requires its binding to vitamin D receptor (VDR) in osteoblastic cells: studies using VDR knockout mice. *Endocrinology*. 1999;140(2):1005-1008. doi:10.1210/endo.140.2.6673
25. van Driel M, van Leeuwen JPTM. Vitamin D endocrine system and osteoblasts. *BoneKEy Rep*. 2014;3:493. doi:10.1038/bonekey.2013.227
26. Colston K, Colston MJ, Feldman D. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology*. 1981;108(3):1083-1086. doi:10.1210/endo-108-3-1083
27. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev*. 2016;96(1):365-408. doi:10.1152/physrev.00014.2015

28. McGuire TF, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D(3)-induced apoptosis of murine squamous cell carcinoma cells. Selective induction of caspase-dependent MEK cleavage and up-regulation of MEKK-1. *J Biol Chem.* 2001;276(28):26365-26373. doi:10.1074/jbc.M010101200
29. Bao BY, Yeh SD, Lee YF. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits prostate cancer cell invasion via modulation of selective proteases. *Carcinogenesis.* 2006;27(1):32-42. doi:10.1093/carcin/bgi170
30. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol.* 1980;9(3):227-231.
31. Garland CF, Comstock GW, Garland FC, Helsing KJ, Shaw EK, Gorham ED. Serum 25-hydroxyvitamin D and colon cancer: eight-year prospective study. *Lancet Lond Engl.* 1989;2(8673):1176-1178.
32. Mohr SB, Gorham ED, Alcaraz JE, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *Anticancer Res.* 2011;31(9):2939-2948.
33. Dimitrakopoulou VI, Tsilidis KK, Haycock PC, et al. Circulating vitamin D concentration and risk of seven cancers: Mendelian randomisation study. *BMJ.* 2017;359:j4761.
34. Durup D, Jørgensen HL, Christensen J, Schwarz P, Heegaard AM, Lind B. A reverse J-shaped association of all-cause mortality with serum 25-hydroxyvitamin D in general practice: the CopD study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):2644-2652. doi:10.1210/jc.2012-1176
35. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(6):1586-1591. doi:10.1093/ajcn/85.6.1586
36. De Smedt J, Van Kelst S, Boecxstaens V, et al. Vitamin D supplementation in cutaneous malignant melanoma outcome (ViDMe): a randomized controlled trial. *BMC Cancer.* 2017;17(1):562. doi:10.1186/s12885-017-3538-4
37. Manson JE, Bassuk SS, Buring JE. Principal results of the VITamin D and OmegaA-3 Trial (VITAL) and updated meta-analyses of relevant vitamin D trials. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2020;198:105522. doi:10.1016/j.jsbmb.2019.105522
38. Bjelakovic G, Gluud LL, Nikolova D, et al. Vitamin D supplementation for prevention of cancer in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;(6):CD007469. doi:10.1002/14651858.CD007469.pub2
39. Keum N, Giovannucci E. Vitamin D supplements and cancer incidence and mortality: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2014;111(5):976-980. doi:10.1038/bjc.2014.294
40. Pereira F, Larriba MJ, Muñoz A. Vitamin D and colon cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2012;19(3):R51-71. doi:10.1530/ERC-11-0388
41. Zittermann A, Iodice S, Pilz S, Grant WB, Bagnardi V, Gandini S. Vitamin D deficiency and mortality risk in the general population: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(1):91-100. doi:10.3945/ajcn.111.014779

42. Schöttker B, Jorde R, Peasey A, et al. Vitamin D and mortality: meta-analysis of individual participant data from a large consortium of cohort studies from Europe and the United States. *BMJ*. 2014;348:g3656.
43. Schöttker B, Haug U, Schomburg L, et al. Strong associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with all-cause, cardiovascular, cancer, and respiratory disease mortality in a large cohort study. *Am J Clin Nutr*. 2013;97(4):782-793. doi:10.3945/ajcn.112.047712
44. Zhang R, Li B, Gao X, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and the risk of cardiovascular disease: dose-response meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr*. 2017;105(4):810-819. doi:10.3945/ajcn.116.140392
45. Doherty TM, Tang W, Dascalos S, et al. Ethnic origin and serum levels of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 are independent predictors of coronary calcium mass measured by electron-beam computed tomography. *Circulation*. 1997;96(5):1477-1481.
46. Brøndum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaard BG. 25-hydroxyvitamin d levels and risk of ischemic heart disease, myocardial infarction, and early death: population-based study and meta-analyses of 18 and 17 studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(11):2794-2802. doi:10.1161/ATVBAHA.112.248039
47. Barbarawi M, Kheiri B, Zayed Y, et al. Vitamin D Supplementation and Cardiovascular Disease Risks in More Than 83 000 Individuals in 21 Randomized Clinical Trials: A Meta-analysis. *JAMA Cardiol*. 2019;4(8):765. doi:10.1001/jamacardio.2019.1870
48. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of the development of the metabolic syndrome at five years: results from a national, population-based prospective study (The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study: AusDiab). *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(6):1953-1961. doi:10.1210/jc.2011-3187
49. Rafiq S, Jeppesen PB. Is Hypovitaminosis D Related to Incidence of Type 2 Diabetes and High Fasting Glucose Level in Healthy Subjects: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Nutrients*. 2018;10(1). doi:10.3390/nu10010059
50. Forouhi NG, Ye Z, Rickard AP, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D concentration and the risk of type 2 diabetes: results from the European Prospective Investigation into Cancer (EPIC)-Norfolk cohort and updated meta-analysis of prospective studies. *Diabetologia*. 2012;55(8):2173-2182. doi:10.1007/s00125-012-2544-y
51. Pham TM, Ekwaru JP, Setayeshgar S, Veugelers PJ. The Effect of Changing Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations on Metabolic Syndrome: A Longitudinal Analysis of Participants of a Preventive Health Program. *Nutrients*. 2015;7(9):7271-7284. doi:10.3390/nu7095338
52. Seida JC, Mitri J, Colmers IN, et al. Clinical review: Effect of vitamin D3 supplementation on improving glucose homeostasis and preventing diabetes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(10):3551-3560. doi:10.1210/jc.2014-2136

53. Santos RKF, Brandão-Lima PN, Tete RMDD, Freire ARS, Pires LV. Vitamin D ratio and glycaemic control in individuals with type 2 diabetes mellitus: A systematic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2018;34(3). doi:10.1002/dmrr.2969
54. Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc*. 2013;88(7):720-755. doi:10.1016/j.mayocp.2013.05.011
55. Gillespie LD, Robertson MC, Gillespie WJ, et al. Interventions for preventing falls in older people living in the community. Cochrane Bone, Joint and Muscle Trauma Group, ed. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;2021(6). doi:10.1002/14651858.CD007146.pub3
56. Reich KM, Fedorak RN, Madsen K, Kroeker KI. Vitamin D improves inflammatory bowel disease outcomes: basic science and clinical review. *World J Gastroenterol*. 2014;20(17):4934-4947. doi:10.3748/wjg.v20.i17.4934
57. Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D₃, and the immune system. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6 Suppl):1717S-20S. doi:10.1093/ajcn/80.6.1717S
58. Ferreira GB, Vanherwegen AS, Eelen G, et al. Vitamin D₃ Induces Tolerance in Human Dendritic Cells by Activation of Intracellular Metabolic Pathways. *Cell Rep*. Published online February 4, 2015. doi:10.1016/j.celrep.2015.01.013
59. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HF, O'Garra A. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin d₃ has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2001;167(9):4974-4980.
60. Joshi S, Pantalena LC, Liu XK, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A. *Mol Cell Biol*. 2011;31(17):3653-3669. doi:10.1128/MCB.05020-11
61. Hewison M. Vitamin D and immune function: an overview. *Proc Nutr Soc*. 2012;71(1):50-61. doi:10.1017/S0029665111001650
62. Dankers W, Colin EM, van Hamburg JP, Lubberts E. Vitamin D in Autoimmunity: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Front Immunol*. 2016;7:697. doi:10.3389/fimmu.2016.00697
63. Del Pinto R, Ferri C, Cominelli F. Vitamin D Axis in Inflammatory Bowel Diseases: Role, Current Uses and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2017;18(11). doi:10.3390/ijms18112360
64. Zhang Y, Leung DYM, Richers BN, et al. Vitamin D inhibits monocyte/macrophage proinflammatory cytokine production by targeting MAPK phosphatase-1. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2012;188(5):2127-2135. doi:10.4049/jimmunol.1102412
65. Berry DJ, Hesketh K, Power C, Hyppönen E. Vitamin D status has a linear association with seasonal infections and lung function in British adults. *Br J Nutr*. 2011;106(9):1433-1440. doi:10.1017/S0007114511001991

66. Zhu M, Wang T, Wang C, Ji Y. The association between vitamin D and COPD risk, severity, and exacerbation: an updated systematic review and meta-analysis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2016;11:2597-2607. doi:10.2147/COPD.S101382
67. Sahay T, Ananthkrishnan AN. Vitamin D deficiency is associated with community-acquired clostridium difficile infection: a case-control study. *BMC Infect Dis*. 2014;14:661. doi:10.1186/s12879-014-0661-6
68. Park YJ, Kim SU, Lee KH, et al. Vitamin D deficiency is associated with increased risk of bacterial infections after kidney transplantation. *Korean J Intern Med*. 2017;32(3):505-513. doi:10.3904/kjim.2015.214
69. Huang SJ, Wang XH, Liu ZD, et al. Vitamin D deficiency and the risk of tuberculosis: a meta-analysis. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:91-102. doi:10.2147/DDDT.S79870
70. Zeng J, Wu G, Yang W, et al. A serum vitamin D level <25nmol/l pose high tuberculosis risk: a meta-analysis. *PloS One*. 2015;10(5):e0126014. doi:10.1371/journal.pone.0126014
71. Xia J, Shi L, Zhao L, Xu F. Impact of vitamin D supplementation on the outcome of tuberculosis treatment: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(17):3127-3134.
72. Martineau AR, James WY, Hooper RL, et al. Vitamin D3 supplementation in patients with chronic obstructive pulmonary disease (ViDiCO): a multicentre, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2015;3(2):120-130. doi:10.1016/S2213-2600(14)70255-3
73. Lehouck A, Mathieu C, Carremans C, et al. High doses of vitamin D to reduce exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2012;156(2):105-114. doi:10.7326/0003-4819-156-2-201201170-00004
74. Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ*. 2017;356:i6583.
75. Hosseini B, El Abd A, Ducharme FM. Effects of Vitamin D Supplementation on COVID-19 Related Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2022;14(10):2134. doi:10.3390/nu14102134
76. Simpson S, Blizzard L, Otahal P, Van der Mei I, Taylor B. Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(10):1132-1141. doi:10.1136/jnnp.2011.240432
77. Skaaby T, Husemoen LLN, Thuesen BH, Linneberg A. Prospective population-based study of the association between vitamin D status and incidence of autoimmune disease. *Endocrine*. 2015;50(1):231-238. doi:10.1007/s12020-015-0547-4
78. Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, et al. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology*. 2004;62(1):60-65.

79. Koduah P, Paul F, Dörr JM. Vitamin D in the prevention, prediction and treatment of neurodegenerative and neuroinflammatory diseases. *EPMA J.* 2017;8(4):313-325. doi:10.1007/s13167-017-0120-8
80. Ataie-Jafari A, Loke SC, Rahmat AB, et al. A randomized placebo-controlled trial of alphacalcidol on the preservation of beta cell function in children with recent onset type 1 diabetes. *Clin Nutr Edinb Scotl.* 2013;32(6):911-917. doi:10.1016/j.clnu.2013.01.012
81. Abou-Raya A, Abou-Raya S, Helmii M. The effect of vitamin D supplementation on inflammatory and hemostatic markers and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus: a randomized placebo-controlled trial. *J Rheumatol.* 2013;40(3):265-272. doi:10.3899/jrheum.111594
82. Dong JY, Zhang WG, Chen JJ, Zhang ZL, Han SF, Qin LQ. Vitamin D intake and risk of type 1 diabetes: a meta-analysis of observational studies. *Nutrients.* 2013;5(9):3551-3562. doi:10.3390/nu5093551
83. van der Mei I a. F, Ponsonby AL, Dwyer T, et al. Past exposure to sun, skin phenotype, and risk of multiple sclerosis: case-control study. *BMJ.* 2003;327(7410):316. doi:10.1136/bmj.327.7410.316
84. Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet Lond Engl.* 2001;358(9292):1500-1503. doi:10.1016/S0140-6736(01)06580-1
85. Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol.* 2010;28:573-621. doi:10.1146/annurev-immunol-030409-101225
86. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014;20(1):91-99. doi:10.3748/wjg.v20.i1.91
87. Xu XR, Liu CQ, Feng BS, Liu ZJ. Dysregulation of mucosal immune response in pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(12):3255-3264. doi:10.3748/wjg.v20.i12.3255
88. Annaházi A, Molnár T. Pathogenesis of Ulcerative Colitis and Crohn's Disease: Similarities, Differences and a Lot of Things We Do Not Know Yet. *J Clin Cell Immunol.* 2014;5(4):1-15. doi:10.4172/2155-9899.1000253
89. Múzes G, Tulassay Z, Sipos F. Interplay of autophagy and innate immunity in Crohn's disease: a key immunobiologic feature. *World J Gastroenterol.* 2013;19(28):4447-4454. doi:10.3748/wjg.v19.i28.4447
90. Kim DH, Cheon JH. Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Recent Advances in Biologic Therapies. *Immune Netw.* 2017;17(1):25-40. doi:10.4110/in.2017.17.1.25
91. Gong Y, Lin Y, Zhao N, et al. The Th17/Treg Immune Imbalance in Ulcerative Colitis Disease in a Chinese Han Population. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:7089137. doi:10.1155/2016/7089137
92. Boyapati R, Satsangi J, Ho GT. Pathogenesis of Crohn's disease. *F1000prime Rep.* 2015;7:44. doi:10.12703/P7-44

93. Eken A, Singh AK, Oukka M. Interleukin 23 in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(3):587-595. doi:10.1097/01.MIB.0000442014.52661.20
94. Toussirot E. The IL23/Th17 pathway as a therapeutic target in chronic inflammatory diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2012;11(2):159-168.
95. Franke A, McGovern DPB, Barrett JC, et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet*. 2010;42(12):1118-1125. doi:10.1038/ng.717
96. Wallace KL, Zheng LB, Kanazawa Y, Shih DQ. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(1):6-21. doi:10.3748/wjg.v20.i1.6
97. Appleyard CB, Cruz ML, Isidro AA, Arthur JC, Jobin C, De Simone C. Pretreatment with the probiotic VSL#3 delays transition from inflammation to dysplasia in a rat model of colitis-associated cancer. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011;301(6):G1004-1013. doi:10.1152/ajpgi.00167.2011
98. Ponsonby AL, McMichael A, van der Mei I. Ultraviolet radiation and autoimmune disease: insights from epidemiological research. *Toxicology*. 2002;181-182:71-78.
99. Khalili H, Huang ES, Ananthakrishnan AN, et al. Geographical variation and incidence of inflammatory bowel disease among US women. *Gut*. 2012;61(12):1686-1692. doi:10.1136/gutjnl-2011-301574
100. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, et al. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut*. 1996;39(5):690-697.
101. Ahuja V, Tandon RK. Inflammatory bowel disease in the Asia-Pacific area: a comparison with developed countries and regional differences. *J Dig Dis*. 2010;11(3):134-147. doi:10.1111/j.1751-2980.2010.00429.x
102. Nerich V, Jantchou P, Boutron-Ruault MC, et al. Low exposure to sunlight is a risk factor for Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33(8):940-945. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04601.x
103. Wang L, Wang ZT, Hu JJ, Fan R, Zhou J, Zhong J. Polymorphisms of the vitamin D receptor gene and the risk of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Genet Mol Res GMR*. 2014;13(2):2598-2610. doi:10.4238/2014.April.8.2
104. Xue LN, Xu KQ, Zhang W, Wang Q, Wu J, Wang XY. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease: a meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(1):54-60. doi:10.1002/ibd.22966
105. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Higuchi LM, et al. Higher predicted vitamin D status is associated with reduced risk of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2012;142(3):482-489. doi:10.1053/j.gastro.2011.11.040

106. Ananthakrishnan AN, Cagan A, Gainer VS, et al. Normalization of plasma 25-hydroxy vitamin D is associated with reduced risk of surgery in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2013;19(9):1921-1927. doi:10.1097/MIB.0b013e3182902ad9
107. Sadeghian M, Saneei P, Siassi F, Esmailzadeh A. Vitamin D status in relation to Crohn's disease: Meta-analysis of observational studies. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif.* 2016;32(5):505-514. doi:10.1016/j.nut.2015.11.008
108. Kini GP, Young B, Herbison P, Schultz M. Does seasonal level of serum 25-OH vitamin D correlate with the activity of Crohn's disease? *N Z Med J.* 2014;127(1394):51-59.
109. Jørgensen SP, Agnholt J, Glerup H, et al. Clinical trial: vitamin D3 treatment in Crohn's disease - a randomized double-blind placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;32(3):377-383. doi:10.1111/j.1365-2036.2010.04355.x
110. Narula N, Cooray M, Anglin R, Muqtadir Z, Narula A, Marshall JK. Impact of High-Dose Vitamin D3 Supplementation in Patients with Crohn's Disease in Remission: A Pilot Randomized Double-Blind Controlled Study. *Dig Dis Sci.* 2017;62(2):448-455. doi:10.1007/s10620-016-4396-7
111. Guan Y, Hao Y, Guan Y, Bu H, Wang H. Effects of vitamin D supplementation on blood markers in ulcerative colitis patients: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nutr.* 2022;61(1):23-35. doi:10.1007/s00394-021-02603-2
112. Zator ZA, Cantu SM, Konijeti GG, et al. Pretreatment 25-hydroxyvitamin D levels and durability of anti-tumor necrosis factor- α therapy in inflammatory bowel diseases. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2014;38(3):385-391. doi:10.1177/0148607113504002
113. Reich KM, Fedorak RN, Madsen K, Kroeker KI. Role of Vitamin D in Infliximab-induced Remission in Adult Patients with Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(1):92-99. doi:10.1097/MIB.0000000000000588
114. Abraham BP, Fan C, Thurston T, Moskow J, Malaty HM. The Role of Vitamin D in Patients with Inflammatory Bowel Disease Treated with Vedolizumab. *Nutrients.* 2023;15(22):4847. doi:10.3390/nu15224847
115. Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution. *Genome Res.* 2010;20(10):1352-1360. doi:10.1101/gr.107920.110
116. Miheller P, Muzes G, Hritz I, et al. Comparison of the effects of 1,25 dihydroxyvitamin D and 25 hydroxyvitamin D on bone pathology and disease activity in Crohn's disease patients. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15(11):1656-1662. doi:10.1002/ibd.20947
117. Greene-Finestone LS, Berger C, de Groh M, et al. 25-Hydroxyvitamin D in Canadian adults: biological, environmental, and behavioral correlates. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2011;22(5):1389-1399. doi:10.1007/s00198-010-1362-7
118. van Schoor NM, Lips P. Worldwide vitamin D status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011;25(4):671-680. doi:10.1016/j.beem.2011.06.007

119. Hilger J, Friedel A, Herr R, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr*. 2014;111(1):23-45. doi:10.1017/S0007114513001840
120. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr*. 2016;103(4):1033-1044. doi:10.3945/ajcn.115.120873
121. Płudowski P, Karczmarewicz E, Bayer M, et al. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol Pol*. 2013;64(4):319-327.
122. SZÚ [online]. Copyright ©HU [cit. 08.06.2018]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne_zpravy/Biomonitoring_2016.pdf. http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne_zpravy/Biomonitoring_2016.pdf
123. Zofkova I, Hill M. Biochemical markers of bone remodeling correlate negatively with circulating TSH in postmenopausal women. *Endocr Regul*. 2008;42(4):121-127.
124. Schramm S, Lahner H, Jöckel KH, et al. Impact of season and different vitamin D thresholds on prevalence of vitamin D deficiency in epidemiological cohorts—a note of caution. *Endocrine*. 2017;56(3):658-666. doi:10.1007/s12020-017-1292-7
125. O'Neill CM, Kazantzidis A, Ryan MJ, et al. Seasonal Changes in Vitamin D-Effective UVB Availability in Europe and Associations with Population Serum 25-Hydroxyvitamin D. *Nutrients*. 2016;8(9). doi:10.3390/nu8090533
126. Zhu H, Wang X, Shi H, et al. A genome-wide methylation study of severe vitamin D deficiency in African American adolescents. *J Pediatr*. 2013;162(5):1004-1009.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2012.10.059
127. Hiraki LT, Major JM, Chen C, et al. Exploring the genetic architecture of circulating 25-hydroxyvitamin D. *Genet Epidemiol*. 2013;37(1):92-98. doi:10.1002/gepi.21694
128. Kimlin MG. Geographic location and vitamin D synthesis. *Mol Aspects Med*. 2008;29(6):453-461. doi:10.1016/j.mam.2008.08.005
129. Terushkin V, Bender A, Psaty EL, Engelsen O, Wang SQ, Halpern AC. Estimated equivalency of vitamin D production from natural sun exposure versus oral vitamin D supplementation across seasons at two US latitudes. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(6):929.e1-9. doi:10.1016/j.jaad.2009.07.028
130. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357(3):266-281. doi:10.1056/NEJMra070553
131. Samanek AJ, Croager EJ, Gies P, et al. Estimates of beneficial and harmful sun exposure times during the year for major Australian population centres. *Med J Aust*. 2006;184(7):338-341.
132. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2005;41(1):45-60. doi:10.1016/j.ejca.2004.10.016

133. American Academy of Dermatology | American Academy of Dermatology [online]. Dostupné z: <https://www.aad.org/Forms/Policies/Uploads/PS/PS-Vitamin%20D%20Postition%20Statement.pdf>.
<https://www.aad.org/Forms/Policies/Uploads/PS/PS-Vitamin%20D%20Postition%20Statement.pdf>
134. Fulgoni VL, Keast DR, Bailey RL, Dwyer J. Foods, fortificants, and supplements: Where do Americans get their nutrients? *J Nutr*. 2011;141(10):1847-1854. doi:10.3945/jn.111.142257
135. Energy and Nutrient Intake in the European Union Based on National Data. ELMADFA, I., ed. European Nutrition and Health Report 2009 [online]. Basel: KARGER, 2009, 2009, s. 68-156 [cit. 2018-06-08]. Forum of Nutrition. DOI: 10.1159/000242372. ISBN 978-3-8055-9296-3. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/242372>.
136. Gose M, Krems C, Heuer T, Hoffmann I. Trends in food consumption and nutrient intake in Germany between 2006 and 2012: results of the German National Nutrition Monitoring (NEMONIT). *Br J Nutr*. 2016;115(8):1498-1507. doi:10.1017/S0007114516000544
137. Ruprich J a kol. Méně než 1% osob má dostatek vitamínu D z obvyklé české stravy – v zimě to zakládá na problémy, SZÚ. Published May 29, 2018. Accessed May 29, 2018. <http://www.szu.cz/tema/bezpecnost-potravin/mene-nez-1-osob-ma-dostatek-vitaminu-d-z-obvykle-ceske?highlightWords=vitamin+ruprich>
138. Burgaz A, Akesson A, Oster A, Michaëlsson K, Wolk A. Associations of diet, supplement use, and ultraviolet B radiation exposure with vitamin D status in Swedish women during winter. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(5):1399-1404. doi:10.1093/ajcn/86.5.1399
139. S.Bischofová a J.Ruprich. Víte, že vejce nejvíce přispívají k celkovému přívodu vitamínu D z potravin?, SZÚ. Published May 29, 2018. Accessed May 29, 2018. <http://www.szu.cz/tema/bezpecnost-potravin/vite-ze-vejce-nejvice-prispivaji-k-celkovemu-privodu>
140. S.Bischofová a J.Ruprich. Víte, že potravin obohacených vitamínem D není na trhu mnoho?, SZÚ. Published May 29, 2018. Accessed May 29, 2018. <http://www.szu.cz/tema/bezpecnost-potravin/vite-ze-potravin-obohacenyh-vitaminem-d-neni-na-trhu-mnoho>
141. Sobotka L. Vitaminy. *Interní Medicína Praxi*. 2003;5(2):61-67.
142. Hlavaty T, Krajcovicova A, Koller T, et al. Higher vitamin D serum concentration increases health related quality of life in patients with inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol*. 2014;20(42):15787-15796. doi:10.3748/wjg.v20.i42.15787
143. Bours PHA, Wienders JPM, Vermeijden JR, van de Wiel A. Seasonal variation of serum 25-hydroxyvitamin D levels in adult patients with inflammatory bowel disease. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2011;22(11):2857-2867. doi:10.1007/s00198-010-1484-y
144. Ardesia M, Ferlazzo G, Fries W. Vitamin D and inflammatory bowel disease. *BioMed Res Int*. 2015;2015:470805. doi:10.1155/2015/470805

145. McCarthy D, Duggan P, O'Brien M, et al. Seasonality of vitamin D status and bone turnover in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;21(9):1073-1083. doi:10.1111/j.1365-2036.2005.02446.x
146. Ulitsky A, Ananthakrishnan AN, Naik A, et al. Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2011;35(3):308-316. doi:10.1177/0148607110381267
147. Suibhne TN, Cox G, Healy M, O'Morain C, O'Sullivan M. Vitamin D deficiency in Crohn's disease: prevalence, risk factors and supplement use in an outpatient setting. *J Crohns Colitis.* 2012;6(2):182-188. doi:10.1016/j.crohns.2011.08.002
148. de Bruyn JR, van Heeckeren R, Ponsioen CY, et al. Vitamin D deficiency in Crohn's disease and healthy controls: a prospective case-control study in the Netherlands. *J Crohns Colitis.* 2014;8(10):1267-1273. doi:10.1016/j.crohns.2014.03.004
149. Del Pinto R, Pietropaoli D, Chandar AK, Ferri C, Cominelli F. Association Between Inflammatory Bowel Disease and Vitamin D Deficiency: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis.* 2015;21(11):2708-2717. doi:10.1097/MIB.0000000000000546
150. Jiang CQ, Chan YH, Xu L, et al. Smoking and serum vitamin D in older Chinese people: cross-sectional analysis based on the Guangzhou Biobank Cohort Study. *BMJ Open.* 2016;6(6):e010946. doi:10.1136/bmjopen-2015-010946
151. Leichtmann GA, Bengoa JM, Bolt MJ, Sitrin MD. Intestinal absorption of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in patients with both Crohn's disease and intestinal resection. *Am J Clin Nutr.* 1991;54(3):548-552. doi:10.1093/ajcn/54.3.548
152. Haderslev KV, Jeppesen PB, Sorensen HA, Mortensen PB, Staun M. Vitamin D status and measurements of markers of bone metabolism in patients with small intestinal resection. *Gut.* 2003;52(5):653-658.
153. Hessov I, Mosekilde L, Melsen F, et al. Osteopenia with normal vitamin D metabolites after small-bowel resection for Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol.* 1984;19(5):691-696.
154. Farraye FA, Nimitphong H, Stucchi A, et al. Use of a novel vitamin D bioavailability test demonstrates that vitamin D absorption is decreased in patients with quiescent Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17(10):2116-2121. doi:10.1002/ibd.21595
155. Gilman J, Shanahan F, Cashman KD. Determinants of vitamin D status in adult Crohn's disease patients, with particular emphasis on supplemental vitamin D use. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(7):889-896. doi:10.1038/sj.ejcn.1602395
156. Lu C, Yang J, Yu W, et al. Association between 25(OH)D Level, Ultraviolet Exposure, Geographical Location, and Inflammatory Bowel Disease Activity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS One.* 2015;10(7):e0132036. doi:10.1371/journal.pone.0132036
157. Mouli VP, Ananthakrishnan AN. Review article: vitamin D and inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(2):125-136. doi:10.1111/apt.12553

158. Fu Y, Chatur N, Cheong-Lee C, Salh B. Hypovitaminosis D in adults with inflammatory bowel disease: potential role of ethnicity. *Dig Dis Sci*. 2012;57(8):2144-2148. doi:10.1007/s10620-012-2130-7
159. Frigstad SO, Høivik M, Jahnsen J, et al. Vitamin D deficiency in inflammatory bowel disease: prevalence and predictors in a Norwegian outpatient population. *Scand J Gastroenterol*. 2017;52(1):100-106. doi:10.1080/00365521.2016.1233577
160. Kelly P, Suibhne TN, O'Morain C, O'Sullivan M. Vitamin D status and cytokine levels in patients with Crohn's disease. *Int J Vitam Nutr Res Int Z Vitam- Ernahrungsforschung J Int Vitaminol Nutr*. 2011;81(4):205-210. doi:10.1024/0300-9831/a000066
161. Skversky AL, Kumar J, Abramowitz MK, Kaskel FJ, Melamed ML. Association of glucocorticoid use and low 25-hydroxyvitamin D levels: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 2001-2006. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(12):3838-3845. doi:10.1210/jc.2011-1600
162. Akeno N, Matsunuma A, Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Regulation of vitamin D-1alpha-hydroxylase and -24-hydroxylase expression by dexamethasone in mouse kidney. *J Endocrinol*. 2000;164(3):339-348.
163. Friedecký B, Vávrová J. Současný stav stanovení vitamínu D v séru. *Klin Biochem Metab*. 2012;20(3):174-178.
164. Farrell CJL, Martin S, McWhinney B, Straub I, Williams P, Herrmann M. State-of-the-art vitamin D assays: a comparison of automated immunoassays with liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods. *Clin Chem*. 2012;58(3):531-542. doi:10.1373/clinchem.2011.172155
165. Wyness SP, Straseski JA. Performance characteristics of six automated 25-hydroxyvitamin D assays: Mind your 3s and 2s. *Clin Biochem*. 2015;48(16-17):1089-1096. doi:10.1016/j.clinbiochem.2015.08.005
166. Cavalier E, Rozet E, Gadisseur R, et al. Measurement uncertainty of 25-OH vitamin D determination with different commercially available kits: impact on the clinical cut offs. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2010;21(6):1047-1051. doi:10.1007/s00198-009-1052-5
167. Ong L, Saw S, Sahabdeen NB, Tey KT, Ho CS, Sethi SK. Current 25-hydroxyvitamin D assays: do they pass the test? *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2012;413(13-14):1127-1134. doi:10.1016/j.cca.2012.03.009
168. Ferrari D, Lombardi G, Banfi G. Concerning the vitamin D reference range: pre-analytical and analytical variability of vitamin D measurement. *Biochem Medica*. 2017;27(3):030501. doi:10.11613/BM.2017.030501
169. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. (Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, eds.). National Academies Press (US); 2011. Accessed May 29, 2018. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>

170. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911-1930. doi:10.1210/jc.2011-0385
171. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(4):1080S-6S. doi:10.1093/ajcn/87.4.1080S
172. Bischoff-Ferrari HA, Shao A, Dawson-Hughes B, Hathcock J, Giovannucci E, Willett WC. Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2010;21(7):1121-1132. doi:10.1007/s00198-009-1119-3
173. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta analysis. *Am J Prev Med.* 2007;32(3):210-216. doi:10.1016/j.amepre.2006.11.004
174. Zittermann A, Kuhn J, Knabbe C, Gummert J, Börgermann J. Vitamin D status and the risk of major adverse cardiac and cerebrovascular events in cardiac surgery. *Eur Heart J.* 2013;34(18):1358-1364.
175. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B. 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med.* 2008;168(15):1629-1637. doi:10.1001/archinte.168.15.1629
176. Gaksch M, Jorde R, Grimnes G, et al. Vitamin D and mortality: Individual participant data meta-analysis of standardized 25-hydroxyvitamin D in 26916 individuals from a European consortium. *PloS One.* 2017;12(2):e0170791. doi:10.1371/journal.pone.0170791
177. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(1):18-28. doi:10.1093/ajcn/84.1.18
178. Dumitrescu G, Mihai C, Dranga M, Prelipcean CC. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and inflammatory bowel disease characteristics in Romania. *World J Gastroenterol.* 2014;20(9):2392-2396. doi:10.3748/wjg.v20.i9.2392
179. Jørgensen SP, Hvas CL, Agnholt J, Christensen LA, Heickendorff L, Dahlerup JF. Active Crohn's disease is associated with low vitamin D levels. *J Crohns Colitis.* 2013;7(10):e407-413. doi:10.1016/j.crohns.2013.01.012
180. Raftery T, O'Sullivan M. Optimal vitamin D levels in Crohn's disease: a review. *Proc Nutr Soc.* 2015;74(1):56-66. doi:10.1017/S0029665114001591
181. Spedding S, Vanlint S, Morris H, Scragg R. Does vitamin D sufficiency equate to a single serum 25-hydroxyvitamin D level or are different levels required for non-skeletal diseases? *Nutrients.* 2013;5(12):5127-5139. doi:10.3390/nu5125127
182. Armas LAG, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D₂ is much less effective than vitamin D₃ in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(11):5387-5391. doi:10.1210/jc.2004-0360

183. Logan VF, Gray AR, Peddie MC, Harper MJ, Houghton LA. Long-term vitamin D3 supplementation is more effective than vitamin D2 in maintaining serum 25-hydroxyvitamin D status over the winter months. *Br J Nutr.* 2013;109(6):1082-1088. doi:10.1017/S0007114512002851
184. Binkley N, Gemar D, Engelke J, et al. Evaluation of ergocalciferol or cholecalciferol dosing, 1,600 IU daily or 50,000 IU monthly in older adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(4):981-988. doi:10.1210/jc.2010-0015
185. Boonen S, Vanderschueren D, Haentjens P, Lips P. Calcium and vitamin D in the prevention and treatment of osteoporosis - a clinical update. *J Intern Med.* 2006;259(6):539-552. doi:10.1111/j.1365-2796.2006.01655.x
186. Diamond TH, Ho KW, Rohl PG, Meerkin M. Annual intramuscular injection of a megadose of cholecalciferol for treatment of vitamin D deficiency: efficacy and safety data. *Med J Aust.* 2005;183(1):10-12.
187. Kearns MD, Alvarez JA, Tangpricha V. Large, single-dose, oral vitamin D supplementation in adult populations: a systematic review. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol.* 2014;20(4):341-351. doi:10.4158/EP13265.RA
188. Ilahi M, Armas LAG, Heaney RP. Pharmacokinetics of a single, large dose of cholecalciferol. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(3):688-691. doi:10.1093/ajcn/87.3.688
189. Chel V, Wijnhoven H a. H, Smit JH, Ooms M, Lips P. Efficacy of different doses and time intervals of oral vitamin D supplementation with or without calcium in elderly nursing home residents. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2008;19(5):663-671. doi:10.1007/s00198-007-0465-2
190. Pekkarinen T, Välimäki VV, Aarum S, et al. The same annual dose of 292000 IU of vitamin D (cholecalciferol) on either daily or four monthly basis for elderly women: 1-year comparative study of the effects on serum 25(OH)D concentrations and renal function. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;72(4):455-461. doi:10.1111/j.1365-2265.2009.03637.x
191. Ish-Shalom S, Segal E, Salganik T, Raz B, Bromberg IL, Vieth R. Comparison of daily, weekly, and monthly vitamin D3 in ethanol dosing protocols for two months in elderly hip fracture patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(9):3430-3435. doi:10.1210/jc.2008-0241
192. Khawaja N, Liswi M, El-Khateeb M, et al. Vitamin D Dosing Strategies Among Jordanians With Hypovitaminosis D. *J Pharm Pract.* 2017;30(2):172-179. doi:10.1177/0897190015626334
193. Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(1):204-210. doi:10.1093/ajcn/77.1.204
194. Lips P, Graafmans WC, Ooms ME, Bezemer PD, Bouter LM. Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons. A randomized, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med.* 1996;124(4):400-406.

195. Whiting SJ, Bonjour JP, Payen FD, Rousseau B. Moderate amounts of vitamin D3 in supplements are effective in raising serum 25-hydroxyvitamin D from low baseline levels in adults: a systematic review. *Nutrients*. 2015;7(4):2311-2323. doi:10.3390/nu7042311
196. Bolton-Smith C, McMurdo MET, Paterson CR, et al. Two-year randomized controlled trial of vitamin K1 (phylloquinone) and vitamin D3 plus calcium on the bone health of older women. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2007;22(4):509-519. doi:10.1359/jbmr.070116
197. Bischoff-Ferrari HA, Orav EJ, Dawson-Hughes B. Effect of cholecalciferol plus calcium on falling in ambulatory older men and women: a 3-year randomized controlled trial. *Arch Intern Med*. 2006;166(4):424-430. doi:10.1001/archinte.166.4.424
198. Gallagher JC, Sai A, Templin T, Smith L. Dose response to vitamin D supplementation in postmenopausal women: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2012;156(6):425-437. doi:10.7326/0003-4819-156-6-201203200-00005
199. Yang L, Weaver V, Smith JP, Bingaman S, Hartman TJ, Cantorna MT. Therapeutic effect of vitamin d supplementation in a pilot study of Crohn's patients. *Clin Transl Gastroenterol*. 2013;4:e33. doi:10.1038/ctg.2013.1
200. Vieth R, Kimball S, Hu A, Walfish PG. Randomized comparison of the effects of the vitamin D3 adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients. *Nutr J*. 2004;3:8. doi:10.1186/1475-2891-3-8
201. Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *N Engl J Med*. 1997;337(10):670-676. doi:10.1056/NEJM199709043371003
202. Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, et al. Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in elderly women. *N Engl J Med*. 1992;327(23):1637-1642. doi:10.1056/NEJM199212033272305
203. Vieth R, Chan PC, MacFarlane GD. Efficacy and safety of vitamin D3 intake exceeding the lowest observed adverse effect level. *Am J Clin Nutr*. 2001;73(2):288-294. doi:10.1093/ajcn/73.2.288
204. van Groningen L, Opdenoordt S, van Sorge A, Telting D, Giesen A, de Boer H. Cholecalciferol loading dose guideline for vitamin D-deficient adults. *Eur J Endocrinol*. 2010;162(4):805-811. doi:10.1530/EJE-09-0932
205. Simek RZ, Prince J, Syed S, et al. Pilot Study Evaluating Efficacy of 2 Regimens for Hypovitaminosis D Repletion in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016;62(2):252-258. doi:10.1097/MPG.0000000000000915
206. Pappa HM, Mitchell PD, Jiang H, et al. Treatment of vitamin D insufficiency in children and adolescents with inflammatory bowel disease: a randomized clinical trial comparing three regimens. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(6):2134-2142. doi:10.1210/jc.2011-3182

207. Ekwaru JP, Zwicker JD, Holick MF, Giovannucci E, Veugelers PJ. The importance of body weight for the dose response relationship of oral vitamin D supplementation and serum 25-hydroxyvitamin D in healthy volunteers. *PloS One*. 2014;9(11):e111265. doi:10.1371/journal.pone.0111265
208. Black LJ, Seamans KM, Cashman KD, Kiely M. An updated systematic review and meta-analysis of the efficacy of vitamin D food fortification. *J Nutr*. 2012;142(6):1102-1108. doi:10.3945/jn.112.158014
209. Zittermann A, Ernst JB, Gummert JF, Börgermann J. Vitamin D supplementation, body weight and human serum 25-hydroxyvitamin D response: a systematic review. *Eur J Nutr*. 2014;53(2):367-374. doi:10.1007/s00394-013-0634-3
210. Forsythe LK, Livingstone MBE, Barnes MS, et al. Effect of adiposity on vitamin D status and the 25-hydroxycholecalciferol response to supplementation in healthy young and older Irish adults. *Br J Nutr*. 2012;107(1):126-134. doi:10.1017/S0007114511002662
211. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(3):690-693. doi:10.1093/ajcn/72.3.690
212. Mallard SR, Howe AS, Houghton LA. Vitamin D status and weight loss: a systematic review and meta-analysis of randomized and nonrandomized controlled weight-loss trials. *Am J Clin Nutr*. 2016;104(4):1151-1159. doi:10.3945/ajcn.116.136879
213. Viljakainen HT, Palssa A, Kärkkäinen M, Jakobsen J, Lamberg-Allardt C. How much vitamin D3 do the elderly need? *J Am Coll Nutr*. 2006;25(5):429-435.
214. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D. *EFSA J*. 2012;10(7). doi:10.2903/j.efsa.2012.2813
215. Gionchetti P, Dignass A, Danese S, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 2: Surgical Management and Special Situations. *J Crohns Colitis*. 2017;11(2):135-149. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw169
216. Pappa HM, Mitchell PD, Jiang H, et al. Maintenance of optimal vitamin D status in children and adolescents with inflammatory bowel disease: a randomized clinical trial comparing two regimens. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(9):3408-3417. doi:10.1210/jc.2013-4218
217. Kojecky V, Adamikova A, Klimek P. Vitamin D supplementation in inflammatory bowel disease: the role of dosage and patient compliance. *Bratisl Lek Listy*. 2016;117(3):148-151.
218. Vieth R. Vitamin D toxicity, policy, and science. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2007;22 Suppl 2:V64-68. doi:10.1359/jbmr.07s221
219. von Restorff C, Bischoff-Ferrari HA, Theiler R. High-dose oral vitamin D3 supplementation in rheumatology patients with severe vitamin D3 deficiency. *Bone*. 2009;45(4):747-749. doi:10.1016/j.bone.2009.06.012

220. Binkley N, Novotny R, Krueger D, et al. Low vitamin D status despite abundant sun exposure. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(6):2130-2135. doi:10.1210/jc.2006-2250
221. Mason RS, Posen S. The relevance of 25-hydroxycalciferol measurements in the treatment of hypoparathyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1979;10(3):265-269.
222. Morris HA. Vitamin D: A Hormone for All Seasons - How much is enough? Understanding the New Pressures. *Clin Biochem Rev.* 2005;26(1):21-32.
223. Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(1):6-18. doi:10.1093/ajcn/85.1.6
224. Hlavaty T, Krajcovicova A, Payer J. Vitamin D therapy in inflammatory bowel diseases: who, in what form, and how much? *J Crohns Colitis.* 2015;9(2):198-209.
225. Malihi Z, Wu Z, Mm Lawes C, Scragg R. Noncalcemic adverse effects and withdrawals in randomized controlled trials of long-term vitamin D2 or D3 supplementation: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev.* 2017;75(12):1007-1034. doi:10.1093/nutrit/nux059
226. Zittermann A, Prokop S, Gummert JF, Börgermann J. Safety issues of vitamin D supplementation. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013;13(1):4-10.
227. Johansson S, Melhus H. Vitamin A antagonizes calcium response to vitamin D in man. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2001;16(10):1899-1905. doi:10.1359/jbmr.2001.16.10.1899
228. Rohde CM, Manatt M, Clagett-Dame M, DeLuca HF. Vitamin A antagonizes the action of vitamin D in rats. *J Nutr.* 1999;129(12):2246-2250. doi:10.1093/jn/129.12.2246
229. Fusaro M, Mereu MC, Aghi A, Iervasi G, Gallieni M. Vitamin K and bone. *Clin Cases Miner Bone Metab Off J Ital Soc Osteoporos Miner Metab Skelet Dis.* 2017;14(2):200-206. doi:10.11138/ccmbm/2017.14.1.200
230. Gröber U, Kisters K. Influence of drugs on vitamin D and calcium metabolism. *Dermatoendocrinol.* 2012;4(2):158-166. doi:10.4161/derm.20731
231. Davidson ZE, Walker KZ, Truby H. Clinical review: Do glucocorticosteroids alter vitamin D status? A systematic review with meta-analyses of observational studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(3):738-744. doi:10.1210/jc.2011-2757
232. Kelishadi R, Ataei E, Ardalan G, et al. Relationship of Serum Magnesium and Vitamin D Levels in a Nationally-Representative Sample of Iranian Adolescents: The CASPIAN-III Study. *Int J Prev Med.* 2014;5(1):99-103.
233. Cavalier E, Carlisi A, Bekaert AC, Rousselle O, Chapelle JP, Souberbielle JC. Analytical evaluation of the new Abbott Architect 25-OH vitamin D assay. *Clin Biochem.* 2012;45(6):505-508. doi:10.1016/j.clinbiochem.2012.01.021
234. Autier P, Gandini S, Mullie P. A Systematic Review: Influence of Vitamin D Supplementation on Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):2606-2613. doi:10.1210/jc.2012-1238

235. Farrokhyar F, Sivakumar G, Savage K, et al. Effects of Vitamin D Supplementation on Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations and Physical Performance in Athletes: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Sports Med.* 2017;47(11):2323-2339. doi:10.1007/s40279-017-0749-4
236. Cranney A, Horsley T, O'Donnell S, et al. Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health. *Evid Report Technology Assess.* 2007;(158):1-235.
237. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol.* 2005;19 Suppl A:5A-36A.
238. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. *J Crohns Colitis.* 2017;11(6):649-670. doi:10.1093/ecco-jcc/jjx008
239. Dignass A, Eliakim R, Magro F, et al. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 1: Definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis.* 2012;6(10):965-990. doi:10.1016/j.crohns.2012.09.003
240. Dhaliwal A, Zeino Z, Tomkins C, et al. Utility of faecal calprotectin in inflammatory bowel disease (IBD): what cut-offs should we apply? *Frontline Gastroenterol.* 2015;6(1):14-19. doi:10.1136/flgastro-2013-100420
241. Freeman J, Wilson K, Spears R, Shalhoub V, Sibley P. Performance evaluation of four 25-hydroxyvitamin D assays to measure 25-hydroxyvitamin D2. *Clin Biochem.* 2015;48(16-17):1097-1104. doi:10.1016/j.clinbiochem.2015.05.021
242. Grunbaum A, Holcroft C, Heilpern D, et al. Dynamics of vitamin D in patients with mild or inactive inflammatory bowel disease and their families. *Nutr J.* 2013;12(1):145. doi:10.1186/1475-2891-12-145
243. Singh G, Bonham AJ. A predictive equation to guide vitamin D replacement dose in patients. *J Am Board Fam Med JABFM.* 2014;27(4):495-509. doi:10.3122/jabfm.2014.04.130306
244. Jahnsen J, Falch JA, Mowinckel P, Aadland E. Vitamin D status, parathyroid hormone and bone mineral density in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2002;37(2):192-199.
245. Zullo S, Jambaulikar G, Rustgi A, Quezada S, Cross RK. Risk Factors for Vitamin D Deficiency and Impact of Repletion in a Tertiary Care Inflammatory Bowel Disease Population. *Dig Dis Sci.* 2017;62(8):2072-2078. doi:10.1007/s10620-017-4614-y
246. Lamb EJ, Wong T, Smith DJ, et al. Metabolic bone disease is present at diagnosis in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16(11):1895-1902. doi:10.1046/j.1365-2036.2002.01363.x

247. Abreu MT. Measurement of vitamin D levels in inflammatory bowel disease patients reveals a subset of Crohn's disease patients with elevated 1,25-dihydroxyvitamin D and low bone mineral density. *Gut*. 2004;53(8):1129-1136. doi:10.1136/gut.2003.036657
248. Pallav K, Riche D, May WL, Sanchez P, Gupta NK. Predictors of vitamin D deficiency in inflammatory bowel disease and health: A Mississippi perspective. *World J Gastroenterol*. 2017;23(4):638. doi:10.3748/wjg.v23.i4.638
249. Tajika M, Matsuura A, Nakamura T, et al. Risk factors for vitamin D deficiency in patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol*. 2004;39(6). doi:10.1007/s00535-003-1338-x
250. Mottacki N, Simrén M, Bajor A. Review article: bile acid diarrhoea - pathogenesis, diagnosis and management. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(8):884-898. doi:10.1111/apt.13570
251. Lo K, Riyat H, Prasad Y, Subramanian S. PTH-087 Severity of Bile Acid Malabsorption Does Not Correlate with Length of Ileal Resection or Response to Bile Salt Sequestrant Therapy in Crohn's Disease. *Gut*. 2016;65(Suppl 1):A262.1-A262. doi:10.1136/gutjnl-2016-312388.492
252. Siffledeen JS, Siminoski K, Steinhart H, Greenberg G, Fedorak RN. The frequency of vitamin D deficiency in adults with Crohn's disease. *Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol*. 2003;17(8):473-478.
253. Lo CW, Paris PW, Clemens TL, Nolan J, Holick MF. Vitamin D absorption in healthy subjects and in patients with intestinal malabsorption syndromes. *Am J Clin Nutr*. 1985;42(4):644-649. doi:10.1093/ajcn/42.4.644
254. Marwaha RK, Verma M, Walekar A, Sonawane R, Trivedi C. An open-label, randomized, crossover study to evaluate the bioavailability of nanoemulsion versus conventional fat-soluble formulation of cholecalciferol in healthy participants. *J Orthop*. 2023;35:64-68. doi:10.1016/j.jor.2022.10.017
255. Satia M, Mukim A, Tibrewala K, Bhavsar M. A randomized two way cross over study for comparison of absorption of vitamin D3 buccal spray and soft gelatin capsule formulation in healthy subjects and in patients with intestinal malabsorption. *Nutr J*. 2015;14(1):114. doi:10.1186/s12937-015-0105-1
256. Han YM, Yoon H, Lim S, et al. Risk Factors for Vitamin D, Zinc, and Selenium Deficiencies in Korean Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Gut Liver*. 2017;11(3):363-369. doi:10.5009/gnl16333
257. Ham M, Longhi MS, Lahiff C, Cheifetz A, Robson S, Moss AC. Vitamin D Levels in Adults with Crohn's Disease Are Responsive to Disease Activity and Treatment: *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(5):856-860. doi:10.1097/MIB.0000000000000016
258. Levin AD, Wadhwa V, Leach ST, et al. Vitamin D Deficiency in Children with Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci*. 2011;56(3):830-836. doi:10.1007/s10620-010-1544-3

259. Garg M, Rosella O, Lubel JS, Gibson PR. Association of Circulating Vitamin D Concentrations with Intestinal but Not Systemic Inflammation in Inflammatory Bowel Disease: *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(12):2634-2643. doi:10.1097/01.MIB.0000436957.77533.b2
260. Nakajima S, Iijima H, Egawa S, et al. Association of vitamin K deficiency with bone metabolism and clinical disease activity in inflammatory bowel disease. *Nutrition*. 2011;27(10):1023-1028. doi:10.1016/j.nut.2010.10.021
261. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, et al. Fecal Calprotectin Correlates More Closely With the Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease (SES-CD) than CRP, Blood Leukocytes and the CDAI. *Am J Gastroenterol*. 2010;105(1):162-169. doi:10.1038/ajg.2009.545
262. Aloia JF, Patel M, DiMaano R, et al. Vitamin D intake to attain a desired serum 25-hydroxyvitamin D concentration. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(6):1952-1958. doi:10.1093/ajcn/87.6.1952
263. Waterhouse M, Tran B, Armstrong BK, et al. Environmental, Personal, and Genetic Determinants of Response to Vitamin D Supplementation in Older Adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(7):E1332-E1340. doi:10.1210/jc.2013-4101
264. Parikh SJ, Edelman M, Uwaifo GI, et al. The Relationship between Obesity and Serum 1,25-Dihydroxy Vitamin D Concentrations in Healthy Adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(3):1196-1199. doi:10.1210/jc.2003-031398
265. Moschonis G, Tanagra S, Koutsikas K, Nikolaidou A, Androutsos O, Manios Y. Association between serum 25-hydroxyvitamin D levels and body composition in postmenopausal women: the Postmenopausal Health Study. *Menopause*. 2009;16(4):701-707. doi:10.1097/gme.0b013e318199d5d5
266. Jungert A, Roth HJ, Neuhäuser-Berthold M. Serum 25-hydroxyvitamin D3 and body composition in an elderly cohort from Germany: a cross-sectional study. *Nutr Metab*. 2012;9(1):42. doi:10.1186/1743-7075-9-42
267. Camozzi V, Frigo AC, Zaninotto M, et al. 25-Hydroxycholecalciferol response to single oral cholecalciferol loading in the normal weight, overweight, and obese. *Osteoporos Int*. 2016;27(8):2593-2602. doi:10.1007/s00198-016-3574-y
268. Grimnes G, Almaas B, Eggen AE, et al. Effect of smoking on the serum levels of 25-hydroxyvitamin D depends on the assay employed. *Eur J Endocrinol*. 2010;163(2):339-348. doi:10.1530/EJE-10-0150
269. Didriksen A, Burild A, Jakobsen J, Fuskevåg OM, Jorde R. Vitamin D3 increases in abdominal subcutaneous fat tissue after supplementation with vitamin D3. *Eur J Endocrinol*. 2015;172(3):235-241. doi:10.1530/EJE-14-0870
270. Mazahery H, von Hurst P. Factors Affecting 25-Hydroxyvitamin D Concentration in Response to Vitamin D Supplementation. *Nutrients*. 2015;7(7):5111-5142. doi:10.3390/nu7075111

271. Ng K, Scott JB, Drake BF, et al. Dose response to vitamin D supplementation in African Americans: results of a 4-arm, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2014;99(3):587-598. doi:10.3945/ajcn.113.067777
272. Talwar SA, Aloia JF, Pollack S, Yeh JK. Dose response to vitamin D supplementation among postmenopausal African American women. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(6):1657-1662. doi:10.1093/ajcn/86.5.1657
273. Nelson ML, Blum JM, Hollis BW, Rosen C, Sullivan SS. Supplements of 20 µg/d Cholecalciferol Optimized Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in 80% of Premenopausal Women in Winter. *J Nutr*. 2009;139(3):540-546. doi:10.3945/jn.108.096180
274. Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R. Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. *Am J Clin Nutr*. 1998;68(4):854-858. doi:10.1093/ajcn/68.4.854
275. Mawer EB, Berry JL, Sommer-Tsilenis E, Beykirch W, Kuhlwein A, Rohde BT. Ultra-violet irradiation increases serum 1,25-dihydroxyvitamin D in vitamin-D-replete adults. *Miner Electrolyte Metab*. 1984;10(2):117-121.
276. Heaney RP, Armas LA, Shary JR, Bell NH, Binkley N, Hollis BW. 25-Hydroxylation of vitamin D3: relation to circulating vitamin D3 under various input conditions. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(6):1738-1742. doi:10.1093/ajcn/87.6.1738
277. Zhao LJ, Zhou Y, Bu F, et al. Factors Predicting Vitamin D Response Variation in Non-Hispanic White Postmenopausal Women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(8):2699-2705. doi:10.1210/jc.2011-3401
278. Goncalves A, Roi S, Nowicki M, et al. Fat-soluble vitamin intestinal absorption: Absorption sites in the intestine and interactions for absorption. *Food Chem*. 2015;172:155-160. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.021
279. Higgins PDR, Rubin DT, Kaulback K, Schoenfield PS, Kane SV. Systematic review: impact of non-adherence to 5-aminosalicylic acid products on the frequency and cost of ulcerative colitis flares. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(3):247-257. doi:10.1111/j.1365-2036.2008.03865.x
280. Cashman KD, Hill TR, Lucey AJ, et al. Estimation of the dietary requirement for vitamin D in healthy adults. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(6):1535-1542. doi:10.3945/ajcn.2008.26594
281. Pludowski P, Takacs I, Boyanov M, et al. Clinical Practice in the Prevention, Diagnosis and Treatment of Vitamin D Deficiency: A Central and Eastern European Expert Consensus Statement. *Nutrients*. 2022;14(7):1483. doi:10.3390/nu14071483

6. Seznam tabulek

| | |
|---|----|
| Tabulka 1. Obsah vitamínu D (IU/100g) ve vybraných potravinách..... | 29 |
| Tabulka 2. Léčiva aktivující pregnan-X receptor..... | 47 |
| Tabulka 3. Počty zařazených a analyzovaných (STROBE)..... | 56 |
| Tabulka 4. Základní charakteristika souboru a laboratorní parametry na počátku sledování | 57 |
| Tabulka 5. Zastoupení osob podle stupně nedostatku vitamínu D na počátku a konci sledovaného období..... | 58 |
| Tabulka 6. Průběh zařazování nemocných (dle CONSORT)..... | 67 |
| Tabulka 7. Základní charakteristika analyzovaného souboru..... | 69 |
| Tabulka 8. Základní laboratorní parametry na počátku sledování u jednotlivých skupin..... | 70 |
| Tabulka 9. Srovnání hladin vybraných proměnných na počátku a konci sledování pro celý soubor..... | 71 |
| Tabulka 10. Hladiny 25OHD na začátku a konci sledování..... | 73 |
| Tabulka 11. Dávky vitamínu D ve skupinách, rozdělené podle hmotnosti..... | 74 |
| Tabulka 12. Počty adherentních osob u nichž nedošlo ke změně hladiny o více než 4 nmol/l..... | 75 |
| Tabulka 13. Multifaktoriální analýza vlivu různých faktorů na změnu hladiny 25OHD.. | 76 |

7. Seznam obrázků a grafů

| | |
|---|----|
| Obrázek 1. Etiopatogenetické okolnosti vzniku idiopatických střevních zánětů..... | 18 |
| Obrázek 2. Patogenetické faktory u Crohnovy choroby a ulcerózní kolitídy..... | 21 |
| Obrázek 3. Modelace efektivních dávek UV-B pro syntézu previtamínu D3 v průběhu roku pro Německo..... | 27 |
| Obrázek 4. Závislost mezi poměrem rizik (Hazard Ratio) úmrtí z různých příčin a hladinou 25OHD..... | 35 |
| Obrázek 5. Nelineární závislost mezi dávkou vitD a dosaženou hladinou 25OHD..... | 42 |
| Graf 1. Závislost změny hladiny 25OHD na perorální dávce vitD (IU/den)..... | 59 |
| Graf 2. Závislost změny hladiny 25OHD na perorální dávce vitD (IU/kg/den)..... | 59 |
| Graf 3. Zastoupení osob s různým stupněm nedostatku vitD..... | 72 |
| Graf 4. Závislost změny hladiny 25OHD na úvodní hladině 25OHD..... | 77 |